

Настоящее изобретение относится к соединениям бензимидазолкарбоксамида, которые полезны в качестве агонистов рецепторов 5-HT₄. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим такие соединения, способам применения таких соединений для лечения или предотвращения клинических состояний, обусловленных активностью рецепторов 5-HT₄, и к способам и промежуточным продуктам, полезным для получения таких соединений.

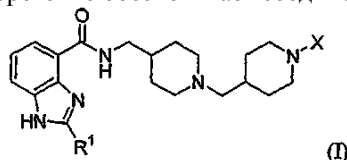
Серотонин (5-гидрокситриптамиин, 5-НТ) представляет собой нейромедиатор, широко распространенный в организме в целом, в центральной нервной системе и в периферических системах. Выделено по меньшей мере семь подтипов рецепторов серотонина, и взаимодействие серотонина с такими различными рецепторами связано с широким разнообразием физиологических функций. В этой связи разработка терапевтических средств, направленных на конкретные подтипы рецепторов 5-НТ, вызывает значительный интерес.

В частности, в последнее время активная работа нацелена на определение характеристик рецепторов 5-HT₄ и выявление взаимодействующих с ними фармацевтических средств (см., например, обзор Langlois and Fischmeister, J. Med. Chem. 2003, 46, 319-344). Агонисты рецепторов 5-HT₄ полезны для лечения заболеваний, выражающихся в сниженной моторике желудочно-кишечного тракта. Такие заболевания включают синдром раздраженного кишечника (СРК), хронический запор, функциональную диспепсию, задержку эвакуации содержимого желудка, гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь (ГЭРБ), гастропарез, послеоперационную непроходимость кишечника, кишечную псевдообструкцию и медикаментозное замедление кишечного транзита. В дополнение, предполагалось, что некоторые соединения агонистов рецепторов 5-HT₄ можно применять для лечения нарушений центральной нервной системы, включающих когнитивные нарушения, нарушения поведения, нарушения настроения и нарушения регуляции вегетативных функций.

Несмотря на широкую полезность фармацевтических средств, модулирующих активность рецепторов 5-HT₄, в настоящее время немногие соединения агонистов рецепторов 5-HT₄ применяются в клинической практике. Таким образом, существует потребность в новых агонистах рецепторов 5-HT₄, которые достигают своего желаемого действия с минимальными побочными эффектами. Наряду с другими свойствами предпочтительные средства могут обладать повышенной мощностью, улучшенной селективностью, фармакокинетическими свойствами и/или продолжительностью действия.

Настоящее изобретение обеспечивает новые соединения, обладающие активностью агонистов рецепторов 5-HT₄. Было обнаружено, что наряду с другими свойствами соединения настоящего изобретения являются мощными и селективными агонистами рецепторов 5-HT₄. Дополнительно было обнаружено, что предпочтительные соединения настоящего изобретения проявляют благоприятные фармакокинетические свойства на модели животных, что является прогнозом хорошей биодоступности при пероральном введении.

Соответственно, настоящее изобретение обеспечивает соединение формулы (I)



где R¹ является C₃₋₅алкилом, необязательно замещенным -OH; и

X выбирают из:

(a) -C(O)OR², где R² представляет собой C₁₋₄алкил или -(CH₂)_n-фенил, где n равно 0 или 1;

(b) -C(O)R³, где R³ выбирают из

фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена, C₁₋₄алкокси, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ и -CN,

C₁₋₅алкила,

C₄₋₅циклоалкила и

-(CH₂)_m-A, где m равно 0 или 1, и A выбирают из amino, фурила, тиофенила, морфолинила, тетрагидрофурила, пиридина, нафталенила, пирролила, тиоморфолинила, пирролидина, пиперидина, оксазетидина, тиазолидина, 1,1-диоксоизотиазолидина и 2,4-диметилизоксазолила;

(c) -C(O)NR⁴R⁵, где R⁴ является водородом или C₁₋₃алкилом, и R⁵ представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена, C₁₋₄алкокси, -CF₃, -OCF₃ и -OCHF₂;

(d) -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸, где R⁶ является водородом или C₁₋₃алкилом, и R⁷ представляет собой водород, -OH или C₁₋₃алкил; или R⁶ и R⁷, взятые вместе, образуют оксо или -(CH₂)₂-; и

R⁸ является фенилом или циклогексилем, где фенил или циклогексил необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена, C₁₋₄алкокси, -CF₃, -OCF₃, OCHF₂ и -CN;

(e) -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰, где R⁹ является водородом или C₁₋₃алкилом, и R¹⁰ является фенилом, необязательно замещенным 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена, C₁₋₄алкокси, -CF₃, -OCF₃ и -OCHF₂; и

(f) $-S(O)_2R^{11}$, где R^{11} выбирают из C_{1-3} алкила, $-CH_2$ -фенила, фуридила, тифенила, морфолинила, тетрагидрофуридила, пиридирила, нафталенила, пирролила, тиоморфолинила, пирролидинила, пиперидинила, оксазетидинила, тиазолидинила, 1,1-диоксоизотиазолидинила, 2,4-диметилизоксазолила и фенила, необязательно замещенных 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила, галогена, C_{1-4} алкокси, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ и $-CN$;

или его фармацевтически приемлемая соль, или сольват, или стереоизомер.

Настоящее изобретение также обеспечивает фармацевтическую композицию, содержащую соединение настоящего изобретения и фармацевтически приемлемый носитель.

В другом аспекте настоящее изобретение обеспечивает конкретное соединение формулы (I) в кристаллической форме свободного основания. Было обнаружено, что кристаллический метиловый эфир 4-(4- $\{[(2\text{-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}\}$ пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты имеет температуру плавления в диапазоне приблизительно от 145 до приблизительно 155°C, обычно приблизительно от 146 до приблизительно 148°C, температуру разложения выше чем приблизительно 240°C, и при воздействии относительной влажности в диапазоне приблизительно от 2 до приблизительно 90% при комнатной температуре показывает изменения массы менее чем приблизительно на 0,25%. Также дополнительные аспекты настоящего изобретения обеспечивают дополнительные кристаллические формы метилового эфира 4-(4- $\{[(2\text{-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}\}$ пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты.

В аспекте способов настоящее изобретение обеспечивает способ лечения заболевания или состояния, связанного с активностью рецепторов 5-HT₄, например нарушения, выражающегося в сниженной моторике желудочно-кишечного тракта, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения настоящего изобретения.

Дополнительно, настоящее изобретение обеспечивает способ лечения заболевания или состояния, связанного с активностью рецепторов 5-HT₄ у млекопитающего, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции настоящего изобретения.

Соединения настоящего изобретения также можно использовать в качестве средства исследования, то есть для изучения биологических систем или образцов, или для изучения действия других химических соединений. Соответственно, в других аспектах данного способа настоящее изобретение обеспечивает способ применения соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, или сольвата, или стереоизомера в качестве средства исследования для изучения биологической системы или образца, или для открытия новых агонистов рецепторов 5-HT₄, включающий контактирование биологической системы или образца с соединением настоящего изобретения и определение эффектов, оказываемых данным соединением на биологическую систему или образец.

В отдельных и отличительных аспектах настоящее изобретение также обеспечивает описанные в данном описании способы синтеза и промежуточные продукты, полезные для получения соединений настоящего изобретения.

Настоящее изобретение также обеспечивает описанное в данном описании соединение настоящего изобретения для применения в медицинской практике, а также использование соединения настоящего изобретения для производства лекарственного препарата или лекарственного средства для лечения у млекопитающего заболевания или состояния, связанного с активностью рецепторов 5-HT₄, например нарушения, выражающегося в снижении моторики желудочно-кишечного тракта.

Различные аспекты настоящего изобретения показаны путем ссылки на прилагаемые чертежи.

На фиг. 1 показана порошковая рентгенограмма (PXRD) кристаллического метилового эфира 4-(4- $\{[(2\text{-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}\}$ пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты (форма I).

На фиг. 2 показана кривая дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) (верхняя кривая, правая ось по вертикали) и кривая термического гравиметрического анализа (TGA) (нижняя кривая, левая ось по вертикали) для кристаллического метилового эфира 4-(4- $\{[(2\text{-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}\}$ пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты (форма I).

На фиг. 3 показана изотерма динамической сорбции влажности (DMS) для кристаллического метилового эфира 4-(4- $\{[(2\text{-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}\}$ пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты (форма I).

На фиг. 4 показана кривая дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) (верхняя кривая, правая ось по вертикали) и кривую термического гравиметрического анализа (TGA) (нижняя кривая, левая ось по вертикали) для кристаллического метилового эфира 4-(4- $\{[(2\text{-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}\}$ пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты (форма II).

На фиг. 5 показана порошковая рентгенограмма (PXRD) кристаллического метилового эфира 4-(4- $\{[(2\text{-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}\}$ пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты (форма III).

На фиг. 6 показана кривая дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) (верхняя кривая, правая ось по вертикали) и кривую термического гравиметрического анализа (TGA) (нижняя кривая, левая ось по вертикали) для кристаллического метилового эфира 4-(4- $\{[(2\text{-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}\}$ пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты (форма IV).

вая ось по вертикали) для кристаллического метилового эфира 4-(4-{{(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты (форма III).

Настоящее изобретение обеспечивает новые бензимидазолкарбоксамидные агонисты рецепторов 5-HT₄ формулы (I) или их фармацевтически приемлемые соли, или сольваты, или стереоизомеры. Следующие заместители и значения предназначены для обеспечения типичных примеров различных аспектов настоящего изобретения. Указанные типичные значения предназначены для дополнительного определения таких аспектов и не предназначены для исключения других значений или ограничения объема настоящего изобретения.

В конкретном аспекте настоящего изобретения R¹ представляет собой C₃₋₅алкил, необязательно замещенный -ОН.

В другом конкретном аспекте R¹ является C₃₋₅алкилом.

В других конкретных аспектах R¹ представляет собой C₃₋₄алкил или R¹ представляет собой изопропил или трет-бутил.

В другом конкретном аспекте R¹ является изопропилом.

Еще в одних конкретных аспектах R¹ представляет собой 1-гидрокси-1-метилэтил или 2-гидрокси-1-метилэтил.

В конкретном аспекте X является C(O)OR², где R² представляет собой C₁₋₄алкил или -(CH₂)_n-фенил, где n равно 0 или 1.

В другом конкретном аспекте X является -C(O)OR², где R² представляет собой C₁₋₃алкил или фенил.

В других конкретных аспектах X является -C(O)OR², где R² представляет собой метил или фенил или где R² является метилом.

В конкретном аспекте X является -C(O)R³, где R³ выбирают из фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена, C₁₋₄алкокси, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ и -CN; C₁₋₅алкила; C₄₋₅циклоалкила и -(CH₂)_m-A, где m равно 0 или 1, и A выбирают из amino, фурилы, тиофенилы, морфолины, тетрагидрофурилы, пиридины, нафталены, пирролы, тиоморфолины, пирролидины, пиперидины, оксазетидины, тиазолидины, 1,1-диоксоизотиазолидины и 2,4-диметил-изоксазолины.

В другом конкретном аспекте X является -C(O)R³, где R³ представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена, C₁₋₄алкокси, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ и -CN.

В другом конкретном аспекте X является -C(O)R³, где R³ представляет собой C₁₋₅алкил или C₄₋₅циклоалкил.

В другом конкретном аспекте X является -C(O)R³, где R³ представляет собой -(CH₂)_m-A, где m равно 0 или 1, и A выбирают из amino, фурилы, тиофенилы, морфолины, тетрагидрофурилы, пиридины, нафталены, пирролы, тиоморфолины, пирролидины, пиперидины, оксазетидины, тиазолидины, 1,1-диоксоизотиазолидины и 2,4-диметилизоксазолины.

В другом конкретном аспекте X является -C(O)R³, где R³ представляет собой фенил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена и -CF₃, фурилы или тиофенилы.

Еще в одних конкретных аспектах X является -C(O)R³, где R³ представляет собой фенил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, выбранными из метила, хлора, фтора и -CF₃, или R³ представляет собой фуран-2-ил или тиофен-2-ил.

В конкретном аспекте X является -C(O)NR⁴R⁵, где R⁴ представляет водород или C₁₋₃алкил и R⁵ представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена, C₁₋₄алкокси, -CF₃, -OCF₃ и -OCHF₂.

В другом конкретном аспекте X является -C(O)NR⁴R⁵, где R⁴ представляет собой водород.

В другом конкретном аспекте X является -C(O)NR⁴R⁵, где R⁴ является водородом и R⁵ представляет собой фенил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила и галогена.

В других конкретных аспектах X является -C(O)NR⁴R⁵, где R⁴ представляет собой водород, и R⁵ представляет собой фенил, необязательно замещенный одним галогеном или одним фтором или хлором.

В конкретном аспекте X является -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸, где R⁶ представляет собой водород или C₁₋₃алкил и R⁷ представляет собой водород, -ОН или C₁₋₃алкил или R⁶ и R⁷, взятые вместе, образуют оксо или -(CH₂)₂- и R⁸ представляет собой фенил или циклогексил, где фенил или циклогексил необязательно замещены 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена, C₁₋₄алкокси, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ и -CN.

В другом конкретном аспекте X представляет собой C(O)C(R⁶R⁷)R⁸, где R⁶ является водородом.

В другом конкретном аспекте X является -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸, где R⁸ представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ и -CN.

В другом конкретном аспекте X является -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸, где R⁸ представляет собой циклогексил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена, C₁₋₄алкокси, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ и -CN.

Еще в одних конкретных аспектах X является -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸, где R⁶ является водородом и R⁷

представляет собой водород, -ОН или метил или R^6 и R^7 , взятые вместе, образуют оксо или $-(CH_2)_2-$ и R^8 представляет собой фенил или циклогексил, где фенил или циклогексил необязательно замещены 1 или 2 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила и галогена; или R^8 представляет собой фенил или циклогексил, где фенил или циклогексил необязательно замещены 1 или 2 заместителями, выбранными из метила, фтора и хлора.

В конкретном аспекте X является $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$, где R^9 представляет собой водород или C_{1-3} алкил и R^{10} представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила, галогена, C_{1-4} алкокси, $-CF_3$, $-OCF_3$ и $-OCHF_2$.

В другом конкретном аспекте X является $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$, где R^9 представляет собой водород или метил.

В других конкретных аспектах X является $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$, где R^9 представляет собой водород или метил и R^{10} является фенилом, необязательно замещенным 1 или 2 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила и галогена, или фенилом, необязательно замещенным 1 или 2 заместителями, выбранными из метила, фтора и хлора.

В конкретном аспекте X является $-S(O)_2R^{11}$, где R^{11} выбирают из C_{1-3} алкила, $-CH_2$ -фенила, фуридила, тиофенила, морфолинила, тетрагидрофуридила, пиридинила, нафталенила, пирролила, тиоморфолинила, пирролидинила, пиперидинила, оксазетидинила, тиазолидинила, 1,1-диоксоизотиазолидинила, 2,4-диметилизоксазолила и фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила, галогена, C_{1-4} алкокси, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ и $-CN$.

В другом конкретном аспекте X является $-S(O)_2R^{11}$, где R^{11} представляет собой C_{1-3} алкил, 2,4-диметилизоксазолил или фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила, галогена, C_{1-4} алкокси, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ и $-CN$.

В других конкретных аспектах X является $-S(O)_2R^{11}$, где R^{11} является метилом или фенилом, необязательно замещенным 1 или 2 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила и галогена; или 1 или 2 заместителями, выбранными из метила, фтора и хлора.

В одном аспекте настоящее изобретение обеспечивает соединение формулы (I), где

R^1 представляет собой C_{3-4} алкил и

X выбирают из:

- (a) $-C(O)OR^2$, где R^2 представляет собой C_{1-3} алкил или фенил;
- (b) $-C(O)R^3$, где R^3 представляет собой фенил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила, галогена и $-CF_3$; фурил или тиофенил;
- (c) $-C(O)NR^4R^5$, где R^4 является водородом и R^5 представляет собой фенил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила и галогена;
- (d) $-C(O)C(R^6R^7)R^8$, где R^6 является водородом и R^7 представляет собой водород, -ОН или метил или R^6 и R^7 , взятые вместе, образуют оксо или $-(CH_2)_2-$ и R^8 представляет собой фенил или циклогексил, где фенил или циклогексил необязательно замещены 1 или 2 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила и галогена;
- (e) $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$, где R^9 является водородом или метилом и R^{10} представляет собой фенил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила и галогена; и
- (f) $-S(O)_2R^{11}$, где R^{11} является метилом или фенилом, необязательно замещенным 1 или 2 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила и галогена.

Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает соединение формулы (I), где

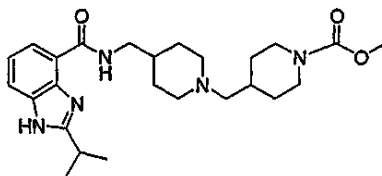
R^1 представляет собой изопропил или трет-бутил и

X выбирают из:

- (a) $-C(O)OR^2$, где R^2 является метилом или фенилом;
- (b) $-C(O)R^3$, где R^3 представляет собой фенил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, выбранными из метила, хлора, фтора и $-CF_3$; фуран-2-ил или тиофен-2-ил; и
- (c) $-C(O)NR^4R^5$, где R^4 является водородом, и R^5 представляет собой фенил, необязательно замещенный одним фтором или хлором.

И еще в одних конкретных аспектах настоящее изобретение обеспечивает соединения, перечисленные в приведенных ниже примерах и табл. I-IX.

Используемое в настоящем изобретении соглашение по химическому наименованию показано для соединения из примера 1



в соответствии с которым метиловый эфир 4-(4-((2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино)метил}пиперидин-1-илметил}пиперидин-1-карбоновой кислоты обозначен согласно программному обеспечению AutoNom, предоставленному компанией MDL Information Systems, GmbH

(Франкфурт, Германия). Конденсированная кольцевая структура "бензоимидазол" иначе называется "бензимидазолом". Используемые в настоящем изобретении оба термина являются эквивалентными.

Как показано на примере конкретных соединений, перечисленных в таблицах ниже, соединения настоящего изобретения могут содержать хиральный центр. Соответственно, если не указано иначе, настоящее изобретение включает рацемические смеси, чистые стереоизомеры и обогащенные стереоизомерами смеси таких изомеров. Если указан конкретный стереоизомер, специалистам в данной области будет понятно, что незначительное количество других стереоизомеров может присутствовать в соединениях настоящего изобретения, если не указано иначе, при условии, что наличие других таких изомеров не исключают какую-либо полезность композиции в целом.

В одном аспекте настоящее изобретение обеспечивает соединение, выбранное из группы, представляющей

метилловый эфир 4-(4-{{(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты;

фениловый эфир 4-(4-{{(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты;

{1-[1-(2-хлорбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты;

{1-[1-(2,4-дифторбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты;

{1-[1-(фуран-2-карбонил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты;

{1-[1-(тиофен-2-карбонил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты;

{1-[1-(2-фтор-5-трифторметилбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты;

{1-[1-(2-фторфенилкарбамоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты;

метилловый эфир 4-(4-{{(2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты;

{1-[1-(2-фторбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты;

{1-[1-(3-метилбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты; и

{1-[1-(4-фторбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

Определения

При описании соединений, композиций и способов настоящего изобретения, если не указано иначе, следующие термины имеют следующие значения.

Термин "алкил" означает моновалентную насыщенную углеводородную группу, которая может быть линейной или разветвленной, или их комбинацией. Если не указано иначе, такие алкилированные группы обычно содержат от 1 до 10 атомов углерода. Представители алкильных групп включают в качестве примеров метил (Me), этил, н-пропил (n-Pr), изопропил (iPr), н-бутил (n-Bu), sec-бутил, изобутил, трет-бутил (tBu), н-пентил, н-гексил, н-гептил, н-октил, н-нонил, н-децил и т.п.

Термин "алкокси" означает моновалентную группу -О-алкила, где алкил определен, как указано выше. Представители алкоксигруппы включают в качестве примера метокси, этокси, пропокси, бутокси и т.п.

Термин "циклоалкил" означает моновалентную насыщенную карбоциклическую группу, которая может быть моноциклической или полициклической. Если не указано иначе, такие циклоалкильные группы обычно содержат от 3 до 10 атомов углерода. Представители циклоалкильной группы включают в качестве примера циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил и т.п.

Термин "галоген" означает фтор, хлор, бром или йод.

Термин "оксо" означает атом кислорода с двойной связью (=O).

Термин "соединение" означает соединение, которое получено путем синтеза или получено любым другим путем, таким как метаболизм.

Термин "терапевтически эффективное количество" означает количество, достаточное для осуществления лечения при введении пациенту, нуждающемуся в таком лечении.

Термин "лечение", используемый в данном описании, означает лечение заболевания, нарушения или клинического состояния у пациента, такого как млекопитающее (в частности, человек), которое включает:

(а) предотвращение возникновения заболевания, нарушения или клинического состояния, то есть профилактическое лечение пациента;

(b) улучшение заболевания, нарушения или клинического состояния, то есть устранение или обратное развитие заболевания, нарушения или клинического состояния у пациента;

(c) подавление заболевания, нарушения или клинического состояния, то есть замедление или прекращение развития заболевания, нарушения или клинического состояния у пациента; или

(d) облегчение симптомов заболевания, нарушения или клинического состояния у пациента.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" означает соль, полученную из кислоты или основания, которая подходит для введения пациенту, такому как млекопитающее. Такие соли можно получать из фармацевтически приемлемых неорганических или органических кислот и из фармацевтически приемлемых оснований. Обычно фармацевтически приемлемые соли соединений настоящего изобретения получают из кислот.

Соли, полученные из фармацевтически приемлемых кислот, включают, но без ограничения, уксусную, адипиновую, бензолсульфоновую, бензойную, камфорсульфоновую, лимонную, этансульфоновую, фумаровую, глюконовую, глютаминовую, бромисто-водородную, хлористо-водородную, молочную, малеиновую, яблочную, миндальную, метансульфоновую, муциновую, азотную, пантотеническую, фосфорическую, янтарную, серную, винно-каменную, п-толуолсульфоновую, ксинафоевую (1-гидрокси-2-нафтойная кислота), нафталин-1,5-дисульфоновую кислоту и т.п.

Термин "сольват" означает комплекс или агрегат, образованный одной или несколькими молекулами растворенного вещества, то есть соединениями настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемой соли, и одной или несколькими молекулами растворителя. Такие сольваты обычно представляют собой кристаллические твердые вещества, имеющие, по существу, фиксированное молярное отношение растворенного вещества и растворителя. Представители растворителей включают в качестве примера воду, метанол, этанол, изопропанол, уксусную кислоту и т.п. Если растворителем является вода, образованным сольватом является гидрат.

Следует понимать, что термин «или его фармацевтически приемлемая соль, или сольват его стереоизомера» предполагает, что в него включены все перестановки в солях, сольватах и стереоизомерах, таких как сольват фармацевтически приемлемой соли стереоизомера соединения формулы (I).

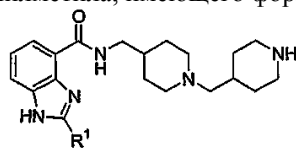
Термин "защитная аминокгруппа" означает защитную группу, подходящую для предотвращения нежелательных реакций в аминокгруппе. Представители защитных аминокгрупп включают, но без ограничения, формил; ацильные группы, например алканоильные группы, такие как ацетил; алкоксикарбонильные группы, такие как трет-бутоксикарбонил (Boc); арилметоксикарбонильные группы, такие как бензилоскарбонил (Cbz) и 9-флуоренилметоксикарбонил (Fmoc); арилметильные группы, такие как бензил (Bn), тритил (Tr) и 1,1-ди(4'-метоксифенил)метил; силильные группы, такие как триметилсилил (TMS) и трет-бутилдиметилсилил (TBDMS)/ и т.п.

Общепринятые способы синтеза

Соединения настоящего изобретения можно получить из легко доступных исходных соединений, используя следующие общепринятые способы и методики. Хотя конкретный аспект настоящего изобретения показан на приведенных ниже схемах специалистам в данной области будет понятно, что все аспекты настоящего изобретения можно получить с использованием способов, описанных в данном описании или с использованием других способов, реагентов и исходных соединений, известных специалистам в данной области. Также следует понимать, что если заданы обычные или предпочтительные условия способа (то есть параметры температуры реакции, времени, давления, молярные отношения реагентов, растворителей и т.д.), также можно использовать другие условия способа, если не указано иначе. Оптимальные условия реакции могут варьировать в зависимости от конкретных используемых реагентов или растворителя, но такие условия может определить специалист в данной области в соответствии с обычными алгоритмами оптимизации.

Дополнительно, специалистам в данной области будет очевидно, что может быть необходимым наличие общепринятых защитных групп, препятствующих осуществлению нежелательных реакций с определенными функциональными группами. Выбор подходящей защитной группы для конкретной функциональной группы, а также подходящих условий для защиты и снятия защитных групп известен в данной области. Например, многочисленные защитные группы и их введение и удаление описаны в T.W. Greene and G.M. Wuts Protecting Groups in Organic Synthesis, Third Edition, Wiley, New York, 1999 и цитированных там ссылках.

В одном способе синтеза соединения формулы (I) получают путем взаимодействия промежуточного продукта пиперидинилметилпиперидинилметила, имеющего формулу (II)



(II)

с реагентом формулы (III)

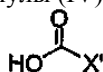


(III)

где L является уходящей группой, например галогеном, таким как хлор, или ацилокси, сульфоно-вым сложным эфиром или оксисукцинимидом, и R^1 и X определены согласно формуле (I).

Взаимодействие обычно проводят путем контактирования промежуточного продукта (II) с приблизительно от 1 до приблизительно 1,5 экв. промежуточного продукта (III) в полярном апротонном разбавителе, таком как дихлорметан, в присутствии по меньшей мере одного эквивалента аминного основания, такого как N,N-диизопропилэтиламин. Подходящие инертные разбавители для данного способа, а также для описанных ниже способов включают N,N-диметилформамид, трихлорметан, 1,1,2,2-тетрахлорэтан, тетрагидрофуран и т.п. Подходящие аминные основания для способов настоящего изобретения также включают триэтиламин, пиридин и т.п. Реакцию обычно проводят при температуре в диапазоне приблизительно от 0 до приблизительно 30°C в течение приблизительно от четверти часа до приблизительно 2 ч или, по существу, до завершения реакции. Примеры реагентов L-X, где L представляет собой хлор, включают метилхлорформиат, фенилхлорформиат, хлорбензоилхлорид и метансульфонилхлорид.

В альтернативном способе синтеза соединения формулы (I), где X выбирают из $-C(O)R^3$, $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ и $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$, можно получить реакцией сочетания амидов промежуточного продукта формулы (II) с карбоновой кислотой формулы (IV)



(IV)

В формуле (IV) X' представляет собой R^3 , $C(R^6R^7)R^8$ или $C(HR^9)OR^{10}$ таким образом, что $-C(O)X'$ соответствует X, как определено выше для формулы (IV). В реакции сочетания амидов промежуточного продукта (II) сначала приблизительно от 1 до приблизительно 1,5 экв. карбоновой кислоты (IV) подвергают взаимодействию с приблизительно 1 до приблизительно 1,5 экв. агента сочетания, такого как гексафторфосфат O-(7-аксабензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурия (HATU), в полярном апротонном растворителе, таком как диметилформамид или приведенные выше. Смесь кислот затем подвергают взаимодействию с промежуточным продуктом (II) в присутствии приблизительно от 2 до приблизительно 4 экв. аминного основания, например N,N-диизопропилэтиламина. Реакцию обычно проводят при температуре в диапазоне приблизительно от 0 до приблизительно 30°C в течение приблизительно от четверти часа до приблизительно 2 ч или, по существу, до завершения реакции.

Подходящие альтернативные агенты сочетания включают гидрохлорид N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC), 1,1'-карбонилдиимидазол (CDI), 1,3 дициклогексилкарбодиимид (DCC) и гексафторфосфат бензотриазол-1-илокситрипирролидинофосфония (PyBop). Агент сочетания можно объединять с активаторами, например 1-гидрокси-7-азабензотриазолом (HOAt), гидроксibenзотриазолом (HOBt) или 1,4-диазацикло[2,2,2]октаном (DABCO).

Еще в одном альтернативном способе соединения формулы (I), в которых X представляет собой $C(O)NHR^5$, можно получить путем взаимодействия промежуточного продукта формулы (II) с изоцианатом формулы

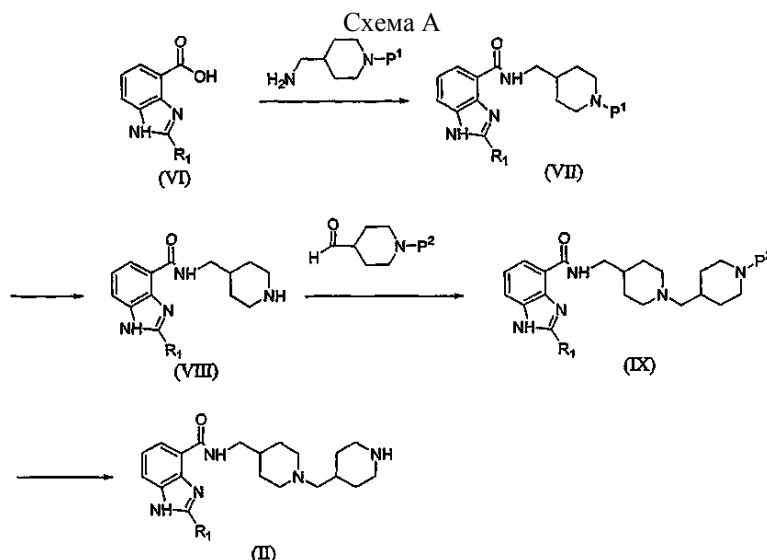


(V)

Взаимодействие обычно проводят путем контактирования промежуточного продукта (II) с приблизительно от 1 до приблизительно 1,5 экв. промежуточного продукта (V) в полярном апротонном разбавителе в присутствии приблизительно от 2 до приблизительно 4 экв. аминного основания. Реакцию обычно осуществляют при температуре в диапазоне приблизительно от 0 до приблизительно 30°C в течение приблизительно от четверти часа до приблизительно 24 ч или, по существу, до завершения реакции.

Продукт формулы (I) выделяют и очищают согласно общепринятым методам. Например, продукт можно выпаривать досуха при пониженном давлении, и остаток очищать высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ).

Промежуточные продукты пиперидинилметилпиперидинилметила формулы (II) получают из общедоступных исходных соединений согласно способу, показанному на схеме А.



где P^1 и P^2 независимо представляют собой защитную аминогруппу, такую как трет-бутоксикарбонил (Boc).

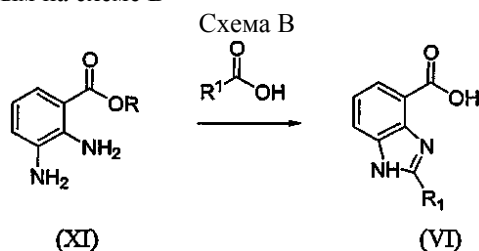
Сначала карбоновую кислоту формулы (VI) подвергают взаимодействию с защищенным аминотетрагидропиридином с образованием защищенного промежуточного продукта формулы (VII). Реакцию обычно проводят путем контактирования (VI) с приблизительно от 1 до приблизительно 2 экв. защищенного аминотетрагидропиридина в полярном апротонном разбавителе, в присутствии агента сочетания амидов, описанного выше, например гидрохлорида N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC) в комбинации с гидроксибензотриазолом (HOBt) или 1,1'-карбонилдиимидазола (CDI) в комбинации с 1,4-дизабицикло[2,2,2]октаном (DABCO). Реакцию обычно проводят при температуре в диапазоне приблизительно от 0 до приблизительно 60°C в течение периода времени приблизительно от 1 до приблизительно 24 ч или, по существу, до завершения реакции.

Для получения промежуточного продукта (VIII) защитную группу P^1 удаляют из промежуточного продукта (VII) общепринятым способом. Например, если в качестве защитной группы используют Boc, ее можно удалять обработкой кислотой, такой как трифторуксусная кислота или хлористо-водородная кислота.

Затем получают промежуточный продукт формулы (IX) путем восстановительного аминирования промежуточного продукта (VIII) с защищенным пиперидинкарбоксальдегидом. Данную реакцию обычно осуществляют путем контактирования соединения (VIII) с приблизительно от 1 до приблизительно 2 экв. защищенного пиперидинкарбоксальдегида в инертном разбавителе в присутствии приблизительно от 1 до приблизительно 2 экв. восстановителя. Необязательно для ускорения реакции можно вводить в нее один эквивалент слабой кислоты, такой как уксусная кислота. Реакцию можно проводить при температуре приблизительно от 0 до приблизительно 30°C, обычно приблизительно от 20 до приблизительно 30°C, в течение приблизительно от 0,25 до приблизительно 2 ч или, по существу, до завершения реакции.

Подходящие инертные разбавители включают дихлорметан, трихлорметан, 1,1,2,2-тетрахлорэтан и т.п. Обычные восстановители включают триацетоксиборангидрид натрия, борогидрид натрия и цианоборогидрид натрия. Продукт (IX) выделяют согласно стандартным методам. Если амин (VIII) получают в виде кислой соли, в реакцию включают приблизительно от 1 до приблизительно 3 экв. аминного основания, такого как N,N-диизопропилэтиламин. Наконец, защитную группу P^2 удаляют из промежуточного продукта (IX) согласно общепринятым способам с получением промежуточного продукта (II), пиперидинилметилпиперидинилметила.

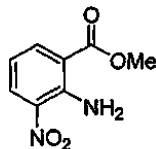
Карбоновая кислота формулы (VI) может быть получена из диаминобензойной кислоты или сложного эфира способом, показанным на схеме В



где R представляет собой метил или водород. Промежуточный продукт (XI) подвергают взаимодействию с карбоновой кислотой $\text{R}^1\text{C}(\text{O})\text{OH}$ с образованием кислого промежуточного продукта (VI). Реакцию обычно проводят путем контактирования кислоты или сложного эфира (XI) с приблизительно от 2

до приблизительно 4 экв. карбоновой кислоты $R^1C(O)OH$ в водном кислом растворе. Реакцию обычно проводят при температуре в диапазоне приблизительно от 80 до приблизительно 100°C в течение приблизительно от 12 до приблизительно 72 ч. Затем pH раствора повышают добавлением основания, такого как гидроксид натрия, и общепринятыми методами выделяют продукт.

В общепринятом способе получения промежуточного продукта (XI) в виде метилового сложного эфира в качестве исходного соединения используют метиловый эфир 2-амино-3-нитробензойной кислоты (X)

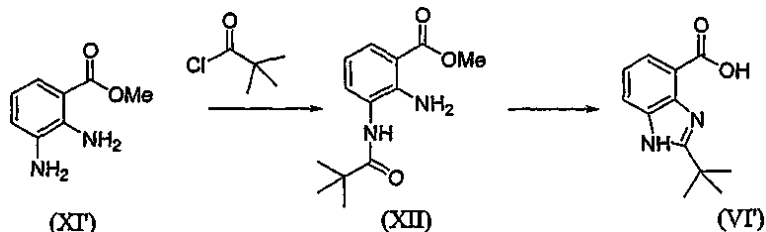


(X)

Обычно метиловый эфир 2-амино-3-нитробензойной кислоты (X) растворяют в полярном разбавителе и восстанавливают путем воздействия атмосферы водорода в присутствии катализатора из переходного металла с получением метилового эфира диаминобензойной кислоты (XI). Реакцию обычно проводят при температуре окружающей среды в течение приблизительно от 12 до приблизительно 72 ч.

Когда заместитель R^1 стерически объемлен, как, например, когда R^1 представляет собой трет-бутил, трет-бутилбензимидазолкарбоновую кислоту (VI') можно получить превращением метилового сложного эфира (XI') согласно двухстадийному способу, показанному, например, на схеме C

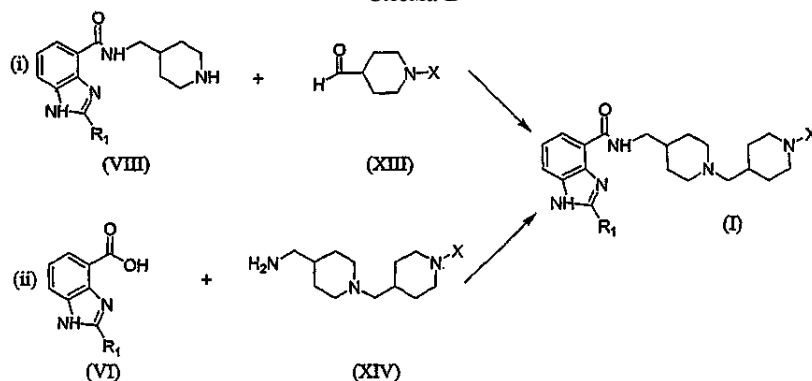
Схема C



Как подробно описано ниже в получении 3, метиловый сложный эфир (XI') сначала подвергают взаимодействию с 2,2-диметилпропионилхлоридом с получением промежуточного продукта (XII), который кипятят с обратным холодильником в растворе сильной кислоты, обычно в течение приблизительно от 12 до приблизительно 72 ч с получением трет-бутилбензимидазолкарбоновой кислоты (VI').

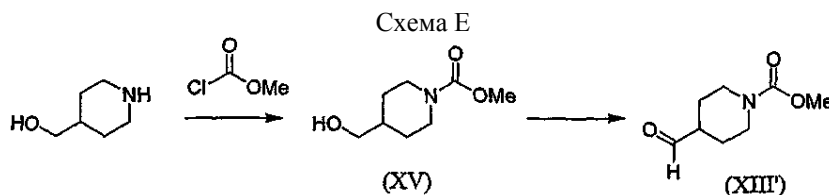
В альтернативных способах синтеза соединения формулы (I) можно получить согласно путям синтеза, проиллюстрированным на схеме D с использованием восстановительного аминирования и других реакций, описанных выше, и/или с использованием альтернативных реакций, хорошо известных специалистам в данной области.

Схема D



Как показано в пути синтеза (i), промежуточный продукт формулы (VIII) подвергают взаимодействию с промежуточным продуктом формулы (XIII) с получением соединения формулы (I). Реакцию обычно осуществляют в условиях, описанных выше для реакции амина (VIII) с защищенным пиперидин-карбоксальдегидом на схеме A.

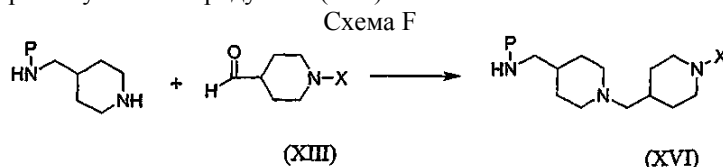
Промежуточный продукт (XIII) можно получить взаимодействием 4-гидроксиметилпиперидина с реагентом L-X формулы (III) с последующим окислением полученного промежуточного продукта. Например, для конкретного случая, когда X представляет собой $C(O)OCH_3$, промежуточный продукт (XIII) можно получить, как показано на схеме E.



Сначала 4-гидроксиметилпиперидин подвергают взаимодействию с метилхлорформиатом с образованием промежуточного продукта гидроксиметилпиперидина (XV). Реакцию обычно проводят путем контактирования 4-гидроксиметилпиперидина в водном растворе с приблизительно от 3 до приблизительно 5 экв. метилхлорформиата в присутствии приблизительно от 3 до приблизительно 5 экв. основания. Реакцию обычно проводят при температуре в диапазоне приблизительно от 0 до приблизительно 30°C в течение приблизительно от 12 до приблизительно 72 ч или, по существу, до завершения реакции. Затем промежуточный продукт (XV) окисляют с образованием промежуточного продукта формилпиперидинила (XIII'). В реакции окисления обычно используют такой окислитель, как комбинация оксалилхлорида и диметилсульфоксида (окисление Сверна), хроматный реагент, такой как пиридинийхлорхромат, или такой окислитель, как гипохлорит натрия, вместе с катализатором, таким как свободный 2,2,6,6-тетраметил-1-пиперидинилоксирадикал (TEMPO).

Получение соединения формулы (I) согласно пути синтеза (i) на схеме D с использованием промежуточного продукта (XIII') описано ниже в примерах 214 и 216.

Соединение формулы (I) можно также получить путем взаимодействия карбоновой кислоты формулы (VI) с промежуточным продуктом формулы (XIV), как показано в пути синтеза (ii). Как показано на схеме F, промежуточный продукт (XIV) можно получить путем взаимодействия защищенного аминоксиметилпиперидина с промежуточным продуктом (XIII)



где Р является защитной аминогруппой с получением защищенного промежуточного продукта формулы (XVI), с последующей стадией снятия защитных групп. Получение соединений согласно пути синтеза (ii) описано ниже в получении 4 и в примерах 14 и 15.

Реагенты L-X (III), $X^1C(O)OH$ (IV), $O=C=N=R^5$ (V) и $R^1O(O)OH$ являются коммерчески доступными или их легко получить стандартными способами из общепринятых исходных соединений.

Дополнительные подробности, относящиеся к конкретным условиям реакции и другим примерам способов получения соединений настоящего изобретения или его промежуточных продуктов, описаны ниже в примерах.

Соответственно, в аспекте способа настоящее изобретение обеспечивает способ получения соединения формулы (I), или его соли, или стереоизомера, включающий (a) взаимодействие соединения формулы (II) с соединением формулы (III); (b) взаимодействие соединения формулы (VIII) с соединением формулы (XIII) или (c) взаимодействие соединения формулы (VI) с соединением формулы (XIV), с получением соединения формулы (I), или его соли, или стереоизомера.

В дополнительном аспекте способа настоящее изобретение обеспечивает способ получения соединения формулы (I), где X выбирают из $-C(O)R^3$, $-C(O)C(R^6R^7)R^8$ и $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$, или их соли, или стереоизомера, включающий взаимодействие соединения формулы (II) с соединением формулы (IV), где X' представляет собой R^3 , $C(R^6R^7)R^8$ или $C(HR^9)OR^{10}$, с получением соединения формулы (I), или его соли, или стереоизомера.

Настоящее изобретение дополнительно обеспечивает соединение формулы (II), или его соль, или стереоизомер, или его защищенное производное, где R^1 определен согласно формуле (I).

Кристаллические формы

В другом аспекте настоящее изобретение обеспечивает метиловый эфир 4-(4-{[(2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты в кристаллической форме свободного основания или его сольвата. Обследовали три различные формы кристаллического метилового эфира 4-(4-{[(2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты (далее указываемые, как соединение 1).

Кристаллическая форма I настоящего изобретения является кристаллическим свободным основанием. Форма I характеризуется порошковой рентгенограммой (PXRD), имеющей два или несколько дифракционных пика при значении 2θ , выбранном из $15,08 \pm 0,20$, $15,41 \pm 0,20$, $19,00 \pm 0,20$, $19,70 \pm 0,20$ и $23,68 \pm 0,20$. В частности, форма I характеризуется порошковой рентгенограммой, имеющей дифракционные пики при значении 2θ $19,00 \pm 0,20$ и $19,70 \pm 0,20$.

Как хорошо известно, в области порошковой рентгеновской дифракции пиковые положения спектров PXRD, в отличие от относительной высоты пиков, являются относительно менее чувствительными

к деталям эксперимента, таким как подробности приготовления образцов и расположение приборов. Таким образом, в одном аспекте кристаллическая форма I характеризуется порошковой рентгенограммой, в которой пиковые положения, по существу, соответствуют положениям, показанным на фиг. 1.

Форма I дополнительно характеризуется рентгеноструктурным анализом кристаллической структуры, обеспечивающим следующие характеристики решетки: элементарная ячейка является ромбической со следующими параметрами: $a=16,9053 \text{ \AA}$, $b=9,5172 \text{ \AA}$, $c=15,4659 \text{ \AA}$; пространственной группой является $Pna2_1$; вычисленная плотность составляет $1,22 \text{ г/см}^3$. Получаемая молекулярная структура подтверждает, что химическая композиция имеет структуру соединения 1 и что асимметричная единица не содержит молекулы воды или других растворителей. Пики порошковой рентгеновской дифракции, предполагаемые по полученным атомным положениям, отлично согласуются с наблюдаемыми результатами.

Кристаллическая форма I настоящего изобретения также характеризуется высокой температурой термической устойчивости, о чем свидетельствует ее профиль дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC), демонстрирующий пик эндотермического теплового потока в диапазоне приблизительно от 145 до приблизительно 155°C , обычно приблизительно от 146 до 148°C , как показано на фиг. 2, который можно определить как точку плавления. Кроме того, профиль термического гравиметрического анализа (TGA) не показывает случаев значимого изменения массы при температуре ниже начала распада, что составляет выше чем приблизительно 240°C .

Еще в одном аспекте кристаллическая форма настоящего изобретения характеризуется своим спектром инфракрасного поглощения, который показывает выраженные полосы поглощения при длине приблизительно 766 , 1097 , 1251 , 1413 , 1449 , 1579 , 1609 , 1640 и 1696 см^{-1} .

Было показано, что кристаллическая форма настоящего изобретения имеет обратимый профиль сорбции/десорбции с исключительно низким уровнем гигроскопичности (то есть меньше чем увеличение массы приблизительно на $0,25\%$ в диапазоне влажности от 2% относительной влажности до 90% относительной влажности при комнатной температуре), как показано на фиг. 3.

Дополнительно, было обнаружено, что кристаллическая форма I соединения 1 является устойчивой при воздействии повышенной температуры и влажности. При хранении в течение трех месяцев при температуре 40°C и относительной влажности 75% отсутствовали какие-либо поддающиеся определению изменения профилей DSC, TGA или PXRD, изменения химической чистоты, определяемые анализом ВЭЖХ, и какие-либо заметные визуальные изменения внешнего вида. Также отсутствовали какие-либо изменения, выявляемые DSC, TGA или PXRD, после измельчения частиц формы I от объемного среднего размера частиц, составляющего приблизительно 470 мкм до объемного среднего размера частиц приблизительно 15 , приблизительно 22 или приблизительно 29 мкм .

Кристаллическая форма II соединения 1 характеризуется профилями DSC и TGA, показанными на фиг. 4. Анализ TGA показывает начало потери массы в диапазоне температур приблизительно от 95 до приблизительно 105°C , обычно при приблизительно 100°C , со ступенчатым профилем, соответствующим потере воды или растворителя, тогда как профиль DSC показывает пик эндотермического теплового потока приблизительно от 143 до приблизительно 145°C , одновременно с явлением плавления. Диаграмма PXRD формы II неотличима от аналогичной диаграммы формы I. Профиль TGA формы II согласуется с интерпретацией формы II в виде сольвата, тогда как положительная идентификация не проводилась.

Третью кристаллическую форму настоящего изобретения идентифицировали как моногидрат. Форма III характеризуется порошковой рентгенограммой (PXRD), имеющей два или несколько дифракционных пика при значении 2θ , выбранном из $9,14\pm 0,20$, $12,41\pm 0,20$, $12,74\pm 0,20$, $17,75\pm 0,20$, $18,47\pm 0,20$, $20,63\pm 0,20$, $21,13\pm 0,20$ и $27,05\pm 0,20$, как показано на фиг. 5. В частности, форма III характеризуется порошковой рентгенограммой, имеющей дифракционные пики при значении 2θ , составляющие $9,14\pm 0,20$ и $20,63\pm 0,20$.

Профили DSC и TGA формы III, показанные на фиг. 6, показывают материал, претерпевающий ступенчатую потерю массы с началом температурного диапазона приблизительно от 65 до приблизительно 75°C , обычно при приблизительно 70°C , и пик эндотермического теплового потока при температуре приблизительно от 90 до приблизительно 100°C , соответствующий потере моногидрата воды и последующему плавлению. Форма III дополнительно характеризуется рентгеноструктурным анализом кристаллической структуры, обеспечивая следующие параметры кристаллической решетки: элементарная ячейка является моноклинной со следующими размерами: $a=14,8101 \text{ \AA}$, $b=9,9985 \text{ \AA}$, $c=17,9222 \text{ \AA}$; $\beta=106,3020^\circ$, пространственной группой является $P2_1/n$; расчетная плотность составляет $1,23 \text{ г/см}^3$. Полученная молекулярная структура свидетельствует о том, что структура имеет химический состав соединения 1 и что асимметричная единица содержит единственную молекулу воды.

Отдельные кристаллические формы настоящего изобретения можно повторяемо получать согласно следующим методикам. Кристаллическую форму I можно получить путем диспергирования соединения 1 в инертном разбавителе, выбранном из ацетонитрила, эфира, циклогексана и этилацетата в пропорции приблизительно от 15 до приблизительно 25 мг соединения 1 на 1 мл разбавителя, с образованием смеси, и оставляя смесь для выпаривания при температуре окружающей среды, что приводит к кристаллизации.

Альтернативно, форму I можно получать способом замены растворителя из неочищенного соедине-

ния 1 в растворе, без выделения сначала аморфного соединения 1, как описано ниже в примере 216. Обычно реакцию получения соединения 1 проводят в полярном апротонном разбавителе, таком как дихлорметан, в котором соединение хорошо растворимо. Для получения кристаллической формы I добавляют ацетонитрил, в то время как вакуумной перегонкой неочищенного продукта реакции удаляют дихлорметан. Смесь, содержащую приблизительно от 1 до приблизительно 200 мг соединения 1 на 1 мл ацетонитрила, обычно приблизительно от 50 до приблизительно 125 мг соединения 1 на 1 мл ацетонитрила, получают из остатка, оставшегося после перегонки, и нагревают до температуры, достаточной для растворения остатка, например до температуры приблизительно 75°С. Затем смесь охлаждают до температуры не выше приблизительно 20°С, с получением кристаллической формы I, которую выделяют согласно общепринятым методам. Примером такого способа является охлаждение смеси до образования центров кристаллизации обычно при температуре приблизительно от 55 до приблизительно 65°С и выдерживание при этой температуре в течение приблизительно часа. Затем смесь охлаждают со скоростью приблизительно от 0,25 до приблизительно 0,4°С в минуту до температуры приблизительно 20°С. Для повышения выхода кристаллической формы I смесь можно дополнительно охлаждать со скоростью приблизительно от 0,5 до приблизительно 0,75°С в минуту до температуры приблизительно от 0 до приблизительно 5°С.

Для получения формы II аморфное соединение 1 диспергируют в гексане при температуре окружающей среды до конечной концентрации приблизительно 10 мг/мл и полученную смесь подвергают обработке ультразвуком. Примерно через 24 ч при температуре окружающей среды получают кристаллические твердые вещества формы II.

Форму III получали путем растворения аморфного соединения 1 в смеси этанол:водный растворитель в пропорции 1:1 при температуре окружающей среды до конечной концентрации приблизительно 20 мг/мл и обработки раствора ультразвуком в течение приблизительно 30 с. Раствор оставляли для частичного выпаривания в незакупоренной колбе. Спустя приблизительно 24 ч получают кристаллические твердые вещества формы III.

Фармацевтические композиции

Соединения бензимидазолкарбоксамида настоящего изобретения обычно вводят пациенту в виде фармацевтической композиции. Такие фармацевтические композиции можно вводить пациенту любым подходящим путем введения, включающим, но без ограничения, пероральный, ректальный, влагалищный, назальный, ингаляционный, местный (включая трансдермальный) и парентеральные способы введения.

Соответственно, в одном из своих композиционных аспектов настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент и терапевтически эффективное количество соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, или сольвата. Необязательно такие фармацевтические композиции могут содержать другие терапевтические и/или входящие в состав агенты, если это желательно.

Фармацевтические композиции настоящего изобретения обычно содержат терапевтически эффективное количество соединения настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемой соли. Обычно такие фармацевтические композиции будут содержать приблизительно от 0,1 до приблизительно 95 мас.% активного вещества; включая приблизительно от 5 до приблизительно 70 мас.% и приблизительно от 10 до приблизительно 60 мас.% активного вещества.

В фармацевтических композициях настоящего изобретения можно использовать любой общепринятый носитель или эксципиент. Выбор конкретного носителя или эксципиента или комбинаций носителей или эксципиентов будет зависеть от способа введения, применяемого для лечения конкретного пациента, или от типа клинического состояния или заболевания. В этом отношении получение подходящей фармацевтической композиции для конкретного способа введения входит в сферу деятельности, хорошо известную специалистам в фармацевтической области. Дополнительно, ингредиенты для таких композиций коммерчески доступны, например, от компании Sigma, P.O. Box 14508, St. Louis, MO 63178. Общепринятые технологии создания рецептур для дополнительной иллюстрации описаны в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000) и Ansel H.C. et al. Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

Типичные примеры материалов, которые могут служить фармацевтически приемлемыми носителями, включают, но без ограничения, следующее: (1) сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; (2) крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; (3) целлюлозу, такую как микрокристаллическая целлюлоза и ее производные, такие как натрийкарбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; (4) порошковый трагакант; (5) солод; (6) желатин; (7) тальк; (8) эксципиенты, такие как масло какао и воски для суппозиторий; (9) масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; (10) гликоли, такие как пропиленгликоль; (11) полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; (12) сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; (13) агар; (14) буферизирующие вещества, такие как

гидроксид магния и гидроксид алюминия; (15) альгиновая кислота; (16) апирогенная вода; (17) изотонический раствор; (18) раствор Рингера; (19) этиловый спирт; (20) фосфатно-буферные растворы и (21) другие нетоксичные совместимые вещества, применяемые в фармацевтических композициях.

Фармацевтические композиции настоящего изобретения обычно получают путем основательного и тщательного перемешивания или перемешивания соединения настоящего изобретения с фармацевтически приемлемым носителем и с одним или несколькими необязательными ингредиентами. Затем, при необходимости или желании, полученную однородно перемешанную смесь можно формовать или помещать в таблетки, капсулы, пилюли и т.п., используя общепринятые способы и оборудование.

Фармацевтические композиции настоящего изобретения предпочтительно упаковывают в виде единичной дозированной формы. Термин "единичная дозированная форма" относится к физически дискретной единице, подходящей для введения пациенту, то есть каждая единица содержит заданное количество активного вещества, рассчитанное таким образом, чтобы оказывать желаемый терапевтический эффект, или как таковой, или и в комбинации с одной или несколькими дополнительными единицами. Например, такие единичными дозированными формами могут являться капсулы, таблетки, пилюли и т.п.

В предпочтительном варианте осуществления фармацевтические композиции настоящего изобретения подходят для перорального введения. Подходящие для перорального введения фармацевтические композиции могут быть в виде капсул, таблеток, пилюль, пастилок, саше, драже, порошков, гранул; или в виде раствора или суспензии в водной или неводной жидкости, или в виде жидкой эмульсии типа масло-в-воде или вода-в-масле; или в виде эликсира или сиропа и т.п.; каждое из которых в качестве активного ингредиента содержит заданное количество соединения настоящего изобретения.

Если фармацевтические композиции настоящего изобретения предназначены для перорального введения в твердой лекарственной форме (то есть в виде капсул, таблеток, пилюль и т.п.), обычно в качестве активного ингредиента они будут содержать соединение настоящего изобретения и один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, таких как цитрат натрия или дикальций фосфат. Необязательно или альтернативно, такие твердые лекарственные формы также могут содержать (1) эксципиенты или экстендеры, такие как крахмалы, микрокристаллическая целлюлоза, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и/или кремниевая кислота; (2) связующие вещества, такие как карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и/или камедь; (3) увлажняющие вещества, такие как глицерин; (4) дезинтегрирующие агенты, такие как агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые силикаты и/или карбонат натрия; (5) вещества, замедляющие растворение, такие как парафин; (6) катализаторы абсорбции, такие как соединения четвертичного аммония; (7) смачивающие вещества, такие как цетиловый спирт и/или глицеролмоностеарат; (8) абсорбенты, такие как каолин и/или бентонитовая глина; (9) лубриканты, такие как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия, и/или их смеси; (10) красители и (11) буферизирующие вещества.

Также в фармацевтических композициях настоящего изобретения могут присутствовать агенты высвобождения, смачивающие вещества, вещества для покрытия, подсластители, ароматизаторы и отдушки, консерванты и антиоксиданты. Примеры фармацевтически приемлемых антиоксидантов включают (1) водорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, гидрохлорид цистеина, бисульфат натрия, метабисульфат натрия, сульфит натрия и т.п.; (2) маслорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбилпальмитат, бутилированный гидроксианизол (БНА), бутилированный гидрокситолуол (БНТ), лецитин, пропилгаллат, альфа-токоферол и т.п.; и (3) металл-хелатирующие вещества, такие как лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA), сорбит, винно-каменная кислота, метафосфорная кислота и т.п. Покрывающие вещества для таблеток, капсул, пилюль и т.п. включают вещества, используемые для энтеросолюбильных покрытий, такие как ацетатфталат целлюлозы (CAP), поливинил-ацетатфталат (PVAP), фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, сополимеры эфира метакриловой кислоты-метакриловой кислоты, тримеллитат ацетатцеллюлозы (CAT), карбоксиметил этилцеллюлозы (СМЕС), сукцинат гидроксипропилметилацетат целлюлозы (HPMCAS) и т.п.

Если желательно, можно также создавать рецептуру фармацевтических композиций настоящего изобретения, обеспечивающую медленное или регулируемое высвобождение активного ингредиента, с использованием, в качестве примера, гидроксипропилметилцеллюлозы в различных пропорциях или других полимерных матриц, липосом и/или микросфер.

Дополнительно, фармацевтические композиции настоящего изобретения могут необязательно содержать рентгеноконтрастные вещества, и их рецептура может быть сделана таким образом, что они высвобождают только активный ингредиент или избирательно в определенной части желудочно-кишечного тракта необязательно путем отсроченного высвобождения. Примеры вставленных композиций, которые могут быть использованы, включают полимерные вещества и воски. Активный ингредиент также может находиться в микроинкапсулированной форме при необходимости с одним или несколькими описанными выше эксципиентами.

Подходящие жидкие лекарственные формы для перорального введения включают, в качестве примера, фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Такие жидкие лекарственные формы обычно содержат активный ингредиент и инертный разбави-

тель, такой как, например, вода или другие растворители, солюбилизующие вещества и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, масла (например, хлопковое, арахисовое, кукурузное, оливковое, касторовое и кунжутное масло, масло пшеничных зародышей), глицерин, тетрагидрофуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот сорбита и их смеси. В дополнение к активному ингредиенту суспензии могут содержать суспендирующие вещества, такие как, например, этоксилированные изостеариловые спирты, полиоксиэтиленсорбит и сложные эфиры сорбитана, микрокристаллическую целлюлозу, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант, и их смеси.

Альтернативно, фармацевтические композиции настоящего изобретения создают для ингаляционного введения. Подходящие фармацевтические композиции для введения путем ингаляции обычно получают в виде аэрозоля или порошка. Такие композиции, в общем, применяют с использованием общеизвестных устройств для доставки, таких как дозирующий ингалятор, порошковый ингалятор, распылитель или подобное устройство для доставки.

Если фармацевтические композиции настоящего изобретения вводят путем ингаляции с использованием аэрозольного контейнера, обычно они будут содержать активный ингредиент и подходящий пропеллент, такой как дихлордифторметан, трихлорфторметан, дихлортетрафторэтан, углекислый газ или другой подходящий газ.

Дополнительно, фармацевтическая композиция может быть в виде капсулы или картриджа (например, сделанного из желатина), содержащего соединение настоящего изобретения и порошок, подходящий для использования в порошковом ингаляторе. Подходящие порошковые основы включают, в качестве примера, лактозу или крахмал.

Соединения настоящего изобретения можно также вводить чрескожно с использованием общеизвестных трансдермальных систем доставки и эксципиентов. Например, соединение настоящего изобретения можно смешивать с веществами, усиливающими проницаемость, такими как пропиленгликоль, монолаурат полиэтиленгликоля, азациклоалкан-2-оны и подобными, и включать в состав пластырей или в подобную систему доставки. Если желательно, в таких трансдермальных композициях можно использовать дополнительные эксципиенты, включающие желирующие вещества, эмульгаторы и буферизирующие вещества.

Следующие рецептуры показывают типичные фармацевтические композиции настоящего изобретения:

Пример рецептуры А.

Твердые желатиновые капсулы для перорального введения получают следующим образом:

Ингредиенты	Количество
Соединение настоящего изобретения	50 мг
Лактоза (высушенная распылением)	200 мг
Стеарат магния	10 мг

Пример методики: ингредиенты тщательно смешивают и затем помещают в твердую желатиновую капсулу (260 мг соединения на капсулу).

Пример рецептуры В.

Твердые желатиновые капсулы для перорального введения получают следующим образом:

Ингредиенты	Количество
Соединение настоящего изобретения	20 мг
Крахмал	89 мг
Микрокристаллическая целлюлоза	89 мг
Стеарат магния	2 мг

Пример методики: ингредиенты тщательно смешивают и затем пропускают через сито номер 45 США и помещают в твердую желатиновую капсулу (200 мг соединения на капсулу).

Пример рецептуры С.

Капсулы для перорального введения получают следующим образом:

Ингредиенты	Количество
Соединение настоящего изобретения	10 мг
Моноолеат полиоксиэтилена сорбит	50 мг
Порошок крахмала	250 мг

Пример методики: ингредиенты тщательно смешивают и затем помещают в твердую желатиновую капсулу (310 мг соединения на капсулу).

Пример рецептуры D.

Таблетки для перорального введения получают следующим образом:

Ингредиенты	Количество
Соединение настоящего изобретения	5 мг
Крахмал	50 мг
Микрокристаллическая целлюлоза	35 мг
Поливинилпирролидон (10% массы в воде)	4 мг
Натрийкарбоксиметилкрахмал	4,5 мг
Стеарат магния	0,5 мг
Тальк	1 мг

Пример методики: активные ингредиенты, крахмал и целлюлозу пропускают через сито номер 45 США и тщательно смешивают. Раствор поливинилпирролидона смешивают с полученными порошками и полученную смесь затем пропускают через сито номер 14 США. Полученные таким образом гранулы сушат при температуре 50-60°C и пропускают через сито номер 18 США. Затем к гранулам добавляют натрийкарбоксиметилкрахмал, стеарат магния и тальк (предварительно пропущенные через сито номер 60 США). После смешивания смесь прессуют на таблетующей машине с получением таблетки массой 100 мг.

Пример рецептуры E.

Таблетки для перорального введения получают следующим образом:

Ингредиенты	Количество
Соединение настоящего изобретения	25 мг
Микрокристаллическая целлюлоза	400 мг
Коллоидальный диоксид кремния	10 мг
Стеарат магния	5 мг

Пример методики: ингредиенты тщательно смешивают и затем прессуют с образованием таблеток (440 мг композиции на таблетку).

Пример рецептуры F.

Таблетки с единственной насечкой для перорального введения получают следующим образом:

Ингредиенты	Количество
Соединение настоящего изобретения	15 мг
Кукурузный крахмал	50 мг
Натрийроскармеллоза	25 мг
Лактоза	120 мг
Стеарат магния	5 мг

Пример методики: ингредиенты тщательно смешивают и затем прессуют с образованием таблеток с одной насечкой (215 мг композиций на таблетку).

Пример рецептуры G.

Суспензию для перорального введения получают следующим образом:

Ингредиенты	Количество
Соединение настоящего изобретения	0,1 г
Фумаровая кислота	0,5 г
Хлорид натрия	2,0 г
Метилпарабен	0,15 г
Пропилпарабен	0,05 г
Сахарный песок	25,5 г
Сорбит (70% раствор)	12,85 г
Вигум k (Vanderbilt Co.)	1,0 г
Ароматизаторы	0,035 мл
Красители	0,5 мг
Дистиллированная вода	q.s. до 100 мл

Пример методики: ингредиенты смешивают с образованием суспензии, содержащей 10 мг активного ингредиента на 10 мл суспензии.

Пример рецептуры Н.

Сухой порошок для ингаляционного введения получают следующим образом:

Ингредиенты	Количество
Соединение настоящего изобретения	1,0 мг
Лактоза	25 мг

Пример методики: активный ингредиент микронизируют и затем смешивают с лактозой. Эту смешанную массу затем загружают в желатиновый картридж для ингаляции. Содержимое картриджа вводят с использованием порошкового ингалятора.

Пример рецептуры I.

Сухой порошок для ингаляционного введения в дозирующем ингаляторе получают следующим образом:

Пример методики: суспензию, содержащую 5% массы соединения настоящего изобретения и 0,1% лецитина, получают диспергированием 10 г активного соединения в виде микронизированных частиц со средним размером менее 10 мкм в растворе, образованном из 0,2 г лецитина, растворенного в 200 мл деминерализованной воды. Суспензию сушат распылением и полученный материал микронизируют до частиц, имеющих в среднем диаметр менее 1,5 мкм. Частицы помещают в картриджи со сжатым 1,1,1,2-тетрафторэтаном.

Пример рецептуры J.

Рецептуру для инъекций получают следующим образом:

Ингредиенты	Количество
Соединение настоящего изобретения	0,2 г
Буферный раствор ацетата натрия (0,4М)	40 мл
HCl (0,5н.) или NaOH (0,5н.)	q.s. до pH 4
Вода (дистиллированная, стерильная)	q.s. до 20 мл

Пример методики: указанные выше ингредиенты смешивают и pH доводят до $4 \pm 0,5$, используя 0,5н. HCl или 0,5н. NaOH.

Пример рецептуры K.

Капсулы для перорального введения получают следующим образом:

Ингредиенты	Количество
Соединение настоящего изобретения	4,05 мг
Микрокристаллическая целлюлоза (Avicel PH 103)	259,2 мг
Стеарат магния	0,75 мг

Пример методики: ингредиенты тщательно смешивают и затем помещают в желатиновую капсулу (размер #1, белую, непрозрачную) (264 мг композиции на капсулу).

Пример рецептуры L.

Капсулы для перорального введения получают следующим образом:

Ингредиенты	Количество
Соединение настоящего изобретения	8,2 мг
Микрокристаллическая целлюлоза (Avicel PH 103)	139,05 мг
Стеарат магния	0,75 мг

Пример методики: ингредиенты тщательно смешивают и затем помещают в желатиновую капсулу (размер #1, белую, непрозрачную) (148 мг композиции на капсулу).

Следует понимать, что любые формы соединений настоящего изобретения (то есть свободное основание, фармацевтическая соль или сольват), которые являются подходящими для конкретного способа введения, можно использовать в описанных выше фармацевтических композициях.

Соединения бензимидазолкарбоксамида настоящего изобретения представляют собой агонисты рецепторов 5-HT₄ и поэтому предполагается, что они будут полезны для лечения клинических состояний, обусловленных рецепторами 5-HT₄ или связанных с активностью рецепторов 5-HT₄, то есть клинических состояний, которые улучшаются лечением агонистом рецепторов 5-HT₄. Такие клинические состояния включают, но без ограничения, синдром раздраженного кишечника (СРК), хронический запор, функциональную диспепсию, задержку эвакуации содержимого желудка, гастроэзофагеальную рефлюксную болезнь (GERD), гастропарез, послеоперационную непроходимость кишечника, кишечную псевдообструкцию и медикаментозный замедленный кишечный транзит. Дополнительно, предполагается, что некоторые соединения агонистов рецепторов 5-HT₄ можно применять при лечении нарушений центральной нервной системы, включающих когнитивные расстройства, нарушения поведения, нарушения настроения и нарушения регуляции вегетативных функций.

В частности, соединения настоящего изобретения усиливают моторику желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и, таким образом, предполагается, что они будут полезны для лечения нарушений ЖК тракта,

вызванного снижением моторики у млекопитающих, включая людей. Такие нарушения моторики ЖКТ включают, в качестве примера, хронический запор, синдром раздраженного кишечника с преобладанием запора (З-СРК), диабетический и идиопатический гастропарез и функциональную диспепсию.

В этой связи в одном аспекте настоящее изобретение обеспечивает способ усиления моторики желудочно-кишечного тракта у млекопитающего, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель и соединение настоящего изобретения.

При использовании для лечения заболеваний со снижением моторики ЖК тракта или других состояний, обусловленных рецепторами 5-НТ₄, соединения настоящего изобретения обычно будут вводиться перорально в однократной суточной дозе или в виде многократного введения в день, вместе с тем можно применять другие формы введения. Количество вводимого активного вещества на одну дозу или общее количество, применяемое за сутки, обычно будет определять врач в свете соответствующих обстоятельств, включающих состояние, которое нужно лечить, выбранный путь введения, фактически применяемое соединение и его относительную активность, возраст, массу и индивидуальную реакцию пациента, тяжесть симптомов у пациента и т.п.

Подходящие дозы для лечения заболеваний со сниженной моторикой ЖК тракта или других нарушений, обусловленных рецепторами 5-НТ₄, будут составлять диапазон приблизительно от 0,0007 до приблизительно 20 мг/кг/день активного вещества, включающего приблизительно от 0,0007 до приблизительно 1 мг/кг/день. Для среднего человека массой 70 кг это количество может составлять приблизительно от 0,05 до приблизительно 70 мг в день активного вещества.

В одном аспекте настоящего изобретения соединения настоящего изобретения применяют для лечения хронического запора. Если соединения настоящего изобретения применяют для лечения хронического запора, их обычно будут вводить перорально в однократной суточной дозе или в виде многократного введения в день. Предпочтительная доза для лечения хронического запора будет составлять приблизительно от 0,05 до приблизительно 70 мг в день.

В другом аспекте настоящего изобретения соединения настоящего изобретения применяют для лечения синдрома раздраженного кишечника. Если соединения настоящего изобретения применяют для лечения синдрома раздраженного кишечника с преобладанием запора, их обычно будут вводить перорально в однократной суточной дозе или в виде многократных доз в день. Предпочтительная доза для лечения синдрома раздраженного кишечника с преобладанием запора будет составлять диапазон приблизительно от 0,05 до приблизительно 70 мг в день.

В другом аспекте настоящего изобретения соединения настоящего изобретения используют для лечения диабетического гастропареза. Если соединения настоящего изобретения применяют для лечения диабетического гастропареза, их обычно будут вводить перорально в однократной суточной дозе или в виде многократных доз в день. Предпочтительная доза для лечения диабетического гастропареза будет составлять диапазон приблизительно от 0,05 до приблизительно 70 мг в день.

В еще одном аспекте настоящего изобретения соединения настоящего изобретения применяют для лечения функциональной диспепсии. Если соединения настоящего изобретения применяют для лечения функциональной диспепсии, их обычно будут вводить перорально в однократной суточной дозе или в виде многократных доз в день. Предпочтительная доза для лечения функциональной диспепсии будет составлять диапазон приблизительно от 0,05 до приблизительно 70 мг в день.

Настоящее изобретение также обеспечивает способ лечения млекопитающего, имеющего заболевание или состояние, связанное с активностью рецепторов 5-НТ₄, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения настоящего изобретения или фармацевтической композиции, содержащей соединение настоящего изобретения.

Как описано выше, соединения настоящего изобретения представляют собой агонисты рецепторов 5-НТ₄. В этой связи настоящее изобретение дополнительно обеспечивает способ достижения у млекопитающего агонизма в отношении рецепторов 5-НТ₄, включающий введение млекопитающему соединения настоящего изобретения. Дополнительно, соединения настоящего изобретения также полезны в качестве инструментов исследования для изучения или исследования биологических систем или образцов, имеющих рецепторы 5-НТ₄, или для обнаружения новых агонистов рецепторов 5-НТ₄. Кроме того, такие соединения особенно полезны для изучения эффектов селективного агонизма рецепторов 5-НТ₄ в биологической системе или образце, поскольку соединения настоящего изобретения проявляют селективное связывание с рецепторами 5-НТ₄ по сравнению со связыванием с другими подтипами рецепторов 5-НТ, в частности рецепторами с 5-НТ₃. В таких исследованиях, которые можно проводить как *in vitro*, так и *in vivo*, можно использовать любую подходящую биологическую систему или образец, имеющий рецепторы 5-НТ₄. Примеры биологических систем или образцов, подходящих для таких исследований, включают, но не ограничены ими, клетки, клеточные экстракты, плазматические мембраны, образцы тканей, млекопитающих (таких как мыши, крысы, морские свинки, кролики, собаки, свиньи и т.д.) и т.п.

В данном аспекте настоящего изобретения биологическая система или образец, содержащий рецептор 5-НТ₄, контактируют с соединением настоящего изобретения в количестве, оказывающем агонистический эффект в отношении рецепторов 5-НТ₄. Затем определяют агонистические эффекты рецепторов

5-HT₄, используя общепринятые методики и оборудование, такие как анализы радиолигандного связывания и функциональные анализы. Функциональные анализы включают лиганд-опосредованные изменения внутриклеточного циклического аденозинмонофосфата (цАМФ), лиганд-опосредованные изменения активности фермента аденилатциклазы (который синтезирует цАМФ), лиганд-опосредованные изменения во включении аналогов гуанозинтрифосфата (GTP)_γS, такие как [³⁵S]GTPγS (гуанозин 5'-O-(γ-тио)трифосфат) или GTP-Ес, в изолированные мембраны посредством катализируемого рецептором обмена аналогами GTP на аналоги GDP, лиганд-опосредованные изменения в свободных внутриклеточных ионах кальция (измеряемые, например, с помощью флуоресцентносвязанного отражающего планшет-ридера FLIPR® от компании Molecular Devices, Inc.), и измерение активации митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК). В любом из вышеперечисленных функциональных анализов или в анализах подобного характера соединение настоящего изобретения может являться агонистом или усиливать активацию рецепторов 5-HT₄. Количество соединения настоящего изобретения, обладающее агонистическим эффектом в отношении рецепторов 5-HT₄, обычно будет составлять диапазон приблизительно от 1 до приблизительно 500 нмоль.

Дополнительно, соединения настоящего изобретения можно использовать в качестве инструментов исследования для обнаружения новых агонистов рецепторов 5-HT₄. В этом варианте осуществления связывание рецепторов 5-HT₄ или функциональные данные для тестируемого соединения или группы тестируемых соединений подвергают сравнению со связыванием рецепторов 5-HT₄ или функциональными данными соединения настоящего изобретения, чтобы выявить среди тестируемых соединений соединения, которые обладают наиболее высоким связыванием или функциональной активностью, если таковые имеются. Данный аспект настоящего изобретения включает, как отдельные варианты осуществления, обе совокупности сравнительных данных (с использованием соответствующих анализов) и анализ данных испытаний для идентификации рассматриваемых тестируемых соединений.

Наряду с другими свойствами было обнаружено, что соединения настоящего изобретения являются мощными агонистами рецепторов 5-HT₄, и в анализе радиолигандного связывания проявляют значительную селективность для подтипа рецепторов 5-HT₄ по сравнению с подтипом рецепторов 5-HT₃. Дополнительно, соединения настоящего изобретения, которые были конкретно приведены, на модели крысы проявляли превосходные фармакокинетические свойства. Таким образом, предполагается, что такие соединения при пероральном введении будут обладать высокой биодоступностью. Дополнительно было обнаружено, что данные соединения не показывают недопустимого уровня ингибирования потока иона калия *in vitro* на модели фиксации напряжения с использованием изолированных цельных клеток сердечного калиевого канала, экспрессирующих hERG. Анализ фиксации напряжения является признанным способом доклинической оценки возможности фармацевтических средств изменять характеристики реполяризации миокарда, более конкретно, вызывать так называемую пролонгацию интервала QT, которую связывают с сердечной аритмией (Cavero et al. Opinion on Pharmacotherapy, 2000, 1, 947-73, Fermini et al. Nature Reviews Drug Discovery, 2003, 2, 439-447). Соответственно, предполагается, что фармацевтические композиции, содержащие соединения настоящего изобретения, будут обладать приемлемым кардиальным профилем.

Указанные свойства, а также полезность соединений настоящего изобретения можно продемонстрировать, используя различные *in vitro* и *in vivo* анализы, известные специалистам в данной области. Примеры анализов описаны с дополнительными подробностями в следующих примерах.

Примеры

Следующие примеры синтеза и биологические примеры приводятся для иллюстрации настоящего изобретения, и в любом случае они не должны рассматриваться в качестве ограничения объема настоящего изобретения. В приведенных ниже примерах, если не обозначено иначе, следующие сокращения имеют следующие значения. Сокращения, не указанные ниже, имеют свои общепринятые значения.

Вос=трет-бутоксикарбонил

ДМСО=диметилсульфоксид

MeCN=ацетонитрил

ТФУК=трифторуксусная кислота

R_f=фактор удерживания

Реагенты и растворители приобретали у коммерческих поставщиков (компании Aldrich, Fluka, Sigma и т.д.) и использовали без дополнительной очистки. Реакции осуществляли в атмосфере азота, если не указано иначе. Развитие реакционных смесей контролировали тонкослойной хроматографией (ТСХ), аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографией (аналитическая ВЭЖХ) и масс-спектрометрией, подробное описание которых приведено ниже и отдельно в конкретных примерах реакций. Реакционные смеси обрабатывали, как описано конкретно в каждой реакции; обычно их очищали экстрагированием и другими методами очистки, такими как температурозависимая и растворительзависимая кристаллизация и осаждение.

Дополнительно, реакционные смеси очищали обычным методом препаративной ВЭЖХ. Описание общей схемы приведено ниже. Определение характеристик продуктов реакции осуществляли обычно

путем масс-спектрометрии и ^1H -ЯМР-спектрометрии. Для измерения ЯМР образцы растворяли в дейтерированном растворителе (CD_3OD , CDCl_3 или DMCO-d_6) и в стандартных условиях наблюдения получали спектры ^1H -ЯМР на оборудовании Varian Gemini 2000 (300 МГц). Масс-спектрометрическую идентификацию выполняли масс-спектрометрией с ионизацией электрораспылением (ESMS) на жидкостном хроматографе/масс-селективном детекторе (LC/MSD) Applied Biosystems (Foster City, CA) модели API 150 EX или Agilent (Palo Alto, Ca) модели 1100.

Получение 1. Синтез (пиперидин-4-илметил)амида 2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

а. Получение метилового эфира 2,3-диаминобензойной кислоты.

К насыщенному азотом раствору метилового эфира 2-амино-3-нитробензойной кислоты (Chess GmbH, 50 г, 0,26 моль) в абсолютном этаноле (800 мл) добавляли гидроксид палладия (Degussa, 20% в массовом отношении (м/м) к углероду, 58,75% м/м к воде, 10 г). Суспензию дегазировали, затем энергично взбалтывали в атмосфере водорода (4 атм) при комнатной температуре в течение 48 ч. Катализатор отфильтровывали и фильтрат концентрировали в вакууме с получением метилового эфира 2,3-диаминобензойной кислоты в виде темно-оранжевого масла, которое затвердевало при стоянии (43 г, 0,26 моль, 100%). (m/z): $[\text{M}-\text{OCH}_3]^+$, вычислено для $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$: 135,05; найдено: 135,3.

^1H ЯМР (300 МГц, DMCO-d_6): δ (м.д.) 3,74 (с, 3H), 4,80 (ушир.с, 1H), 6,20 (ушир.с, 1H), 6,38 (т, 1H), 6,70 (д, 1H), 7,06 (д, 1H).

б. Получение 2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

Суспензию метилового эфира 2,3-диаминобензойной кислоты (21,5 г, 0,3 моль) и изомасляной кислоты (36,2 мл, 0,39 моль) в водной хлористо-водородной кислоте (4М, 210 мл) перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 24 ч с получением гомогенного раствора. Раствор охлаждали до 10°C и pH повышали до 3,5, используя водный раствор гидроксида натрия (4М, приблизительно 210 мл), одновременно поддерживая температуру ниже 30°C . Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, охлаждали до 10°C и полученный осадок отфильтровывали. Твердый осадок на фильтре переносили в химический стакан и добавляли ацетонитрил (300 мл). Затем суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и фильтровали с получением серого твердого вещества. Твердое вещество сушили в вакууме с получением указанного в заголовке промежуточного продукта (23 г, 0,11 моль, 87%). (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычислено для $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$: 205,09; найдено: 205,3.

^1H ЯМР (300 МГц, DMCO-d_6): δ (м.д.) 1,27 (д, 6H), 3,39 (м, 1H), 7,29 (т, 1H), 7,78 (м, 2H).

с. Получение трет-бутилового эфира 4-[[2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил]пиперидин-1-карбоновой кислоты.

К раствору 2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты (9,0 г, 44,1 ммоль) в безводном N,N-диметилформамиде (100 мл) добавляли трет-бутиловый эфир 4-аминометилпиперидин-1-карбоновой кислоты (9,4 г, 44,1 ммоль) с последующим добавлением N,N-диизопропилэтиламина (16,9 мл, 97,0 ммоль). Раствор перемешивали в течение 15 мин при комнатной температуре перед добавлением гидроксibenзотриазола (5,9 г, 44,1 ммоль), гидрохлорида N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)карбодимида (8,4 г, 44,1 ммоль) и дополнительно N,N-диметилформамида (50 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч, разбавляли дихлорметаном (300 мл) и промывали последовательно 1М водной метафосфорной кислотой, 1М водным гидроксидом натрия и насыщенным раствором соли. Затем раствор сушили над сульфатом натрия и выпаривали в вакууме с получением коричневого масла, которое затвердевало после дополнения гексанов. Твердое вещество отфильтровывали с получением указанного в заголовке промежуточного продукта в виде бежевого твердого вещества (13,8 г, 36,0 ммоль, 78%). (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычислено для $\text{C}_{22}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_3$: 401,26; найдено: 401,5; $[\text{M}-\text{Boc}+\text{H}]^+$ 301,5. Время удерживания (аналитическая ВЭЖХ: 2-90% $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$ свыше 6 мин)=3,7 мин.

^1H ЯМР (300 МГц, DMCO-d_6): δ (м.д.) 1,20 (м, 2H), 1,37 (с, 9H), 1,37 (с, 6H), 1,72 (м, 1H), 1,75 (м, 2H), 2,73 (ушир.с, 2H), 3,22 (септет, 1H), 3,36 (м, 2H), 3,95 (м, 2H), 7,26 (т, 1H), 7,63 (д, 1H), 7,79 (д, 1H), 10,11 (т, 1H).

д. Синтез (пиперидин-4-илметил)амида 2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

К раствору трет-бутилового эфира 4-[[2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил]пиперидин-1-карбоновой кислоты (10,8 г, 27,0 ммоль), растворенного в дихлорметане (50 мл), при 0°C медленно добавляли трифторуксусную кислоту (50 мл) порциями по 5 мл. Раствор оставляли нагреваться до комнатной температуры, перемешивали в течение дополнительных 20 мин, затем выпаривали в вакууме. Избыток трифторуксусной кислоты удаляли совместным выпариванием с толуолом. Затем остаток растворяли в минимальном объеме дихлорметана и медленно добавляли к диэтиловому эфиру (1 л) при 0°C . Полученную суспензию перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре, затем фильтровали с получением бис-трифторуксусной соли указанного в заголовке соединения в виде светло-коричневого твердого вещества (12,7 г, 24,0 ммоль, 89%). (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычислено для $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}$: 301,21; найдено: 301,5. Время удерживания (аналитическая ВЭЖХ: 2-50% $\text{MeCN}/\text{H}_2\text{O}$ свыше 6 мин)=1,65 мин.

^1H ЯМР (300 МГц, MeOD-d_3): δ (м.д.) 1,59 (д, 6H), 1,60 (м, 1H), 2,03 (м, 2H), 2,04 (м, 1H), 3,00 (м,

2Н), 3,43 (м, 2Н), 3,45 (м, 2Н), 3,63 (септет, 1Н), 7,63 (т, 1Н), 7,90 (д, 1Н), 7,96 (д, 1Н), 9,04 (т, 1Н).

Получение 2. Синтез (1-пиперидин-4-илметилпиперидин-4-илметил)амида 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

Получение трет-бутилового эфира 4-(4-{{(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты.

К суспензии бис-трифторацетата (пиперидин-4-илметил)амида 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты (6,84 г, 12,95 ммоль) в дихлорметане (65 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота добавляли последовательно N,N-диизопропилэтиламин (1,67 г, 2,25 мл), раствор 1-(трет-бутоксикарбонил)пиперидин-4-карбоксальдегида (3,16 г, 14,89 ммоль) в дихлорметане (5 мл) и триацетоксиборогидрид натрия (3,84 г, 18,13 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч, затем подкисляли pH 1 до 1М водной хлористо-водородной кислотой. Водный слой удаляли и экстрагировали органический слой 1М водной хлористо-водородной кислотой до полного удаления продукта в органической фазе. Объединенные водные слои промывали охлажденным до 0°C дихлорметаном и повышали основность до pH 12 гранулами гидроксида натрия. Затем раствор экстрагировали дихлорметаном до полного удаления продукта из водной фазы и объединенные органические слои промывали насыщенным раствором соли, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением желаемого продукта в виде коричневого масла (5,4 г, 10,8 ммоль, 84%), которое использовали без дополнительной очистки, (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{28}H_{43}N_5O_3$: 498,35; найдено: 498,5.

b. Синтез (1-пиперидин-4-илметилпиперидин-4-илметил)амида 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

Продукт предыдущей стадии (5,4 г, 10,8 ммоль) растворяли в дихлорметане (40 мл) и охлаждали до 0°C. Добавляли трифторуксусную кислоту (30 мл) и перемешивали раствор при 0°C в течение дополнительных 0,5 ч. Затем смесь концентрировали и дважды совместно выпаривали в вакууме с дихлорметаном. Полученный остаток растворяли в дихлорметане (20 мл), охлаждали до 0°C и повышали основность с помощью водного гидроксида натрия (50 мл) в количестве 20% м/м. Раствор оставляли нагреваться до комнатной температуры в течение 10 мин, затем фильтровали. Твердое вещество промывали ацетонитрилом и сушили в вакууме с получением светло-серого порошка (3,09 г, 7,8 ммоль, 72%), который использовали без дополнительной очистки, (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{23}H_{35}N_5O$: 398,29; найдено: 398,4.

Получение 3. Синтез (1-пиперидин-4-илметилпиперидин-4-илметил) амида 2-трет-бутил-1-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

a. Получение метилового эфира 2-амино-3-(2,2-диметилпропиониламино)бензойной кислоты.

К раствору метилового эфира 2,3-диаминобензойной кислоты (2,3 г, 13,8 ммоль) в пиридине (40 мл) при комнатной температуре добавляли 2,2-диметилпропионилхлорид (1,7 г, 14,0 ммоль). Раствор перемешивали в течение 16 ч, выпаривали и остаток распределяли между этилацетатом (100 мл) и 1М водной хлористо-водородной кислотой (100 мл). Отделяли органическую фазу, промывали 1М водной хлористо-водородной кислотой (100 мл), сушили над сульфатом натрия и выпаривали с получением указанного в заголовке соединения в виде темного масла (2,7 г, 10,8 ммоль, 78%), которое использовали без дополнительной очистки, (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{13}H_{18}N_2O_3$: 251,14; найдено: 250,8.

b. Получение 2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

Суспензию продукта предыдущей стадии (2,7 г, 10,8 ммоль) в водной 4М хлористо-водородной кислоте (100 мл) перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 24 ч с получением гомогенного раствора. Растворитель выпаривали с получением гидрохлоридной соли указанного в заголовке промежуточного продукта в виде красно-коричневого твердого вещества (2,5 г, 9,8 ммоль, 91%). (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{12}H_{14}N_2O_2$: 219,12; найдено: 219,3.

^1H ЯМР (300 МГц, $DMCO-d_6$): δ (м.д.) 1,45 (д, 9Н), 3,39 (м, 1Н), 7,91 (д, 1Н), 7,95 (д, 1Н).

c. Получение трет-бутилового эфира 4-{{(2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-карбоновой кислоты.

К раствору гидрохлорида 2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты (1,11 г, 4,37 ммоль) в безводном N,N-диметилформамиде (5 мл) добавляли 1,1'-карбонилдиимидазол (0,77 г, 4,75 ммоль). Раствор перемешивали при 50°C в течение 2 ч, затем добавляли трет-бутиловый эфир 4-аминаметилпиперидин-1-карбоновой кислоты (0,94 г, 4,39 ммоль) с последующим добавлением 1,4-диазабицикло[2,2,2]октана (1,46 г, 13 ммоль). Раствор перемешивали при 50°C в течение 16 ч, оставляли для охлаждения и разбавляли водой (20 мл) и этилацетатом (60 мл). Водный слой удаляли, органический слой промывали водой (20 мл), сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке промежуточного продукта (1,32 г, 3,18 ммоль, 73%), который использовали без дополнительной очистки, (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{23}H_{34}N_4O_3$: 415,27; найдено: 415,5.

d. Получение (пиперидин-4-илметил)амида бутил 2-трет-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

Трет-бутиловый эфир 4-{{(2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-

карбоновой кислоты (13,5 г, 32,6 ммоль) растворяли в 4 N HCl в диоксане (200 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 0,5 ч. Полученное твердое вещество отфильтровывали с получением бис-гидрохлоридной соли указанного в заголовке промежуточного продукта (11,3 г, 29,3 ммоль, 89%). (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{18}H_{26}N_4O$: 315,22; найдено: 315,3.

^1H ЯМР (300 МГц, $D_2O+MeOD-d_3$): 1,54 (с, 8H), 1,96 (м, 4H), 2,91 (м, 4H), 3,31 (ушир, с, 1H), 3,45 (д, 2H), 7,56 (т, 1H), 7,89-7,92 (м, 2H).

е. Получение трет-бутилового эфира 4-(4-[(2-трет-бутил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты.

К суспензии бис-HCl соли (пиперидин-4-илметил)амида 2-трет-бутил-1H-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты (4,28 г, 11,06 ммоль) в дихлорметане (55 мл) при комнатной температуре последовательно добавляли N,N-диизопропилэтиламин (1,71 г, 2,31 мл), 1-(трет-бутоксикарбонил)пиперидин-4-карбонсальдегид (2,58 г, 12,17 ммоль) и триацетоксиборогидрид натрия (3,28 г, 15,48 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, затем экстрагировали 1M водной хлористо-водородной кислотой. В объединенных водных слоях повышали основность до pH 12 с помощью гранул гидроксида натрия, затем экстрагировали дихлорметаном. Объединенные органические слои сушили над сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали. Полученный остаток сушили в глубоком вакууме с получением легкой коричневатой пены (4,9 г, 9,6 ммоль, 87%), которую использовали без дополнительной очистки, (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{29}H_{45}N_5O_3$: 512,35; найдено: 512,4.

ф. Синтез (1-пиперидин-4-илметилпиперидин-4-илметил)амида 2-трет-бутил-1H-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

Неочищенный трет-бутиловый эфир 4-(4-[(2-трет-бутил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}пиперидин-1-илметил)1-пиперидин-1-карбоновой кислоты, полученный на предыдущей стадии (5,1 г, 10 ммоль), обрабатывали смесью трифторуксусной кислоты (40 мл) и дихлорметана (40 мл) при комнатной температуре в течение 0,5 ч. Смесь выпаривали в вакууме, повторно растворяли в дихлорметане (25 мл) и повышали основность 1M водным гидроксидом натрия (15 мл). Удаляли органический слой и водный слой повторно экстрагировали дихлорметаном. Объединенные органические фазы сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением желаемого продукта в виде коричневой пены (3,6 г, 8,8 ммоль, 88%). (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{24}H_{37}N_5O$: 412,31; найдено: 412,6.

Получение 4. Синтез метилового эфира 4-(4-аминометилпиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты.

а. Получение метилового эфира 4-[4-(трет-бутоксикарбониламинометил)пиперидин-1-илметил]пиперидин-1-карбоновой кислоты.

К раствору 4-трет-бутоксикарбониламинометилпиперидина (3,62 г, 16,9 ммоль) в дихлорметане (100 мл) добавляли метиловый эфир 4-формилпиперидин-1-карбоновой кислоты (2,89 г, 16,9 ммоль) и уксусную кислоту (0,96 мл). Перед добавлением триацетоксиборогидрида натрия (5,4 г, 25,5 ммоль) смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Конечную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакцию завершали добавлением насыщенного раствора бикарбоната натрия (50 мл). Смесь экстрагировали дихлорметаном (100 мл) и органический слой сушили над $MgSO_4$. Выпаривание органического раствора приводило к получению бледно-желтого маслянистого остатка. Его очищали колоночной флэш-хроматографией на силикагеле (CH_2Cl_2 до 5% $MeOH/CH_2Cl_2$) и получали названный промежуточный продукт (4,4 г). (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{19}H_{35}N_3O_4$: 370,27; найдено: 370,5.

б. Синтез метилового эфира 4-(4-аминометилпиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты.

К раствору метилового эфира 4-[4-(трет-бутоксикарбониламинометил)пиперидин-1-илметил]пиперидин-1-карбоновой кислоты (4,4 г, 10,8 ммоль) в дихлорметане (20 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (20 мл). После перемешивания в течение 20 мин при комнатной температуре раствор концентрировали в вакууме, получая бис-трифторуксусную соль указанного в заголовке соединения в виде бледно-желтого масла, которое использовали без дополнительной обработки, (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{14}H_{27}N_3O_2$: 270,22; найдено: 270,5.

^1H -ЯМР (CD_3OD): δ (м.д.) 4,0 (ушир.д, 2H), 3,6 (м, 5H), 2,9-2,7 (м, 6H), 2,1-1,9 (м, 2H), 1,7-1,5 (м, 6H), 1,2-1,0 (м, 4H).

Пример 1. Синтез метилового эфира 4-(4-[(2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты.

К суспензии (1-пиперидин-4-илметилпиперидин-4-илметил)амида 2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты (2,9 г, 7,3 ммоль) в дихлорметане (50 мл) добавляли N,N-диизопропилэтиламин (1,05 мл, 7,3 ммоль). Полученный раствор охлаждали до 0°C и по каплям добавляли метилхлорформиат (576 мкл, 7,3 ммоль). Смесь перемешивали при 0°C в течение 1,5 ч, гасили уксусной кислотой (1 мл) и выпаривали в вакууме с получением бежевого твердого вещества (4,8 г), которое очищали препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой [с градиентом 5-10-25% (5-10% в течение 10 мин; 10-25% в течение

50 мин); скорость потока 15 мл/мин; обнаружение при 280 нм], с получением бис-трифторуксусной соли указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (3,5 г, 5,1 ммоль, 70%). (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{25}H_{37}N_5O_3$: 456,30; найдено: 456,3. Время удерживания (аналитическая ВЭЖХ: 2-50% MeCN/H₂O в течение 6 мин)=3,06 мин.

Пример 2. Синтез фенилового эфира 4-(4-{[(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино)метил} пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты.

К раствору (1-пиперидин-4-илметилпиперидин-4-илметил)амида 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты (0,22 г, 0,55 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (0,19 мл) в дихлорметане (5,0 мл) добавляли фенилхлорформиат (70 мкл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, затем концентрировали в вакууме и очищали препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой с получением бис-трифторуксусной соли указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (98,4 мг, 0,13 ммоль, 24%). (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{30}H_{39}N_5O_3$: 518,32; найдено: 518,6.

¹H ЯМР (300 МГц, MeOD-d₃): δ (м.д.) 1,14-1,28 (м, 2Н), 1,39-1,53 (м, 6Н), 1,52-1,62 (м, 2Н), 1,70-1,78 (м, 2Н), 1,92-2,06 (м, 4Н), 2,82-2,97 (м, 6Н), 3,32-3,38 (м, 2Н), 3,43-3,50 (м, 1Н), 3,52-3,69 (м, 2Н), 4,04-4,12 (м, 1Н), 4,18-4,26 (м, 1Н), 6,91-6,98 (м, 1Н), 7,08-7,13 (м, 1Н), 7,21-7,28 (м, 1Н), 7,45-7,50 (м, 1Н), 7,73-7,77 (м, 1Н), 7,81-7,87 (м, 1Н), 9,02-9,32 (ушир.с, 1Н).

Пример 3. Синтез {1-[1-(2-хлорбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амида 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

К суспензии (1-пиперидин-4-илметилпиперидин-4-илметил)амида 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты (2,1 г, 5,29 ммоль) в тетрагидрофуране (26 мл) при комнатной температуре добавляли N,N-диизопропилэтиламин (2,05 г, 15,87 ммоль), дихлорметан (12 мл) и N,N-диметилформамид (5 мл). К полученной суспензии медленно добавляли о-хлорбензоилхлорид (1,02 г, 5,82 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 0,5 ч при комнатной температуре. Раствор концентрировали в вакууме, полученный остаток разбавляли уксусной кислотой (7,5 мл) и водой (0,5 мл) и продукт очищали препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой. Очищенную соль распределяли между дихлорметаном и 1М водным гидроксидом натрия, удаляли органический слой, повторно экстрагировали водный слой дихлорметаном и объединенные органические слои промывали насыщенным раствором соли, сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке соединения в виде белой пены (1,75 г, 3,26 ммоль, 62%). (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{30}H_{38}ClN_5O_2$: 536,28; найдено: 536,3.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆): 0,90 (ушир.м, 2Н), 1,24 (д, 6Н), 1,45 (ушир.м, 2Н), 1,68 (ушир.м, 8Н), 1,96 (м, 1Н), 2,72 (ушир.м, 5Н), 3,08 (м, 2Н), (3,20, м, 3Н), 4,40 (ушир.м, 1Н), 7,14 (т, 1Н), 7,28 (м, 2Н), 7,39 (м, 1Н), 7,49 (дд, 1Н), 7,66 (дд, 1Н).

Примеры 4-6.

Соединения примеров 4-6 получали, используя способы, аналогично примеру 3, за исключением замены о-хлорбензоилхлорида подходящим хлоридным реагентом.

Пример 4. {1-[1-(2,4-Дифторбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты; (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{30}H_{37}F_2N_5O_2$: 538,30; найдено: 538,2. Время удерживания (аналитическая ВЭЖХ: 2-60% MeCN/H₂O в течение 4 мин)=2,12 мин.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆): 0,92 (м, 2Н), 1,30 (м, 2Н), 1,38 (д, 6Н), 1,53 (м, 2Н), 1,60-1,90 (м, 6Н), 2,07 (д, 2Н), 2,73-2,85 (ушир.м, 3Н), 3,05 (т, 1Н), 3,22 (септет, 1Н), 3,38 (ушир.м, 3Н), 4,44 (ушир.д, 1Н), 7,10-7,50 (м, 4Н), 7,62 (д, 1Н), 7,77 (д, 1Н), 10,10 (ушир.с, 1Н).

Пример 5. {1-[1-(Фуран-2-карбонил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты; (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{28}H_{37}N_5O_3$: 492,30; найдено: 492,2. Время удерживания (аналитическая ВЭЖХ: 2-65% MeCN/H₂O в течение 4 мин)=1,68 мин.

Пример 6. {1-[1-(Тиофен-2-карбонил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты; (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{28}H_{37}N_5O_2S$: 508,28; найдено: 508,2. Время удерживания (аналитическая ВЭЖХ: 2-65% MeCN/H₂O в течение 4 мин)=1,94 мин.

Пример 7. Синтез {1-[1-(2-фтор-5-трифторметилбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амида 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

К раствору 2-фтор-5-трифторметил бензойной кислоты (100 мг, 0,48 ммоль) в диметилформамиде (4 мл) при комнатной температуре добавляли гексафторфосфат О-(7-азабензотриазол-1-ил)-N,N,N',N'-тетраметилурония (200 мг, 0,48 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 0,25 ч, затем добавляли (1-пиперидин-4-илметилпиперидин-4-илметил)амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты (210 мг, 0,48 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламин (0,184 мл, 0,96 ммоль) и продолжали перемешивание в течение дополнительных 0,5 ч. Раствор концентрировали в вакууме и неочищенный продукт очищали ВЭЖХ с обращенной фазой [градиент 5-10-25% (5-10% в течение 10 мин; 10-25% в течение 50 мин); скорость потока 15 мл/мин; обнаружение при 280 нм] с получением бис-трифторуксусной соли указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (70 мг, 0,09 ммоль, 18%). (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{31}H_{37}F_4N_5O_2$: 588,30; найдено: 588,2. Время удерживания (аналитическая ВЭЖХ: от 2 до 60% MeCN/H₂O в течение 4 мин)=2,39 мин.

Пример 8. Синтез {1-[1-(2-фторфенилкарбамоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амида 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

В N,N-диметилформамиде (2,0 мл) при комнатной температуре растворяли (1-пиперидин-4-илметилпиперидин-4-илметил)амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты (220 мг, 0,55 ммоль). К полученному раствору добавляли N,N-диизопропилэтиламин (143,2 мг, 1,1 ммоль) с последующим добавлением о-фторфенилизоцианата (75,4 мг, 0,55 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, концентрировали в вакууме и остаток очищали препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой с получением бис-трифторуксусной соли указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (92,6 мг, 0,12 ммоль, 22%). (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{30}H_{39}FN_6O_2$: 535,32; найдено: 535,2. Время удерживания (аналитическая ВЭЖХ: 2-65% MeCN/H₂O в течение 4 мин)=2,09 мин.

Пример 9. Синтез [1-(1-метансульфонилпиперидин-4-илметил)пиперидин-4-илметил]амида 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

В N,N-диметилформамиде (1,0 мл) при комнатной температуре растворяли (1-пиперидин-4-илметилпиперидин-4-илметил)амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты (40 мг, 0,1 ммоль). К полученному раствору добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,175 мл, 1 ммоль) с последующим добавлением метансульфонилхлорида (11,5 мг, 0,1 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч, затем концентрировали в вакууме и остаток очищали препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой с получением бис-трифторуксусной соли указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (27,2 мг, 0,04 ммоль, 40%). (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{24}H_{37}N_5O_3S$: 476,27; найдено: 476,2. Время удерживания (аналитическая ВЭЖХ: 2-65% MeCN/H₂O в течение 4 мин)=1,66 мин.

Пример 10. Синтез метилового эфира 4-(4-{[2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил]амино}метил)пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты.

К неочищенному продукту из получения 3 (2,4 г, 5,8 ммоль) в дихлорметане (29 мл) при комнатной температуре добавляли N,N-диизопропилэтиламин (1,5 г, 11,6 ммоль). Полученную смесь охлаждали до температуры 0°C и по каплям добавляли метилхлорформиат (660 мг, 6,98 ммоль). Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали в течение дополнительных 10 мин. Раствор концентрировали, повторно растворяли в 50%-й уксусной кислоте в воде, фильтровали и очищали препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой. Полученное твердое вещество растворяли в дихлорметане и промывали 1М водным гидроксидом натрия. Водный слой экстрагировали дважды дихлорметаном, объединенные органические слои промывали насыщенным раствором соли, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали с получением указанного в заголовке соединения в виде белой пены (1,3 г, 2,8 ммоль, 48%). (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{26}H_{39}N_5O_3$: 470,32, найдено: 470,6.

¹H ЯМР (300 МГц, MeOD-d₃): δ (м.д.) 1,02-1,16 (м, 2H), 1,49 (с, 9H), 1,47-1,7 (м, 4H), 1,82-2,03 (м, 4H), 2,74-2,94 (м, 6H), 3,31-3,40 (м, 2H), 3,54-3,58 (м, 2H), 3,56 (с, 3H), 3,98-4,03 (м, 2H), 7,41-7,46 (м, 1H), 7,71-7,74 (м, 1H), 7,79-7,82 (м, 1H), 9,35 (ушир.с, 1H).

Примеры 11-13.

Используя способы, аналогично примеру 10, за исключением замены метилхлорформиата подходящим хлоридным реагентом, получали соединения примеров 11-13.

Пример 11. {1-[1-(2-Фторбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты; (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{31}H_{40}FN_5O_2$: 534,33; найдено 534,4. Время удерживания (аналитическая ВЭЖХ: 2-65% MeCN/H₂O в течение 4 мин)=2,09 мин.

Пример 12. (1-[1-(3-Метилбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты; (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{32}H_{43}N_5O_2$: 530,35; найдено: 530,42. Время удерживания (аналитическая ВЭЖХ: 2-65% MeCN/H₂O в течение 4 мин)=2,22.

Пример 13. {1-[1-(4-Фторбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты; (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{31}H_{40}FN_5O_2$: 534,33; найдено: 534,4. Время удерживания (аналитическая ВЭЖХ: 2-65% MeCN/H₂O в течение 4 мин)=2,17.

Пример 14. Синтез метилового эфира 4-[4-(2-(1-гидрокси-1-метилэтил)-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил)пиперидин-1-илметил]пиперидин-1-карбоновой кислоты.

а. Получение 2-(1-гидрокси-1-метилэтил)-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

К раствору метилового эфира 2,3-диаминобензойной кислоты (1,5 г, 9,2 ммоль) в 4М HCl (50 мл) добавляли 2-гидроксиизомасляную кислоту (2,87 г, 27,6 ммоль). Смесь перемешивали при температуре приблизительно 90°C в течение 24 ч. Нейтрализовали водным раствором гидроксида натрия до pH приблизительно 3 и концентрировали досуха. Остаток суспендировали в метаноле и фильтровали через фильтровальную бумагу. Фильтрат концентрировали и остаток промывали эфиром. Оставшийся твердый остаток растворяли в этилацетате и промывали насыщенным раствором соли. После сушки над MgSO₄ органический раствор концентрировали в вакууме с выходом указанного в заголовке промежуточного продукта в виде бледно-желтого масла (приблизительно 800 мг). Неочищенный продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки, (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{11}H_{12}N_2O_3$: 221,09; найдено: 221,1.

¹H-ЯМР (CD₃OD): δ (м.д.) 7,8 (дд, 1H), 7,7 (дд, 1H), 7,2 (м, 1H), 1,3 (с, 6H).

б. Синтез метилового эфира 4-[4-(2-(1-гидрокси-1-метилэтил)-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино]

но}метил)пиперидин-1-илметил]пиперидин-1-карбоновой кислоты.

К раствору продукта бензоимидазолкарбоновой кислоты предыдущей стадии (0,7 г, 3,18 ммоль), аминокетилпиперидинового продукта из получения 4 в виде бис-ТФУК соли (1,2 г, 3,13 ммоль) и гидроксибензотриазола (HOBT) (0,43 г, 3,18 ммоль) в диметилформамиде (50 мл) добавляли триэтиламин (1,3 мл, 9,3 ммоль) и гидрохлорид N-этил-N'-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC) (0,67 г, 3,5 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч и концентрировали досуха в вакууме. Остаток распределяли между дихлорметаном (150 мл) и насыщенным бикарбонатом натрия. Органический слой сушили над $MgSO_4$ и выпаривали досуха, получая на выходе бледно-желтый маслянистый остаток. Его очищали препаративной ВЭЖХ с получением бис-трифторуксусной соли указанного в заголовке соединения, (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{25}H_{37}N_5O_4$: 472,29; найдено: 472,5. Время удерживания (аналитическая ВЭЖХ: 5-30% MeCN/ H_2O в течение 6 мин)=3,67 мин.

^1H -ЯМР (CD_3OD): δ (м.д.) 7,9-7,8 (м, 2H), 7,6-7,5 (т, 1H), 4,0 (ушир.д, 2H), 3,6 (с, 5H), 2,9-2,75 (ушир.м, 5H), 2,05-1,9 (ушир.д, 3H), 1,68 (м, 6H), 1,15 (м, 4H).

Пример 15. Синтез метилового эфира 4-[4-({2-(2-гидрокси-1-метилэтил)-1H-бензоимидазол-4-карбонил}амино}метил)пиперидин-1-илметил]пиперидин-1-карбоновой кислоты.

а. Получение 2-(2-гидрокси-1-метилэтил)-1H-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

К раствору метилового эфира 2,3-диаминобензойной кислоты (2,1 г, 14,1 ммоль) в 4M HCl (90 мл) добавляли метиловый эфир 2-метил-3-гидроксипропионовой кислоты (5 г, 42,3 ммоль). Смесь перемешивали при температуре приблизительно 90°C в течение 24 ч. Нейтрализовали водным раствором гидроксида натрия до pH приблизительно 3 и концентрировали досуха. Остаток суспендировали в метаноле и фильтровали через фильтровальную бумагу. После концентрирования фильтрата оставшийся твердый остаток растворяли в воде и промывали этилацетатом. Водный раствор концентрировали в вакууме с получением указанного в заголовке промежуточного продукта в виде бледно-желтого масла (приблизительно 800 мг). Неочищенный продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки, (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{11}H_{12}N_2O_3$: 221,09; найдено: 221,3.

^1H -ЯМР (CD_3OD): δ (м.д.) 8,1 (д, 1H), 7,9 (м, 1H), 7,6 (т, 1H), 3,8 (м, 2H), 3,6 (м, 1H), 1,4 (д, 3H).

б. Синтез метилового эфира 4-[4-({2-(2-гидрокси-1-метилэтил)-1H-бензоимидазол-4-карбонил}амино}метил)пиперидин-1-илметил]пиперидин-1-карбоновой кислоты.

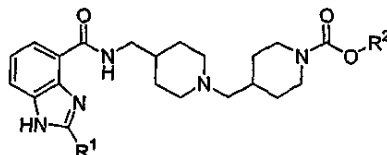
К раствору продукта бензоимидазолкарбоновой кислоты предыдущей стадии (0,45 г, 1,75 ммоль), аминокетилпиперидинового продукта из получения 4 в виде бис-трифторуксусной соли (0,8 г, 1,6 ммоль) и HOBT (0,237 г, 1,75 ммоль) в диметилформамиде (50 мл) добавляли триэтиламин (0,98 мл, 7,0 ммоль) и EDC (0,353 г, 1,84 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч и концентрировали досуха при пониженном давлении. Остаток распределяли между дихлорметаном (150 мл) и насыщенным бикарбонатом натрия. Органический слой сушили над $MgSO_4$ и выпаривали досуха, получая на выходе бледно-желтый маслянистый остаток. Его очищали препаративной ВЭЖХ, получая бис-трифторуксусную соль указанного в заголовке соединения (0,2 г). (m/z): $[M+H]^+$ вычислено для $C_{25}H_{37}N_5O_4$: 472,29; найдено: 472,5. Время удерживания (аналитическая ВЭЖХ: 10-40% MeCN/ H_2O в течение 6 мин)=3,31 мин.

^1H -ЯМР (CD_3OD): δ (м.д.) 7,9-7,8 (м, 2H), 7,6-7,5 (м, 1H), 4,0 (ушир.д, 2H), 3,85-3,7 (м, 2H), 3,6 (ушир.с, 6H), 3,3 (ушир., 2H), 2,9-2,6 (ушир.м, 6H), 2,0-1,8 (ушир., 4H), 1,7-1,5 (м, 6H), 1,4 (м, 3H), 1,1-1,0 (м, 4H).

Дополнительные соединения настоящего изобретения

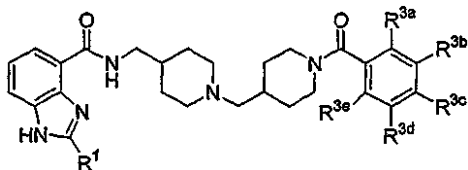
Используя методики примеров 1-13 и их варианты, получали соединения, указанные в табл. I-IX, и характеризовали параметрами масс-спектрометрии. Незаполненные ячейки в приведенных ниже таблицах означают водород.

Таблица I



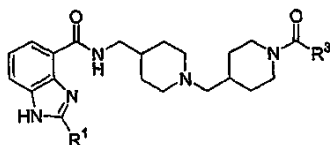
№ примера	R ¹	R ²	Молекулярная формула	$[M+H]^+$ вычислено	$[M+H]^+$ найдено
16	iPr	-CH ₂ -фенил	C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₃	532, 32	532, 2
17	iPr	iPr	C ₂₇ H ₄₁ N ₅ O ₃	484, 32	484, 2
18	tBu	фенил	C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₃	532, 32	532, 2
19	tBu	-CH ₂ -фенил	C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546, 34	546, 4
20	tBu	iPr	C ₂₈ H ₄₃ N ₅ O ₃	498, 34	498, 4

Таблица II



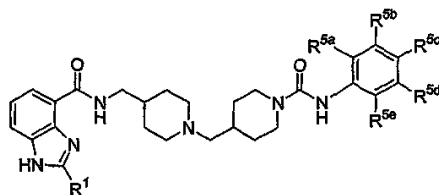
№ примера	R ¹	R ^{3a}	R ^{3b}	R ^{3c}	R ^{3d}	R ^{3e}	Молекуляр ная формула	[M+H] ⁺ вычисл ено	[M+H] ⁺ найде но
21	tBu	Cl					C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550, 29	550, 6
22	iPr						C ₃₀ H ₃₉ N ₅ O ₂	502, 31	502, 4
23	iPr	F					C ₃₀ H ₃₈ FN ₅ O ₂	520, 30	520, 2
24	iPr	CH ₃					C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516, 33	516, 4
25	iPr	CF ₃					C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₂	570, 30	570, 2
26	iPr		F				C ₃₀ H ₃₈ FN ₅ O ₂	520, 30	520, 2
27	iPr		CH ₃				C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516, 33	516, 4
28	iPr		CF ₃				C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₂	570, 30	570, 2
29	iPr		Cl				C ₃₀ H ₃₈ ClN ₅ O ₂	536, 27	536, 2
30	iPr			CF ₃			C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₂	570, 30	570, 2
31	iPr			CH ₃			C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516, 33	516, 4
32	iPr			Cl			C ₃₀ H ₃₈ ClN ₅ O ₂	536, 27	536, 2
33	iPr			OCH ₃			C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₃	532, 32	532, 2
34	iPr			F			C ₃₀ H ₃₈ FN ₅ O ₂	520, 30	520, 2
35	iPr	F				F	C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538, 29	538, 2
36	iPr	F			F		C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538, 29	538, 2
37	iPr		F	F			C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538, 29	538, 2
38	iPr	F	F				C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538, 29	538, 2
39	iPr		F		F		C ₃₀ H ₃₇ F ₂ N ₅ O ₂	538, 29	538, 2
40	iPr	F		Cl			C ₃₀ H ₃₇ ClFN ₅ O ₂	554, 26	554, 4
41	iPr		CF ₃		CF ₃		C ₃₂ H ₃₇ F ₆ N ₅ O ₂	638, 29	638, 2
42	iPr	Cl		F			C ₃₀ H ₃₇ ClFN ₅ O ₂	554, 26	554, 2
43	iPr		Cl		Cl		C ₃₀ H ₃₇ Cl ₂ N ₅ O ₂	570, 23	570, 2
44	iPr			OCF ₃			C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃	586, 29	586, 2
45	iPr		CF ₃	F			C ₃₁ H ₃₇ F ₄ N ₅ O ₂	588, 29	588, 2
46	iPr		Cl	F			C ₃₀ H ₃₇ ClFN ₅ O ₂	554, 26	554, 2
47	iPr	OCH ₃		Cl			C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₃	566, 28	566, 2
48	iPr	CN					C ₃₁ H ₃₈ N ₅ O ₂	527, 31	527, 2
49	iPr	Cl		Cl			C ₃₀ H ₃₇ Cl ₂ N ₅ O ₂	570, 23	570, 2
50	iPr		F	CF ₃			C ₃₁ H ₃₇ F ₄ N ₅ O ₂	588, 29	588, 2
51	iPr			CN			C ₃₁ H ₃₈ N ₅ O ₂	527, 31	527, 2
52	iPr			OCHF ₂			C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₃	568, 30	568, 8
53	tBu	Cl		F			C ₃₁ H ₃₉ ClFN ₅ O ₂	568, 28	568, 2
54	tBu		Cl		Cl		C ₃₁ H ₃₉ Cl ₂ N ₅ O ₂	584, 25	584, 2
55	tBu		CN				C ₃₂ H ₄₀ N ₅ O ₂	541, 32	541, 4
56	tBu			OCF ₃			C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃	600, 31	600, 2
57	tBu		CF ₃	F			C ₃₂ H ₃₉ F ₄ N ₅ O ₂	602, 30	602, 2
58	tBu		Cl	F			C ₃₁ H ₃₉ ClFN ₅ O ₂	568, 28	568, 2
59	tBu	OCH ₃		Cl			C ₃₂ H ₄₂ ClN ₅ O ₃	580, 30	580, 2
60	tBu	CN					C ₃₂ H ₄₀ N ₅ O ₂	541, 32	541, 4
61	tBu	Cl		Cl			C ₃₁ H ₃₉ Cl ₂ N ₅ O ₂	584, 25	584, 2
62	tBu		F	CF ₃			C ₃₂ H ₃₉ F ₄ N ₅ O ₂	602, 30	602, 2
63	tBu	F			CF ₃		C ₃₂ H ₃₉ F ₄ N ₅ O ₂	602, 30	602, 4
64	tBu			CN			C ₃₂ H ₄₀ N ₅ O ₂	541, 32	541, 2
65	tBu			OCHF ₂			C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₃	582, 32	582, 4
66	tBu						C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516, 33	516, 2
67	tBu	CH ₃					C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₂	530, 34	530, 4
68	tBu	CF ₃					C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₂	584, 31	584, 4
69	tBu		F				C ₃₁ H ₄₀ FN ₅ O ₂	534, 32	534, 2
70	tBu		CF ₃				C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₂	584, 31	584, 4
71	tBu		Cl				C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550, 29	550, 2
72	tBu			CF ₃			C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₂	584, 31	584, 4
73	tBu			CH ₃			C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₂	530, 34	530, 4
74	tBu			Cl			C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550, 29	550, 2
75	tBu			OCH ₃			C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546, 34	546, 4
76	tBu	F				F	C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552, 31	552, 4
77	tBu	F			F		C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552, 31	552, 2
78	tBu		F	F			C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552, 31	552, 2
79	tBu	F	F				C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552, 31	552, 4
80	tBu		F		F		C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552, 31	552, 4
81	tBu	F		F			C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552, 31	552, 2
82	tBu	F			Cl		C ₃₁ H ₃₉ ClFN ₅ O ₂	568, 28	568, 2
83	tBu		CF ₃		CF ₃		C ₃₃ H ₃₉ F ₆ N ₅ O ₂	652, 30	652, 2
84	iPr	OCF ₃					C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃	586, 29	586, 2
85	iPr		OCF ₃				C ₃₁ H ₃₈ F ₃ N ₅ O ₃	586, 29	586, 2
86	tBu	OCF ₃					C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃	600, 31	600, 2
87	tBu		OCF ₃				C ₃₂ H ₄₀ F ₃ N ₅ O ₃	600, 31	600, 2

Таблица III



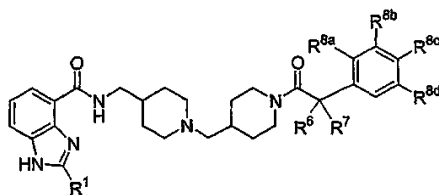
№ приме ра	R ¹	R ³	Молекулярная формула	[M+H] ⁺ вычисле но	[M+H] ⁺ найде но
88	iPr	N(CH ₃) ₂	C ₂₆ H ₄₀ N ₆ O ₂	469,32	469,4
89	iPr	морфолин-1-ил	C ₂₆ H ₄₂ N ₆ O ₃	511,33	511,4
90	iPr	CH ₃	C ₂₅ H ₃₇ N ₅ O ₂	440,30	440,2
91	iPr	тетрагидрофуран -2-ил	C ₂₈ H ₄₁ N ₅ O ₃	496,32	496,4
92	iPr	-CH ₂ -тиофен-3- ил	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₂ S	522,28	522,2
93	iPr	2,2- диметилпропил	C ₂₉ H ₄₅ N ₅ O ₂	496,36	496,4
94	iPr	-CH ₂ -тиофен-2- ил	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₂ S	522,28	522,2
95	iPr	циклогексил	C ₃₀ H ₄₅ N ₅ O ₂	508,36	508,4
96	iPr	(S)-1- метилпропил	C ₂₈ H ₄₃ N ₅ O ₂	482,34	482,4
97	iPr	-CH ₂ -нафт-1-ил	C ₃₅ H ₄₃ N ₅ O ₂	566,34	566,4
98	iPr	циклопентил	C ₃₀ H ₄₅ N ₅ O ₂	508,36	508,4
99	iPr	(R)- тетрагидрофуран -2-ил	C ₂₈ H ₄₁ N ₅ O ₃	496,32	496,4
100	tBu	фуран-2-ил	C ₂₉ H ₃₉ N ₅ O ₃	506,31	506,2
101	tBu	-CH ₂ -тиофен-3- ил	C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₂ S	536,30	536,2
102	tBu	2,2- диметилпропил	C ₃₀ H ₄₇ N ₅ O ₂	510,37	510,4
103	tBu	-CH ₂ -тиофен-2- ил	C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₂ S	536,30	536,2
104	tBu	(S)-1- метилпропил	C ₂₉ H ₄₅ N ₅ O ₂	496,36	496,4
105	tBu	-CH ₂ -нафт-1-ил	C ₃₆ H ₄₅ N ₅ O ₂	580,36	580,4
106	tBu	(R)- тетрагидрофуран -2-ил	C ₂₉ H ₄₃ N ₅ O ₃	510,34	510,4
107	tBu	(S)-4-оксо- азетидин-2-ил	C ₂₈ H ₄₀ N ₆ O ₃	509,32	510,4
108	tBu	пиридин-2-ил	C ₃₁ H ₄₂ N ₆ O ₂	531,34	531,2

Таблица IV



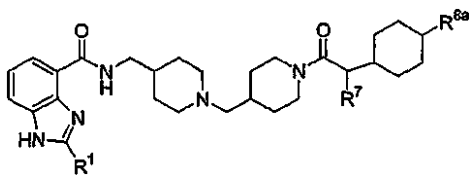
№ прим ера	R¹	R⁵ᵃ	R⁵ᵇ	R⁵ᶜ	R⁵ᵈ	R⁵ᵉ	Молекуляр ная формула	[M+H] ⁺ вычисле но	[M+H] ⁺ найд е
109	iPr	CH₃					C ₃₁ H ₄₂ N ₆ O ₂	531,34	531,4
110	iPr		F				C ₃₀ H ₃₉ FN ₆ O ₂	535,31	535,2
111	iPr	CF₃					C ₃₁ H ₃₉ F ₃ N ₆ O ₂	585,31	585,2
112	iPr	OCF₃					C ₃₁ H ₃₉ F ₃ N ₆ O ₃	601,30	601,2
113	iPr			OCHF₂			C ₃₁ H ₄₀ F ₂ N ₆ O ₃	583,31	583,2
114	iPr						C ₃₀ H ₄₀ N ₆ O ₂	517,32	517,4
115	iPr	CH₃				CH₃	C ₃₂ H ₄₄ N ₆ O ₂	545,35	545,4
116	iPr			OCF₃			C ₃₁ H ₃₉ F ₃ N ₆ O ₃	601,30	601,2
117	iPr	tBu					C ₃₄ H ₄₈ N ₆ O ₂	573,38	573,4
118	iPr	Cl					C ₃₀ H ₃₉ ClN ₆ O ₂	551,28	551,2
119	tBu	Cl					C ₃₁ H ₄₁ ClN ₆ O ₂	565,30	565,2
120	tBu	CH₃					C ₃₂ H ₄₄ N ₆ O ₂	545,35	545,5
121	tBu	F					C ₃₁ H ₄₁ FN ₆ O ₂	549,33	549,2
122	tBu	CF₃					C ₃₂ H ₄₁ F ₃ N ₆ O ₂	599,32	599,2
123	tBu	OCF₃					C ₃₂ H ₄₁ F ₃ N ₆ O ₃	615,32	615,2
124	tBu			OCHF₂			C ₃₂ H ₄₂ F ₂ N ₆ O ₃	597,33	597,4
125	tBu	F					C ₃₁ H ₄₁ FN ₆ O ₂	549,33	549,2
126	tBu						C ₃₁ H ₄₂ N ₆ O ₂	531,34	531,4
127	tBu	CH₃				CH₃	C ₃₃ H ₄₆ N ₆ O ₂	559,37	559,4
128	tBu			OCF₃			C ₃₂ H ₄₁ F ₃ N ₆ O ₃	615,32	615,2
129	tBu	tBu					C ₃₅ H ₅₀ N ₆ O ₂	587,40	587,4

Таблица V



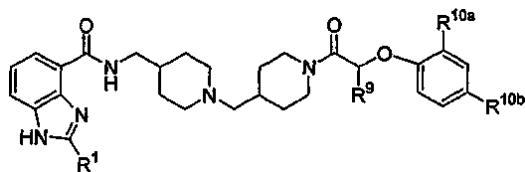
№ прим ера	R¹	R⁶	R⁷	R⁶ᵃ	R⁶ᵇ	R⁶ᶜ	R⁶ᵈ	Молекулярная формула	[M+H] ⁺ вычисле но	[M+H] ⁺ найд е
130	iPr		(S) -OH					C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₃	532,32	532,2
131	iPr		OKCO					C ₃₁ H ₃₉ N ₅ O ₃	530,31	530,2
132	iPr					Cl		C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550,29	550,2
133	iPr		(S) -CH₃					C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₂	530,34	530,4
134	iPr		-(CH₂)₂-					C ₃₃ H ₄₃ N ₅ O ₂	542,34	542,4
135	iPr			F		F		C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,2
136	iPr				F			C ₃₁ H ₄₀ FN ₅ O ₂	534,32	534,2
137	iPr			Cl				C ₃₁ H ₄₀ ClN ₅ O ₂	550,29	551,2
138	iPr			F		F		C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	552,2
139	iPr				F		F	C ₃₁ H ₃₉ F ₂ N ₅ O ₂	552,31	553,2
140	iPr							C ₃₁ H ₄₁ N ₅ O ₂	516,33	516,4
141	tBu		(S) -OH					C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546,34	546,4
142	tBu					F		C ₃₂ H ₄₂ FN ₅ O ₂	548,33	548,2
143	tBu		OKCO					C ₃₂ H ₄₁ N ₅ O ₃	544,32	544,4
144	tBu					Cl		C ₃₂ H ₄₂ ClN ₅ O ₂	564,30	565,2
145	tBu		CH₃			2- метилпропил		C ₃₇ H ₅₃ N ₅ O ₂	600,42	600,4
146	tBu		(S) -CH₃					C ₃₃ H ₄₅ N ₅ O ₂	544,36	544,4
147	tBu		-(CH₂)₂-					C ₃₄ H ₄₅ N ₅ O ₂	556,36	556,4
148	tBu			Cl		Cl		C ₃₂ H ₄₁ Cl ₂ N ₅ O ₂	598,26	599,2
149	tBu			F		F		C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₂	566,32	566,2
150	tBu				F			C ₃₂ H ₄₂ FN ₅ O ₂	548,33	548,4
151	tBu					CF₃		C ₃₃ H ₄₂ F ₃ N ₅ O ₂	598,33	598,4
152	tBu				CF₃			C ₃₃ H ₄₂ F ₃ N ₅ O ₂	598,33	598,2
153	tBu			Cl				C ₃₂ H ₄₂ ClN ₅ O ₂	564,30	564,2
154	tBu			F		F		C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₂	566,32	566,2
155	tBu			F			F	C ₃₂ H ₄₁ F ₂ N ₅ O ₂	566,32	566,4
156	tBu							C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₂	530,34	530,4

Таблица VI



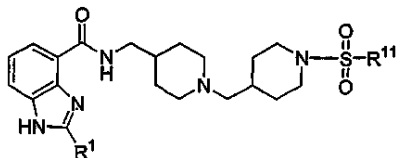
№ примера	R ¹	R ⁷	R ^{6a}	Молекулярная формула	[M+H] ⁺ вычислено	[M+H] ⁺ найдено
157	iPr	(R) - OH		C ₃₁ H ₄₇ N ₅ O ₃	538,37	538,4
158	iPr			C ₃₁ H ₄₇ N ₅ O ₂	522,37	522,4
159	tBu	(R) - OH		C ₃₂ H ₄₉ N ₅ O ₃	552,38	552,4
160	tBu			C ₃₂ H ₄₉ N ₅ O ₂	536,39	536,4

Таблица VII



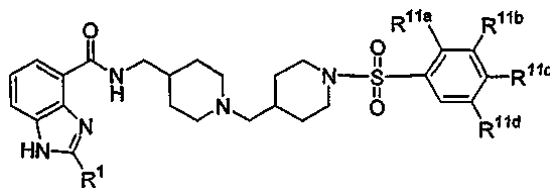
№ примера	R ¹	R ⁹	R ^{10a}	R ^{10b}	Молекулярная формула	[M+H] ⁺ вычислено	[M+H] ⁺ найдено
161	iPr			CH ₃	C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546,34	546,4
162	iPr		Cl	Cl	C ₃₁ H ₃₉ Cl ₂ N ₅ O ₃	600,24	601,2
163	iPr	CH ₃		Cl	C ₃₂ H ₄₂ ClN ₅ O ₃	580,30	581,2
164	iPr	CH ₃			C ₃₂ H ₄₃ N ₅ O ₃	546,34	546,4
165	tBu			CH ₃	C ₃₃ H ₄₅ N ₅ O ₃	560,35	560,4
166	tBu		Cl	Cl	C ₃₂ H ₄₁ Cl ₂ N ₅ O ₃	614,26	615,2
167	tBu	CH ₃		Cl	C ₃₃ H ₄₄ ClN ₅ O ₃	594,31	595,2
168	tBu	CH ₃			C ₃₃ H ₄₅ N ₅ O ₃	560,35	560,4

Таблица VIII



№ примера	R ¹	R ¹¹	Молекулярная формула	[M+H] ⁺ вычисле но	[M+H] ⁺ найдено
169	iPr	CH ₃	C ₂₄ H ₃₇ N ₅ O ₃ S	476,26	476,2
170	iPr	2,4- диметилизоксазол- 2ил	C ₂₈ H ₄₀ N ₆ O ₄ S	557,28	557,2
171	iPr	-CH ₂ -фенил	C ₃₀ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	552,29	552,2
172	tBu	2,4- диметилизоксазол- 2ил	C ₂₉ H ₄₂ N ₆ O ₄ S	571,30	571,2
173	tBu	-CH ₂ -фенил	C ₃₁ H ₄₃ N ₅ O ₃ S	566,31	566,2

Таблица IX



№ примера	R¹	R¹¹ᵃ	R¹¹ᵇ	R¹¹ᶜ	R¹¹ᵈ	Молекулярная формула	[M+H]⁺ вычислено	[M+H]⁺ найдено
174	iPr	CF₃				C₃₀H₃₈F₃N₅O₃S	606,27	606,2
175	iPr	CN				C₃₀H₃₈N₆O₃S	563,27	563,2
176	iPr			OCH₃		C₃₀H₄₁N₅O₄S	568,29	568,2
177	iPr		Cl			C₂₉H₃₆ClN₅O₃S	572,24	572,2
178	iPr	F				C₂₉H₃₈FN₅O₃S	556,27	556,2
179	iPr			CF₃		C₃₀H₃₈F₃N₅O₃S	606,27	606,2
180	iPr			iPr		C₃₂H₄₅N₅O₃S	580,32	580,4
181	iPr	Cl				C₂₉H₃₆ClN₅O₃S	572,24	572,2
182	iPr	CH₃			F	C₃₀H₄₀FN₅O₃S	570,28	570,2
183	iPr	Cl		F		C₂₉H₃₇ClFN₅O₃S	590,23	590,2
184	iPr	CH₃	Cl			C₃₀H₄₀ClN₅O₃S	586,25	586,2
185	iPr			tBu		C₃₃H₄₇N₅O₃S	594,34	594,4
186	iPr	OCH₃			Cl	C₃₀H₄₀ClN₅O₄S	602,25	602,2
187	iPr			Cl		C₂₉H₃₆ClN₅O₃S	572,24	572,2
188	iPr					C₂₉H₃₉N₅O₃S	538,28	538,2
189	iPr			F		C₂₉H₃₈FN₅O₃S	556,27	556,2
190	iPr		CH₃			C₃₀H₄₁N₅O₃S	552,29	552,2
191	iPr			CH₃		C₃₀H₄₁N₅O₃S	552,29	552,2
192	iPr		CF₃			C₃₀H₃₈F₃N₅O₃S	606,27	606,2
193	iPr	CH₃				C₃₀H₄₁N₅O₃S	552,29	552,2
194	tBu	CN				C₃₁H₄₀N₆O₃S	577,29	577,2
195	tBu			CF₃		C₃₁H₄₀F₃N₅O₃S	620,28	620,2
196	tBu			iPr		C₃₃H₄₇N₅O₃S	594,34	594,4
197	tBu	Cl				C₃₀H₄₀ClN₅O₃S	586,25	586,2
198	tBu	CH₃			F	C₃₁H₄₂FN₅O₃S	584,30	584,2
199	tBu	Cl		F		C₃₀H₃₉ClFN₅O₃S	604,24	604,2
200	tBu	CH₃	Cl			C₃₁H₄₂ClN₅O₃S	600,27	600,2
201	tBu			tBu		C₃₄H₄₉N₅O₃S	608,36	608,4
202	tBu	OCH₃			Cl	C₃₁H₄₂ClN₅O₄S	616,26	616,2
203	tBu		CH₃			C₃₁H₄₃N₅O₃S	566,31	566,4
204	tBu			CH₃		C₃₁H₄₃N₅O₃S	566,31	566,2
205	tBu		CF₃			C₃₁H₄₀F₃N₅O₃S	620,28	620,2
206	tBu	CH₃				C₃₁H₄₃N₅O₃S	566,31	566,2
207	tBu	CF₃				C₃₁H₄₀F₃N₅O₃S	620,28	620,2
208	tBu			OCH₃		C₃₁H₄₃N₅O₄S	582,30	582,2
209	tBu		Cl			C₃₀H₄₀ClN₅O₃S	586,25	586,2
210	tBu	F				C₃₀H₄₀FN₅O₃S	570,28	570,2
211	tBu			Cl		C₃₀H₄₀ClN₅O₃S	586,25	586,2
212	tBu					C₃₀H₄₁N₅O₃S	552,29	552,2
213	tBu			F		C₃₀H₄₀FN₅O₃S	570,28	570,2

Пример 214. Альтернативный синтез метилового эфира 4-(4-{[(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты.

а. Получение метилового эфира 4-гидроксиэтилпиперидин-1-карбоновой кислоты.

4-Гидроксиметилпиперидин (1,0 г, 8,6 ммоль) растворяли в воде (15 мл) и охлаждали до 0°C. К последующим добавляли по каплям раствор калия карбоната (4,8 г, 34,7 ммоль) в воде (10 мл) с последующим добавлением метилхлорформата (2,68 мл, 34,7 ммоль). Смесь энергично перемешивали и оставляли нагреваться до комнатной температуры в течение 2 ч. После перемешивания в течение ночи (16 ч) реакционную смесь подкисляли 6М водной хлористо-водородной кислотой и экстрагировали дихлорметаном (3×60 мл). Экстракты объединяли, сушили над сульфатом натрия и фильтровали. Фильтрат выпаривали с получением указанного в заголовке промежуточного продукта (1,4 г, 8,1 ммоль, 93%) в виде бесцветного масла. (m/z): C₈H₁₅NO₃, вычислено: 173,11; найдено: 156,2 [M-H₂O+H]⁺.

¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆): δ (м.д.) 0,98 (м, 2H), 1,52 (м, 1H), 1,63 (ушир.д, 2H), 2,72 (ушир.м, 2H), 3,23 (д, 2H), 3,56 (с, 3H), 3,95 (ушир.д, 2H), 4,48 (ушир.с, 1H).

б. Получение метилового эфира 4-формилпиперидин-1-карбоновой кислоты.

К раствору оксалилхлорида (4,1 мл, 8,2 ммоль) в дихлорметане (4 мл) при температуре -78°C добавляли по каплям раствор диметилсульфоксида (1,2 мл, 16,4 ммоль) в дихлорметане (4 мл). После перемешивания в течение 5 мин добавляли раствор метилового эфира 4-гидроксиметилпиперидин-1-карбоновой кислоты (1,3 г, 7,5 ммоль) в дихлорметане (5 мл). Полученный раствор перемешивали в течение дополнительных 5 мин, затем добавляли триэтиламин (5,2 мл, 37,3 ммоль) и смесь оставляли нагреваться до -10°C. После перемешивания в течение 1 ч добавляли дихлорметан (100 мл) и органический

слой промывали 1М водной метафосфорной кислотой, 1М водным гидроксидом натрия и насыщенным раствором соли. Раствор сушили над сульфатом натрия, затем выпаривали с получением указанного в заголовке промежуточного продукта в виде масла пшеничного цвета (1,0 г, 5,8 ммоль, 78%).

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆): δ (м.д.) 1,36 (м, 2H), 1,83 (м, 2H), 2,48 (ушир.м, 1H), 2,93 (ушир.т, 2H), 3,56 (с, 3H), 3,80 (ушир.д, 2H), 9,56 (с, 1H).

с. Синтез метилового эфира 4-(4-{{(2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты.

(Пиперидин-4-илметил)амид 2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты (бис-соль ТФУ; 1,1 г, 2,0 ммоль) суспендировали в дихлорметане (20 мл) и добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,72 мл, 4,0 ммоль). Когда суспензия становилась прозрачным раствором, добавляли уксусную кислоту (0,13 мл, 2,0 ммоль) с последующим добавлением раствора метилового эфира 4-формилпиперидин-1-карбоновой кислоты (0,54 г, 3,1 ммоль) в дихлорметане (20 мл). После перемешивания в течение 5 мин при комнатной температуре добавляли триацетоксисборогидрид натрия (0,628 г, 3,1 ммоль) и реакционную смесь перемешивали дополнительно в течение 1 ч. Затем водный слой делали щелочным 1М водным гидроксидом натрия (35 мл) и экстрагировали дихлорметаном (2×20 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным раствором соли, сушили над сульфатом натрия и выпаривали с получением неочищенного продукта в виде коричневого твердого вещества (1,41 г).

Неочищенный продукт очищали препаративной ВЭЖХ (с обращенной фазой) [градиент 5-10-25%: 5% MeCN/вода (0,1% ТФУ) к 10% MeCN, линейно в течение 10 мин; 10% MeCN к 25% MeCN, линейно в течение 50 мин; скорость потока=15 мл/мин; обнаружение при 280 нм] с получением указанного в заголовке соединения в виде бис-трифторуксусной соли, которую затем лиофилизировали. Смесь 1М гидроксида натрия и дихлорметана (1:100 мл) добавляли к лиофилизированной бис-трифторуксусной соли. Органический слой сушили над сульфатом натрия, фильтровали, выпаривали и полученное твердое вещество лиофилизировали с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (0,93 г, 2 ммоль, выход 98%, чистота 97,5%). (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₂₅H₃₇N₅O₃: 456,30; найдено: 456,3.

Время удерживания (аналитическая ВЭЖХ: 2-50% MeCN/H₂O в течение 6 мин)=3,06 мин.

¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆): δ (м.д.) 0,92 (м, 2H), 1,30 (м, 2H), 1,38 (д, 6H), 1,53 (м, 1H), 1,60-1,90 (м, 7H), 2,07 (д, 2H), 2,73 (уш.м, 2H), 2,83 (уш.д, 2H), 3,22 (септ, 1H), 3,33 (т, 2H), 3,56 (с, 3H), 3,93 (ушир.д, 2H), 7,23 (т, 1H), 7,62 (д, 2H), 7,77 (д, 1H), 10,10 (уш.с, 1H).

Пример 215. Синтез кристаллического метилового эфира 4-(4-{{(2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты (форма I).

Метилловый эфир 4-(4-{{(2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты в аморфной твердой форме, приготовленный согласно методике примера 214 (300 мг), растворяли в ацетонитриле (15 мл), смешивали до полного растворения и подвергали воздействию окружающей среды, что приводило к частичному испарению. Было отмечено образование ядер кристаллизации за период времени 2 ч. Химическую композицию кристаллов подтверждали ¹H ЯМР, жидкостной хроматографией/масс-спектрометрией (ЖХ/МС) и рентгеноструктурным анализом. Кристаллическую природу твердого продукта подтверждали порошковой рентгеновской дифракцией, дифференциальной сканирующей калориметрией и рентгеноструктурным анализом.

Пример 216. Синтез кристаллического метилового эфира 4-(4-{{(2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты (форма I).

а. Получение метилового эфира 4-гидроксиметилпиперидин-1-карбоновой кислоты.

Колбу загружали 4-гидроксиметилпиперидином (47,6 г, 1,0 экв.) и водой (300 мл). Полученную смесь охлаждали до температуры 0-10°C. Карбонат калия (85,7 г, 1,5 экв.) растворяли в воде (150 мл) и добавляли метилхлорформат (38,4 мл, 1,1 экв.), поддерживая температуру ниже 10°C. После завершения добавления реакционную смесь нагревали до температуры 20-30°C в течение 1 ч. После завершения реакции к реакционной смеси добавляли дихлорметан (500 мл). Органический слой собирали и промывали 1М раствором метафосфорной кислоты (200 мл), насыщенным раствором бикарбоната натрия (200 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (200 мл). Органический слой сушили над сульфатом натрия (50 г, 1 м/м экв.) и затем перегоняли в вакууме с получением указанного в заголовке промежуточного продукта (67,0 г, выход 90%).

б. Получение метилового эфира 4-формилпиперидин-1-карбоновой кислоты.

Метилловый эфир 4-гидроксиметилпиперидин-1-карбоновой кислоты (34,7 г, 1,0 экв.) растворяли в дихлорметане и охлаждали до температуры 0-10°C. Добавляли раствор бикарбоната натрия (2,35 г, 0,14 экв.) и бромида натрия (2,40 г, 0,10 экв.) в воде (100 мл) в течение 15 мин, поддерживая температуру 0-10°C. Свободный 2,2,6,6-тетраметил-1-пиперидинилоксирадикал (ТЕМПО) (0,32 г, 0,01 экв.) добавляли к смеси с последующим добавлением 10-13% мас./об. раствора гипохлорита натрия (135 мл, 1,1 экв.) в течение 1 ч при энергичном перемешивании, поддерживая температуру 0-10°C. После завершения реакции слои разделяли, органический слой промывали водой (150 мл) и сушили над сульфатом натрия (30 г, 1 м/м экв.). Растворитель удаляли перегонкой с получением указанного в заголовке промежуточного про-

дукта. (31,0 г, выход 90%).

с. Получение (пиперидин-4-илметил)амида 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты.

Трифторуксусную кислоту (56,0 мл, 10 экв.) добавляли в колбу, содержащую при температуре приблизительно 5°C раствор трет-бутилового эфира 4-{{(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-карбоновой кислоты (30,0 г, 1,0 экв.) в дихлорметане (300 мл), поддерживая температуру ниже 10°C. Полученную смесь перемешивали при температуре 20-30°C в течение 2 ч. После завершения реакции добавляли триэтиламин (73,2 мл, 7,0 экв.) и уксусную кислоту (4,3 мл, 1,0 экв.) с получением раствора указанного в заголовке промежуточного продукта с кажущимся рН приблизительно 4, который использовали как таковой на следующей стадии.

d. Синтез метилового эфира 4-(4-{{(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты.

Метилловый эфир 4-формилпиперидин-1-карбоновой кислоты (25,7 г, 2,0 экв.) добавляли к раствору, полученному на предыдущей стадии, поддерживая температуру 20-30°C. После перемешивания в течение 30 мин добавляли триацетоксиборогидрид натрия (24,3 г, 1,5 экв.), поддерживая температуру 20-30°C. Реакционную смесь перемешивали при температуре 20-30°C в течение 30 мин. После завершения реакции добавляли 1М хлористо-водородную кислоту (300 мл) для гашения реакции. Продукт, содержащий водный слой, собирали и промывали дихлорметаном (150 мл). Водный слой обрабатывали активированным углем (Dagco G60, 6 г, 20% м/м) для обесцвечивания. Суспензию перемешивали в течение 1 ч и затем фильтровали через слой целита. К водному раствору добавляли дихлорметан (300 мл) и продукт свободно подщелачивали 4н. гидроксидом натрия, доводя рН водного слоя до 12-13. Органический слой собирали и промывали водой (300 мл). Органический слой перегоняли при 80°C и растворитель заменяли ацетонитрилом (2×300 мл), удаляли дихлорметан и остаточный триэтиламин. Твердое вещество суспендировали в ацетонитриле (600 мл) и нагревали смесь до растворения твердого вещества (примерно до 75°C). Раствор охлаждали до образования центров кристаллизации (примерно 55-65°C) и оставляли на 1 ч. Суспензию охлаждали до 20°C в течение 2 ч и затем до температуры 0-5°C в течение 30 мин с последующим перемешиванием при температуре 0-5°C в течение 30 мин. Твердое вещество отфильтровывали и промывали холодным ацетонитрилом (60 мл). Влажный осадок на фильтре сушили в вакууме при 60°C в течение 6 ч с получением указанного в заголовке соединения (28,3 г, выход 85%).

Пример 217. Синтез кристаллического метилового эфира 4-(4-{{(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты (форма I).

Метилловый эфир 4-(4-{{(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты в аморфной твердой форме, полученный согласно способу примера 214, диспергировали в инертных разбавителях, перечисленных ниже в таблице X. Смеси подвергали воздействию окружающей среды и оставляли до полного выпаривания. Полученные твердые вещества были охарактеризованы рентгеноструктурным анализом. Все твердые вещества являлись кристаллическими с соответствующей порошковой рентгенограммой, о чем сообщается ниже в примере 220, которые были получены из образца примера 215.

Таблица X

Синтез кристаллический формы

Разбавитель	Соединение формулы (I) (мг)	Объем разбавителя (мл)
Простой эфир	4,60	0,230
Циклогексан	4,87	0,486
Этилацетат	5,67	0,284

Пример 218. Синтез кристаллического метилового эфира 4-(4-{{(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты (форма II).

Метилловый эфир 4-(4-{{(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты в аморфной твердой форме (42,2 мг) диспергировали в гексане (4,22 мл) при температуре окружающей среды до конечной концентрации 10 мг/мл. Раствор подвергали обработке ультразвуком для диспергирования крупных твердых частиц. Спустя 24 ч, при температуре окружающей среды (приблизительно 22°C) начиналась кристаллизация. Перед анализом кристаллические твердые вещества выделяли вакуумным фильтрованием.

Пример 219. Синтез кристаллического метилового эфира 4-(4-{{(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты (форма III).

Метилловый эфир 4-(4-{{(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино}метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты в аморфной твердой форме растворяли в смеси растворителей 1:1 этанол:вода (38 мг) (1,9 мл) при температуре окружающей среды до конечной концентрации 20 мг/мл. Раствор подвергали обработке ультразвуком в течение 30 с, чтобы гарантировать полное растворение. Затем раствор оставляли для медленного выпаривания в незакупоренной колбе. Спустя 24 ч,

при температуре окружающей среды начиналась кристаллизация. Кристаллическое твердое вещество выделяли вакуумным фильтрованием. Перед анализом осадок на фильтре промывали однократно смешанным растворителем 1:1 этанол:вода.

Пример 220. Порошковая дифракция рентгеновских лучей.

Порошковые рентгенограммы были получены на рентгенодифрактометре Thermo ARL модели X'TRA (Thermo ARL SA, Швейцария) с использованием излучения Cu K α при 1,542 Å (45 кВ, 40 мА) с детектором Si(Li) в твердом состоянии. Анализ обычно проводили при скорости сканирования 2°/мин с размером шага 0,03° на точку в диапазоне 2-35° в два-тета углу. Образцы, полученные в виде тонкодисперсного порошка или измельченные до этого состояния, аккуратно упаковывали в кварцевые колонки диаметром 7,8 мм и глубиной 0,5 мм, сделанные таким образом, чтобы входить в загружаемый сверху стакан для образцов в устройстве для анализа. Калибровку устройства к пределу $\pm 0,02^\circ$ два-тета угла проверяли еженедельно, сравнивая с металл-кремниевым стандартом. Типичная рентгенограмма PXRD для кристаллического соединения примера 215 (форма I), которое измельчали в порошок вручную, показана на фиг. 1. Типичная рентгенограмма PXRD для образца кристаллической формы III, полученного с дифрактометром Rigaku, использующим излучение Cu K α (30 кВ, 15 мА), показана на фиг. 5.

Пример 221. Рентгеноструктурный анализ.

а. Форма I.

Кусок кристалла, полученного в примере 215, имеющий размеры 0,33×0,17×0,11 мм, устанавливали на стекловолноке. Данные рентгеноструктурного анализа получали с использованием матричного детектора Bruker SMART 6K CCD-ray с диаметром окна 13,5 см, управляемого программным обеспечением SMART version 5.630 (Bruker, 2003), с использованием излучения Cu K α .

Расстояние между образцом и детектором составляло 5,039 см. Данные получали при температуре $-153\pm 1^\circ\text{C}$ и анализировали с использованием программного обеспечения SHELXS version 6.14 (Bruker, 2003). Получены следующие параметры решетки: элементарная ячейка была ромбической со следующими размерами: $a=16,9053 \text{ Å}$, $b=9,5172 \text{ Å}$, $c=15,4659 \text{ Å}$; пространственной группой является $Pna2_1$; вычисленная плотность составляет $1,22 \text{ г/см}^3$. Пики порошковой рентгенограммы, предполагаемые по полученным атомным положениям, отлично согласуются с наблюдаемыми результатами, полученными, как описано в примере 220, что показано в таблице XI.

Таблица XI

Пиковые положения PXRD

Наблюдаемая 2 θ (уровни)	Предполагаемая 2 θ уровни)
15,08 $\pm$ 20	15,1 $\pm$ 0,2
15,41 $\pm$ 20	15,6 $\pm$ 0,2
19,00 $\pm$ 20	19,2 $\pm$ 0,2
19,70 $\pm$ 20	19,5 $\pm$ 0,2
23,68 $\pm$ 20	23,7 $\pm$ 0,2

б. Форма III.

Кусок кристалла, полученный согласно способу примера 219, имеющий размеры 0,35×0,12×0,09 мм, анализировали описанным выше способом. Получены следующие параметры решетки: элементарная ячейка является моноклинной со следующими размерами: $a=14,810 \text{ Å}$, $b=9,9985 \text{ Å}$, $c=17,9222 \text{ Å}$; $\beta=106,3020^\circ$, пространственной группой является $P2_1/n$; вычисленная плотность составляет $1,23 \text{ г/см}^3$.

Пример 222. Термический анализ.

Проводили дифференциальную сканирующую калориметрию (DSC), используя модуль TA Instruments Model Q-100. Данные собирали и анализировали с использованием программного обеспечения TA Instruments Thermal Advantage для Q Series™. В алюминиевой кювете с крышкой проводили точное взвешивание образца массой приблизительно 7 мг. Образец оценивали, используя линейный профиль нагревания 10°C/мин от 5 до приблизительно 200°C . Во время использования ячейку DSC продували сухим азотом.

Проводили термогравиметрический анализ (TGA), используя модуль TA Instruments Model Q-500. Данные собирали и анализировали с использованием программного обеспечения TA Instruments Thermal Advantage для Q Series™. Образец, массой приблизительно 2 мг, помещали в алюминиевую кювету на платиновый лоток и проводили сканирование от температуры окружающей среды до приблизительно 300°C , используя линейный профиль нагревания 10°C/мин . Компенсационную и топочную камеры продували азотом во время использования.

Типичные кривые DSC и TGA для кристаллических материалов формы I (полученный согласно способу примера 216), формы II и формы III показаны, соответственно, на фиг. 2, 4 и 6.

Пример 223. Оценка динамической сорбции влажности.

Оценку динамической сорбции влажности (DMS) проводили при температуре 25°C , используя атмосферную микробалансную систему VTI SGA-100 (VTI Corp., Hialeah, FL 33016). Использовали размер образца примерно 5-10 мг, и на начало анализа устанавливали значение влажности окружающей среды. Обычный DMS анализ состоял из трех сканирований: от значения влажности окружающей среды до 2%

относительной влажности (ОВ), от 2% ОВ до 90% ОВ, от 90% ОВ до 5% ОВ при скорости сканирования 5% ОВ/шаг. Массу измеряли каждые две минуты и ОВ изменяли на последующее значение ($\pm 5\%$ ОВ), когда масса образца была стабильной в пределах 0,02% для 5 последовательных точек. Типичная изотерма DMS для кристаллического соединения примера 215 (форма I) показана на фиг. 3.

Кристаллическое соединение настоящего изобретения показывает обратимый профиль сорбции/десорбции с изменением массы менее чем на 0,25% на протяжении всего диапазона ОВ от 2 до 90% и с изменением массы менее чем на 0,1% в диапазоне критической влажности от 40 до 75% ОВ.

Пример 224. Инфракрасный анализ.

Инфракрасный (ИК) спектр поглощения кристаллического соединения примера 215 (форма I) определяли в диапазоне частот от 4000 до 675 см^{-1} с использованием спектрометра Avatar 360 FT-IR, снабженного держателем образца Nicolet с нарушенным полным отражением (ATR). Типичный спектр ИК поглощения для образца кристаллического соединения настоящего изобретения имел выраженные полосы поглощения при 766 ± 1 , 1097 ± 1 , 1251 ± 1 , 1413 ± 1 , 1449 ± 1 , 1579 ± 1 , 1609 ± 1 , 1640 ± 1 и 1696 ± 1 см^{-1} .

Пример 225. Оценка стабильности твердого состояния.

Образцы кристаллического соединения формы I, полученного согласно способу примера 216, сохраняли в ряде открытых стеклянных пробирок при температуре 40°C и ОВ 75%. Через конкретные промежутки времени отбирали содержимое исследуемой пробирки и проводили анализ DSC, TGA, PXRD и анализ на химическую чистоту ВЭЖХ. Через три месяца хранения отсутствовали какие-либо поддающиеся обнаружению изменения на термограммах DSC или TGA, а также изменения рентгенограммы PXRD. Химическая чистота хранившегося образца составляла 99,5%.

Анализ 1. Анализ радиолигандного связывания на рецепторах 5-HT_{4(c)} человека.

a. Получение мембранного 5-HT_{4(c)}.

Клетки НЕК-293 (эмбриональной почки человека) устойчиво трансфицировали кДНК 5-HT_{4(c)} рецептора человека (V_{max} = приблизительно 6,0 пмоль/мг белка, что определяли с использованием [³H]-GR113808 анализа мембранного радиолигандного связывания), выращивали во флаконах T-225 в питательной среде Игла, модифицированной по Дульбекко (DMEM), содержащий 4,500 мг/л D-глюкозы и гидрохлорид пиридоксина (GIBCO-Invitrogen Corp., Carlsbad CA: Cat #11965) с добавлением 10% фетальной телячьей сывороткой (FBS) (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #10437), 2 mM L-глутамина и пенициллина (100 единиц)-стрептомицина (100 мкг)/мл (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #15140) в атмосфере 5% CO₂, в инкубаторе с увлажнением при 37°C. Клетки выращивали в условиях непрерывной селекции с добавлением к питательной среде 800 мкг/мл генетицина (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #10131).

Клетки выращивали до конfluence примерно 60-80% (<35 пассажей субкультуры). Спустя 20-22 ч, перед сбором клетки дважды промывали и питали бессывороточной DMEM. Все стадии получения мембраны осуществляли на льду. Клеточный монослой снимали аккуратным механическим встряхиванием и тритурацией пипеткой 25 мл. Клетки собирали центрифугированием при 1000 об/мин (5 мин).

Для получения мембраны дебрисы клеток ресуспендировали в 50 mM ледяной 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновой кислоте (HEPES) при pH 7,4 (буфер мембранного получения) (40 мл/общий выход клеток из 30-40 флаконов T225) и гомогенизировали с использованием политронного дезинтегратора (с установками 19,2×10 с) на льду. Полученные гомогенаты центрифугировали при 1200 g в течение 5 мин при температуре 4°C. Дебрис удаляли и супернатант центрифугировали при 40000 g (20 мин). Дебрис однократно промывали ресуспензией с буфером мембранного получения и центрифугировали при 40000 g (20 мин). Конечный дебрис ресуспендировали в 50 mM HEPES с уровнем pH 7,4 (буфер анализа) (эквивалент 1 флакона T225/1 мл). Концентрацию белка в мембранной суспензии определяли методом Брэдфорда (Bradford, 1976). Мембраны сохраняли замороженными в аликвотах при температуре -80°C.

b. Анализ радиолигандного связывания.

Анализ радиолигандного связывания проводили в глубоких полипропиленовых 96-луночных планшетах для анализов 1,1 мл (Axugen) при общем анализируемом объеме 400 мкл, содержащем 2 мкг мембранного белка в 50 mM HEPES при pH 7,4, который содержал 0,025% бычьего сывороточного альбумина (BSA). Проводили исследование насыщенности связывания для определения значений K_d радиолиганда, используя [³H]-GR113808 (Amersham Inc., Bucks, UK: Cat #TRK944; специфическая активность составляла приблизительно 82 Ci/ммоль) при 8-12 различных концентрациях, варьирующих от 0,001 нМ до 5,0 нМ. Анализы замещения для определения значений pK_i соединений проводили с [³H]-GR113808 при 0,15 нМ и в одиннадцати различных концентрациях соединения в диапазоне от 10 пМ до 100 мкМ.

Тестируемые соединения получали в виде 10 mM маточных растворов в ДМСО и разводили до 400 мкМ в 50 mM HEPES при pH 7,4 при 25°C, содержащем 0,1% BSA, и затем проводили последовательные разведения (1:5) в этом же буфере. Неспецифическое связывание определяли в присутствии 1 мкМ немеченного GR113808. Пробы инкубировали в течение 60 мин при комнатной температуре и затем реакции связывания завершали быстрым фильтрованием через 96-луночные GF/B фильтровальные пластины из стекловолна (Packard BioScience Co., Meriden, CT) предварительно пропитанные 0,3% полиэтиленгликолем. Фильтровальные пластины промывали три раза фильтрационным буфером (50 mM ледя-

ного HEPES, pH 7,4), для удаления несвязанной радиоактивности. Пластины сушили, в каждую лунку добавляли 35 мкл жидкой сцинтилляционной жидкости Microscint-20 (Packard BioScience Co., Meriden, CT) и производили подсчет пластин в жидкостном сцинтилляционном счетчике Packard Topcount (Packard BioScience Co., Meriden, CT).

Данные связывания анализировали нелинейным регрессивным анализом с помощью пакета программного обеспечения GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc, San-Diego, Ca) с использованием 3-параметровой модели для конкуренции в одном сайте. Основание (кривая минимума) было зафиксировано для значения неспецифического связывания, что определяли в присутствии 1 мкМ GR113808. Значения K_i для тестируемых соединений вычисляли в программе Prism из наиболее подходящих значений IC_{50} , и значения K_d радиолиганда вычисляли, используя уравнение Чена-Прусоффа (Cheng and Prusoff, Biochemical Pharmacology, 1973, 22, 3099-108): $K_i = IC_{50} / (1 + [L] / K_d)$, где $[L]$ = концентрация [^3H]-GR113808. Результаты выражены в виде отрицательного десятичного логарифма значений K_i , pK_i .

Тестируемые соединения, имеющие в данном анализе более высокое значение pK_i , обладают более высокой аффинностью связывания в отношении рецептора 5-HT₄. Соединения настоящего изобретения, тестированные в данном анализе, имели значение pK_i в диапазоне приблизительно от 7,0 до приблизительно 10,0.

Анализ 2. Анализ радиолигандного связывания на 5-HT_{3A} рецепторах человека. Определение селективности подтипа рецептора.

а. Получение мембранного 5-HT_{3A}.

Клетки НЕК-293 (эмбриональной почки человека), устойчиво трансфицированные кДНК 5-HT_{3A} рецептора человека, были предоставлены д-ром Michael Brues (Боннский университет, Германия) (B_{max} = приблизительно 9,0 пмоль/мг белка, определенного с использованием анализа [^3H]-GR65630 мембранного радиолигандного связывания). Клетки выращивали во флаконах T-225 или в клеточных факторах в 50% среде Игла, модифицированной по Дульбекко (DMEM) (GIBCO-hivitrogen Corp., Carlsbad, CA: Cat #11965) и в 50% среде Хэма F12 (GBCO-Invitrogen Corp.: Cat #11765), с добавлением 10% инактивированной нагреванием фетальной телячьей сыворотки (FBS) (Hyclone, Logan, UT: Cat #SH30070.03) и пенициллина (50 единиц)-стрептомицина (50 мкг)/мл (Hyclone, Logan, UT: Cat #SH30070.03) в инкубаторе с увлажнением и 5% CO₂ при 37°C.

Клетки выращивали до конfluence примерно 70-80% (<35 пассажей субкультуры). Все стадии мембранного получения осуществляли на льду. Для сбора клеток аспирировали среду, и клетки споласкивали забуференным фосфатом раствором Дульбекко (dFBS), не содержащим Ca²⁺ и Mg²⁺. Клеточный монослой снимали аккуратным механическим стряхиванием. Клетки собирали центрифугированием при 1000 об/мин (5 мин). Последующие стадии мембранного получения соответствовали описанному выше протоколу для мембран, экспрессирующих рецепторы 5-HT_{4(c)}.

б. Анализы радиолигандного связывания.

Анализы радиолигандного связывания проводили в 96-луночных полипропиленовых пластинах для анализа с общим тестовым объемом 200 мкл, содержащим 1,5-2 мкг мембранного белка в 50 мМ HEPES при pH 7,4, содержащим буфер для анализов с 0,025% BSA. Проводили исследование насыщенности связывания для определения значений K_d радиолиганда, используя [^3H]-GR65630 (PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA: Cat #NET1011, специфическая активность приблизительно 85 Ci/ммоль) при двенадцати различных концентрациях в диапазоне от 0,005 до 20 нМ. Анализы замещения для определения значений pK_i соединений проводили с [^3H]-GR65630 при 0,50 нМ и одиннадцати различных значениях концентрации соединения в диапазоне от 10 пМ до 100 мкМ. Соединения получали в виде 10 мМ маточных растворов в ДМСО (см. раздел 3.1), разведенных при 25°C до 400 мкМ в 50 мМ HEPES при pH 7,4, содержащим 0,1% BSA и затем осуществляя последовательные разведения (1:5) в этом же буфере. Неспецифическое связывание определяли в присутствии 10 мкМ немеченного MDL72222. Затем образцы инкубировали в течение 60 мин при комнатной температуре, и реакции связывания завершали быстрым фильтрованием через 96-луночные фильтровальные пластины из стекловолокна GF/B (Packard BioScience Co., Meriden, CT), предварительно пропитанные 0,3% полиэтиленгликолем.

Фильтровальные пластины трижды промывали буфером для фильтрования (охлажденный льдом HEPES 50 мМ, pH 7,4), для удаления несвязанной радиоактивности. Пластины сушили, в каждую лунку добавляли 35 мкл сцинтилляционной жидкости Microscint-20 (Packard BioScience Co., Meriden, CT) и проводили подсчет пластин в жидкостном сцинтилляционном счетчике Packard Topcount (Packard BioScience Co., Meriden, CT).

Для определения значения K_i анализировали данные связывания, используя описанную выше нелинейную регрессивную методику. Основание (кривая минимума) было зафиксировано для значения неспецифического связывания, что определяли в присутствии 10 мкМ MDL72222. Количество $[L]$ в уравнении Чена-Прусоффа определяли как концентрацию [^3H]-GR65630.

Селективность для подтипа рецептора 5-HT₄ относительно подтипа 5-HT₃ рецептора вычисляли как отношение $K_i(5-HT_{3A})/K_i(5-HT_{4(c)})$. Соединения настоящего изобретения, которые тестировали в данном анализе, обладали селективностью 5-HT₄/5-HT₃ подтипов рецептора в диапазоне приблизительно от 4000

до максимального 400000.

Анализ 3. Flashplate анализ клеточного накопления цАМФ клеткой с клетками НЕК-293, экспрессирующими рецепторы 5-НТ_{4(c)} человека.

В данном анализе определяли функциональный потенциал тестируемого соединения, измеряя количество циклической АТФ, вырабатываемой при контакте клеток НЕК-293, экспрессирующих рецепторы 5-НТ₄, с тестируемым соединением в различных концентрациях.

а. Клеточная культура.

Готовили клетки НЕК-293 (эмбриональной почки человека), устойчиво трансфицированные клонированной кДНК рецептора 5-НТ_{4(c)} человека, путем экспрессии рецептора при двух разных значениях плотности: (1) при плотности белка приблизительно 0,5-0,6 пмоль/мг, определенной с использованием анализа мембранного радиолигандного связывания [³H]-GR113808, и (2) при плотности белка приблизительно 6,0 пмоль/мг. Клетки выращивали во флаконах T-225 в среде Игла, модифицированной по Дульбекко (DMEM), содержащей 4,500 мг/л D-глюкозы (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #11965) с добавлением 10%-й фетальной телячьей сыворотки (FBS) (GIBCO-hivitrogen Corp.: Cat #10437) и пенициллина (100 единиц)-стрептомицина (100 мкг)/мл (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #15140) в инкубаторе с увлажнением и 5% CO₂ при 37°C. Клетки выращивали в условиях непрерывной селекции с добавлением к среде генетицина (800 мкг/мл: GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #10131).

б. Получение клеток.

Клетки выращивали до конfluence примерно 60-80%. За период от двадцати до двадцати двух часов перед анализом клетки дважды промывали и питали бессывороточной DMEM, содержащей 4,500 мг/л D-глюкозы (GIBCO-Invitrogen Corp.: Cat #11965). Для сбора клеток аспирировали среду и в каждый флакон T-225 добавляли 10 мл Versene (GIBCO-mvitrogen Corp.: Cat #15040). Клетки инкубировали в течение 5 мин при комнатной температуре (КТ) и затем перемещали из флакона механическим стряхиванием. Клеточную суспензию переносили в центрифужную пробирку, содержащую равный объем предварительно нагретого (до 37°C) dFBS, и центрифугировали в течение 5 мин при 1000 об/мин. Удаляли супернатант и ресуспендировали дебрис в предварительно нагретом (37°C) стимулирующем буфере (эквивалентного 10 мл на 2-3 флакона T-225). Отмечали это время и фиксировали его как нулевую отметку. Клетки подсчитывали с помощью счетчика Coulter (подсчет выше 8 мкм, выход на флакон составлял 1-2×10⁶ клеток/флакон). Клетки ресуспендировали при концентрации 5×10⁵ клеток/мл в предварительно нагретом (37°C) стимулирующем буфере (обеспеченный в наборе Flashplate) и предварительно инкубированном при 37°C в течение 10 мин.

Анализ цАМФ проводили в формате радиоиммуноанализа, используя систему анализа активации аденилатциклазы Flashplate (Flashplate Adenylyl Cyclase Activation Assay System) с ¹²⁵I-цАМФ (SMP004B, PerkinElmer Life Sciences Inc, Boston, MA), согласно инструкциям изготовителя.

Клетки выращивали и готовили, как описано выше. Конечные концентрации клеток в анализе составляли 25×10³ клеток/лунка, и конечный объем анализа составлял 100 мкл. Тестируемые соединения получали в виде 10 мМ маточных растворов в ДМСО, разведенных до 400 мкМ 50 мМ HEPES с уровнем pH 7,4 при 25°C, содержащим 0,1% BSA и затем серийным разведением (1:5), осуществляемым в этом же буфере. Анализ накопления циклической АТФ выполняли с 11 различными концентрациями соединения в диапазоне от 10 пМ до 100 мкМ (конечные концентрации анализа). Кривую концентрация-ответ 5-НТ (10 пМ-100 мкМ) включали в каждую чашку. Клетки инкубировали при встряхивании при 37°C в течение 15 мин и реакцию завершали добавлением в каждую лунку 100 мкл охлажденного льдом буфера детекции (обеспеченного в наборе flashplate). Планшеты закрывали и инкубировали при 4°C в течение ночи. Связанную радиоактивность количественно подсчитывали сцинтилляционной спектроскопией близости, используя счетчик Topcount (Packard BioScience Co., Meriden, CT).

Количество цАМФ, полученной на мл реакции, экстраполировали из стандартной кривой цАМФ согласно инструкциям изготовителя в руководстве пользователя. Данные анализировали нелинейным регрессивным анализом с помощью пакета программного обеспечения GraphPad Prism Software, используя 3-параметровую сигмоидальную дозо-зависимую модель (наклон линии регрессии, ограниченный единицей). Данные потенциала изложены как значения pEC₅₀, отрицательный десятичный логарифм значения EC₅₀, где EC₅₀ означает эффективную концентрацию для 50% максимального ответа.

Тестируемые соединения, показывающие в данном анализе более высокое значение pEC₅₀, обладают более высоким потенциалом для агонизма с рецепторами 5-НТ₄. Соединения настоящего изобретения, тестированные в данном анализе, например на клеточной линии (1), имеющей плотность примерно 0,5-0,6 пмоль/мг белка, имели значение pEC₅₀ в диапазоне приблизительно от 7,5 до приблизительно 9,5.

Анализ 4. Анализ фиксации напряжения in vitro торможения потока ионов калия в цельных клетках, экспрессирующих hERG сердечного калиевого канала.

Клетки CHO-K1, устойчиво трансфицированные hERG кДНК, были предоставлены Gail Robertson из Университета Висконсина. Клетки до использования находились в криогенном хранении. Клетки набухали и пересевались в среде Игла/F12, модифицированной по Дульбекко, с добавлением 10% фетальной телячьей сыворотки и 200 мкг/мл генетицина. Клетки высевали на покрытые поли-D-лизин

(100 мкг/мл) стеклянные покровные стекла, в чашки 35 мм² (содержащие 2 мл среды) при плотности, дающей возможность отбирать изолированные клетки для исследования фиксации напряжения цельной клетки. Чашки выдерживали в увлажненной среде с 5% CO₂ при 37°C.

Внеклеточный раствор готовили по меньшей мере каждые 7 дней и, если его не использовали, сохраняли при 4°C. Внеклеточный раствор, содержащий (мМ): NaCl (137), KCl (4), CaCl₂ (1,8), MgCl₂ (1), глюкоза (10), 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновую кислоту (HEPES) (10), при pH 7,4 с NaOH. Внеклеточный раствор, в отсутствие или в присутствии тестируемого соединения, содержали в емкостях, из которых его подавали в записывающую камеру со скоростью приблизительно 0,5 мл/мин. Внутриклеточный раствор готовили, разделяли на аликвоты и сохраняли при температуре -20°C до дня использования. Внутриклеточный раствор содержал (мМ): KCl (130), MgCl₂ (1), соль этиленгликоль-бис-(бета-аминоэтилового эфира) N,N,N',N'-тетрауксусной кислоты (EGTA) (5), Mg АТФ (5), 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновую кислоту (HEPES) (10), pH 7,2 с KOH. Все эксперименты осуществляли при комнатной температуре (20-22°C).

Покровные стекла, на которые высевали клетки, переносили в записывающую камеру и осуществляли непрерывную перфузию. Между клеткой и контактным электродом создавали изолятор в гигаОм. Как только достигался устойчивый контакт, начинали запись в режиме фиксации напряжения с начальным исходным потенциалом -80 мВ. После достижения устойчивого клеточного потока клетки подвергали воздействию тестируемого соединения. Стандартный протокол напряжения представлял собой: шаг от исходного потенциала -80 мВ до +20 мВ в течение 4,8 с, реполяризация до -50 мВ в течение 5 с и затем возвращение кначальному исходному потенциалу (-80 мВ). Такой протокол напряжения проводили однократно каждые 15 с (0,067 Гц). Пиковые значения амплитуды тока во время фазы реполяризации определяли с использованием программного обеспечения pClamp. Осуществляли перфузию клеток тестируемыми соединениями при концентрации 3 мкМ в течение 5 мин с последующим 5-минутными периодами вымывания при отсутствии соединения. Наконец, к перфузату добавляли положительный контроль (цисаприд, 20 нМ) для проверки функции клетки. Шаг от -80 мВ до +20 мВ активирует канал hERG, что приводит к выходящему потоку. Обратный шаг к -50 мВ приводит к выходящему хвостовому потоку, поскольку канал восстанавливается после инактивации и дезактивации.

Пиковые амплитуды тока во время фазы реполяризации определяли с использованием программного обеспечения pCLAMP. Полученные контрольные и тестовые данные передавали в Origin® (OriginLab Corp., Northampton MA), где отдельные амплитуды тока стандартизировали по исходной амплитуде тока в отсутствие соединения. Вычисляли значения стандартизированного тока и стандартные ошибки для каждого условия и выстраивали кривую относительно времени эксперимента.

Проводили сравнения между наблюдаемыми торможениями тока K⁺ после пятиминутной экспозиции как тестируемого вещества, так и контрольного носителя (обычно 0,3% ДМСО). Статистические сравнения между экспериментальными группами проводили с использованием двухпопуляционного независимого t-теста (Microcal Origin v. 6.0). Различия считали значимыми при p<0,05.

В данном анализе с уменьшением процента торможения потока ионов калия уменьшались возможности тестируемых соединений изменять структуру сердечной реполяризации при использовании их в качестве терапевтических средств. Например, соединения примеров 1-14, тестируемые в данном анализе при концентрации 3 мкМ, проявляли торможение потока ионов калия менее чем приблизительно 30%, включая показатели менее чем приблизительно 20%.

Анализ 5. Модель пероральной биодоступности *in vitro*: анализ проницаемости Caco-2.

Проводили анализ проницаемости Caco-2, чтобы смоделировать способность тестируемых соединений проходить через кишку и попадать в кровоток после перорального введения. Определяли скорость, с которой тестируемые соединения в растворе проникают через клеточный монослой, созданный для имитации плотного соединения монослоев тонкой кишки человека.

Клетки Caco-2 (толстая кишка, аденокарцинома; человеческие) были получены из ATCC (Американская коллекция типовых культур; Роквилл, Мэриленд). Для исследования проницаемости клетки высевали при плотности 63000 клеток/см² на предварительно увлажненные поликарбонатные транс-луночные фильтры (Costar; Cambridge, MA). Клеточный монослой образовывался спустя 21 день культивирования. После культивирования клеток на транс-луночном планшете, содержащую клеточный монослой мембрану отделяли от транс-луночной пластины и вставляли в диффузионную камеру (Costar; Cambridge, MA). Диффузионную камеру вставляли в нагревающий блок, снабженный внешней циркуляцией термостатически регулируемой воды при 37°C для контроля температуры. Система воздуховода доставляла смесь 95% O₂/5% CO₂ в каждую половину диффузионной камеры и создавала ламинарный характер потока через клеточный монослой, что эффективно уменьшало несмешанный пограничный слой.

Исследование проницаемости проводили с тестируемым соединением в концентрациях 100 мкМ и с ¹⁴C-маннитом для контроля целостности монослоя. Все эксперименты проводили при температуре 37°C в течение 60 мин. Образцы отбирали в 0,30 и 60 мин как от донора, так и принимающих сторон камеры. Образцы тестируемого соединения и концентрации маннита анализировали ВЭЖХ или жидкостным

сцинтилляционным счетчиком. Вычисляли коэффициент проницаемости (K_p) в см/с.

В данном анализе благоприятным показателем биодоступности считали значение K_p больше чем приблизительно 10×10^{-6} см/с. Соединения настоящего изобретения, которые тестировали в данном анализе, обычно показывали значения K_p приблизительно от 10×10^{-6} см/с до приблизительно 50×10^{-6} см/с.

Анализ 6. Фармакокинетическое исследование на крысах.

Рецептуры водного раствора тестируемых соединений готовили в 0,1% молочной кислоте при pH приблизительно от 5 до приблизительно 6. Самцы крыс Sprague-Dawley (линия CD, Charles River Laboratories, Wilmington, MA) получали тестируемые соединения путем внутривенного введения (в/в) в дозе 2,5 мг/кг или перорального зондового питания (п/о) в дозе 5 мг/кг. Объем дозы составлял 1 мл/кг для в/в и 2 мл/кг для п/о введения. Последовательные пробы крови у животных отбирали перед введением, через 2 мин (только в/в), 5, 15 и 30 мин и через 1, 2, 4, 8 и 24 ч после введения. Концентрации тестируемых соединений в плазме крови определяли анализом жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии (LC-MS/MS) (MDS SCIEX, API 4000, Applied Biosystems, Foster City, CA) при нижнем пределе количественной оценки 1 нг/мл.

Стандартные фармакокинетические параметры оценивали анализом без компартментализации (модель 201 для в/в и модель 200 для п/о) с использованием WinNonlin (Version 4.0.1, Pharsight, Mountain View, CA). Максимум на кривой концентрации тестируемого соединения в плазме крови в зависимости от времени обозначали C_{max} . Область под кривой (AUC) концентрации от времени от момента введения до последней измеряемой концентрации (AUC (0-t)) вычисляли по линейному правилу трапеции. Пероральную биодоступность ($F(\%)$), то есть дозо-стандартизированное отношение AUC (0-t) для п/о введения к AUC (0-t) для в/в введения вычисляли по формуле

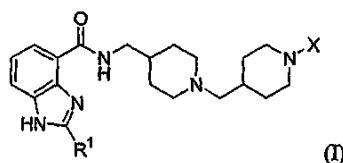
$$F(\%) = AUC_{п/о} / AUC_{в/в} \times \text{доза}_{в/в} / \text{доза}_{п/о} \times 100\%,$$

Предполагается, что тестируемые соединения, которые показывают в данном анализе более высокие значения параметров C_{max} , AUC(0-t) и $F(\%)$, будут иметь более высокую биодоступность при пероральном введении. Предпочтительные соединения настоящего изобретения обычно имеют значения C_{max} в диапазоне приблизительно от 0,06 до приблизительно 0,8 мкг/мл и значения AUC (0-t) обычно в диапазоне приблизительно от 0,14 до приблизительно 1,2 мкг·ч/мл. В качестве примера, у соединения примера 1 значение C_{max} составляло 0,8 мкг/мл, значение AUC (0-t) - 1,2 мкг·ч/мл и пероральная биодоступность ($F(\%)$) на крысиной модели составляла приблизительно 75%.

Поскольку настоящее изобретение было описано в отношении конкретных вариантов его осуществления, специалистам в данной области будет понятно, что можно проводить различные изменения и можно менять эквиваленты, не отступая от существа и объема настоящего изобретения. В дополнение, можно осуществлять многочисленные модификации для адаптации конкретной ситуации, материала, рассматриваемой композиции, способа, стадий способа или шагов, к цели, сущности и объему настоящего изобретения. Предполагается, что все такие модификации входят в объем прилагаемой формулы изобретения. Дополнительно, все публикации, патенты и патентные документы, цитированные выше, включены в настоящее изобретение посредством ссылки во всей их полноте, как если бы каждая была включена индивидуально.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I)



где R^1 является C_{3-5} алкилом, необязательно замещенным -OH; и

X выбирают из:

(a) $-C(O)OR^2$, где R^2 представляет собой C_{1-4} алкил или $-(CH_2)_n$ -фенил, где n равно 0 или 1;

(b) $-C(O)R^3$, где R^3 выбирают из

фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила, галогена, C_{1-4} алкокси, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ и $-CN$,

C_{1-5} алкила,

C_{4-5} циклоалкила и

$-(CH_2)_m$ -A, где m равно 0 или 1 и A выбирают из amino, фуридила, тиофенила, морфолинила, тетрагидрофуридила, пиридирила, нафталенила, пирролила, тиоморфолинила, пирролидинила, пиперидинила, оксазетидинила, тиазолидинила, 1,1-диоксоизотиазолидинила и 2,4-диметилизоксазолила;

(c) $-C(O)NR^4R^5$, где R^4 является водородом или C_{1-3} алкилом и R^5 представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила, галогена, C_{1-4} алкокси, $-CF_3$, $-OCF_3$ и $-OCHF_2$;

(d) $-C(O)C(R^6R^7)R^8$, где R^6 является водородом или C_{1-3} алкилом и R^7 представляет собой водород,

-ОН или C_{1-3} алкил или R^6 и R^7 , взятые вместе, образуют оксо или $-(CH_2)_2$ - и

R^8 является фенилом или циклогексил, где фенил или циклогексил необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила, галогена, C_{1-4} алкокси, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ и $-CN$;

(е) $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$, где R^9 является водородом или C_{1-3} алкилом и R^{10} является фенилом, необязательно замещенным 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила, галогена, C_{1-4} алкокси, $-CF_3$, $-OCF_3$ и $-OCHF_2$; и

(f) $-S(O)_2R^{11}$, где R^{11} выбирают из C_{1-3} алкила, $-CH_2$ -фенила, фуридила, тиофенила, морфолинила, тетрагидрофуридила, пиридинила, нафталенила, пирролила, тиоморфолинила, пирролидинила, пиперидинила, оксазетидинила, тиазолидинила, 1,1-диоксоизотиазолидинила, 2,4-диметилизоксазолила и фенила, необязательно замещенных 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила, галогена, C_{1-4} алкокси, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ и $-CN$;

или его фармацевтически приемлемая соль, или сольват, или стереоизомер.

2. Соединение по п.1, где R^1 является C_{3-5} алкилом.

3. Соединение по п.2, где R^1 является изопропилом или трет-бутилом.

4. Соединение по п.2, где X является $-C(O)OR^2$.

5. Соединение по п.4 где R^2 является C_{1-3} алкилом или фенилом.

6. Соединение по п.2, где X является $-C(O)R^3$.

7. Соединение по п.6, где R^3 является фенилом, необязательно замещенным 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила, галогена, C_{1-4} алкокси, $-CF_3$, $-OCF_3$ и $-OCHF_2$.

8. Соединение по п.2, где X является $-C(O)NR^4R^5$.

9. Соединение по п.2, где

R^1 представляет собой C_{3-4} алкил и

X выбирают из:

(a) $-C(O)OR^2$, где R^2 является C_{1-3} алкилом или фенилом;

(b) $-C(O)R^3$, где R^3 является фенилом, необязательно замещенным 1 или 2 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила, галогена и $-CF_3$; фурилом или тиофенилом;

(c) $-C(O)NR^4R^5$, где R^4 является водородом и R^5 представляет собой фенил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила и галогена;

(d) $-C(O)C(R^6R^7)R^8$, где R^6 является водородом и R^7 представляет собой водород, -ОН или метил или R^6 и R^7 , взятые вместе, образуют оксо или $-(CH_2)_2$ - и R^8 является фенилом или циклогексил, где фенил или циклогексил необязательно замещен 1 или 2 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила и галогена;

(е) $-C(O)C(HR^9)OR^{10}$, где R^9 является водородом или метилом и R^{10} представляет собой фенил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила и галогена; и

(f) $-S(O)_2R^{11}$, где R^{11} является метилом или фенилом, необязательно замещенным 1 или 2 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила и галогена.

10. Соединение по п.9, где

R^1 представляет собой изопропил или трет-бутил и

X выбирают из:

(a) $-C(O)OR^2$, где R^2 является метилом или фенилом;

(b) $-C(O)R^3$, где R^3 представляет собой фенил, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, выбранными из метила, хлора, фтора и $-CF_3$; фуран-2-ил или тиофен-2-ил; и

(c) $-C(O)NR^4R^5$, где R^4 является водородом и R^5 является фенилом, необязательно замещенным 1 фтором или хлором.

11. Соединение по п.2, где соединение выбирают из группы, представляющей

метилловый эфир 4-(4-[(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил)пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты;

фениловый эфир 4-(4-[(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил)пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты;

{1-[1-(2-хлорбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты;

{1-[1-(2,4-дифторбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты;

{1-[1-(фуран-2-карбонил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты;

{1-[1-(тиофен-2-карбонил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты;

{1-[1-(2-фтор-5-трифторметилбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты;

{1-[1-(2-фторфенилкарбамоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты;

метилловый эфир 4-(4-[(2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил)пиперидин-1-

илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты;

{1-[1-(2-фторбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты;

{1-[1-(3-метилбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты;

{1-[1-(4-фторбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амид 2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты и

их фармацевтически приемлемые соли, сольваты и стереоизомеры.

12. Соединение по п.2, где соединение выбирают из

метилового эфира 4-(4-{[(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты;

метилового эфира 4-(4-{[(2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты;

{1-[1-(2-фторбензоил)пиперидин-4-илметил]пиперидин-4-илметил}амида 2-трет-бутил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты и

его фармацевтически приемлемых солей, сольватов и стереоизомеров.

13. Кристаллический метиловый эфир 4-(4-{[(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты или его сольват.

14. Кристаллическое соединение по п.13, где кристаллическое соединение характеризуется порошковой рентгенограммой, имеющей два или несколько дифракционных пика при значениях 2θ , выбранных из $15,08 \pm 0,20$, $15,41 \pm 0,20$, $19,00 \pm 0,20$, $19,70 \pm 0,20$ и $23,68 \pm 0,20$.

15. Кристаллическое соединение по п.14, где кристаллическое соединение характеризуется профилем дифференциальной сканирующей калориметрии, показывающим максимум в эндотермическом тепловом потоке при температуре в диапазоне приблизительно от 146 до приблизительно 148°C .

16. Кристаллическое соединение по п.13, где кристаллическое соединение характеризуется профилем дифференциальной сканирующей калориметрии, показывающим максимум в эндотермическом тепловом потоке при температуре в диапазоне приблизительно от 143 до приблизительно 145°C .

17. Кристаллическое соединение по п.13, где кристаллическое соединение является моногидратом.

18. Кристаллическое соединение по п.17, где кристаллическое соединение характеризуется порошковой рентгенограммой, имеющей два или несколько дифракционных пика при значениях 2θ , выбранных из $9,14 \pm 0,20$, $12,41 \pm 0,20$, $12,74 \pm 0,20$, $17,75 \pm 0,20$, $18,47 \pm 0,20$, $20,63 \pm 0,20$, $21,13 \pm 0,20$ и $27,05 \pm 0,20$.

19. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по любому из пп.1-18 и фармацевтически приемлемый носитель.

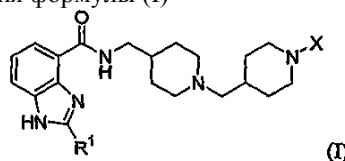
20. Применение соединения по любому из пп.1-18 для применения в терапии.

21. Применение соединения по любому из пп.1-18 для изготовления лекарственного средства.

22. Применение по п.21, где лекарственное средство предназначено для лечения клинического состояния у млекопитающего, связанного с активностью рецептора 5-HT₄.

23. Применение по п.22, где заболеванием или состоянием являются сниженные моторики желудочно-кишечного тракта.

24. Способ получения соединения формулы (I)



где R^1 является C_{3-5} алкилом, необязательно замещенным -OH; и

X выбирают из:

a) $-C(O)OR^2$, где R^2 представляет собой C_{1-4} алкил или $-(CH_2)_n$ -фенил, где n равно 0 или 1;

b) $-C(O)R^3$, где R^3 выбирают из

фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила, галогена, C_{1-4} алкокси, $-CF_3$, $-OCF_3$, $-OCHF_2$ и $-CN$,

C_{1-5} алкила,

C_{4-5} циклоалкила и

$-(CH_2)_m$ -A, где m равно 0 или 1 и A выбирают из фуридила, тифенила, морфолинила, тетрагидрофуридила, пиридинила, нафталенила, пирролила, тиоморфолинила, пирролидинила, пиперидинила, оксоазетидинила, тиазолидинила, 1,1-диоксоизотиазолидинила и 2,4-диметилизоксазолила;

c) $-C(O)NR^4R^5$, где R^4 является водородом или C_{1-3} алкилом и R^5 представляет собой фенил, необязательно замещенный 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C_{1-4} алкила, галогена, C_{1-4} алкокси, $-CF_3$, $-OCF_3$ и $-OCHF_2$;

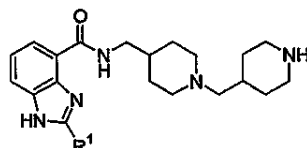
d) $-C(O)C(R^6R^7)R^8$, где R^6 является водородом или C_{1-3} алкилом и R^7 представляет собой водород, -OH или C_{1-3} алкил или R^6 и R^7 , взятые вместе, образуют оксо или $-(CH_2)_2$ - и R^8 является фенилом или

циклогексил, где фенил или циклогексил необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена, C₁₋₄алкокси, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ и -CN;

(е) -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰, где R⁹ является водородом или C₁₋₃алкилом и R¹⁰ является фенилом, необязательно замещенным 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена, C₁₋₄алкокси, -CF₃, -OCF₃ и -OCHF₂; и

(f) -S(O)₂R¹¹, где R¹¹ выбирают из C₁₋₃алкила, -CH₂-фенила, фуриила, тиофенила, морфолинила, тетрагидрофуриила, пиридирила, нафталила, пирролила, тиоморфолинила, пирролидинила, пиперидирила, оксазетидинила, тиазолидинила, 1,1-диоксоизотиазолидинила, 2,4-диметилизоксазолила и фенила, необязательно замещенных 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена, C₁₋₄алкокси, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ и -CN;

или его фармацевтически приемлемой соли, или сольвата, или стереоизомера, включающий взаимодействие соединения формулы (II)



(II)

с соединением формулы (III)

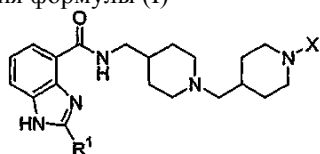


(III)

где L является уходящей группой;

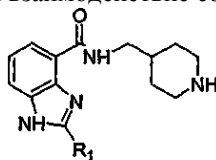
с получением соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или стереоизомера.

25. Способ получения соединения формулы (I)



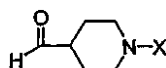
(I)

где R¹ и X имеют значения, определенные в п.24, или его фармацевтически приемлемой соли, или сольвата, или стереоизомера, включающий взаимодействие соединения формулы (VIII)



(VIII)

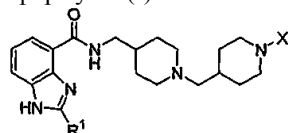
с соединением формулы (XIII)



(XIII)

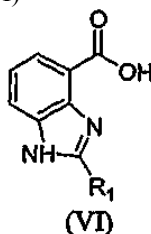
с получением соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или стереоизомера.

26. Способ получения соединения формулы (I)



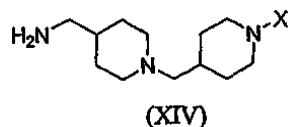
(I)

где R¹ и X имеют значения, определенные в п.24, или его фармацевтически приемлемой соли, или сольвата, или стереоизомера, включающий взаимодействие соединения формулы (VI)



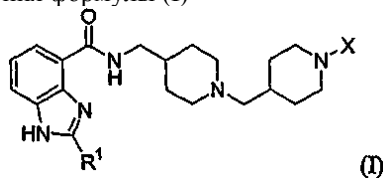
(VI)

с соединением формулы (XIV)



с получением соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или стереоизомера.

27. Способ получения соединения формулы (I)



где R¹ является C₃₋₅алкилом и

X выбирают из:

b) -C(O)R³, где R³ выбирают из

фенила, необязательно замещенного 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из:

C₁₋₄алкила, галогена, C₁₋₄алкокси, -CF₃, -OCF₃ и -OCHF₂,

C₁₋₅алкила,

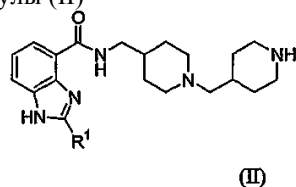
C₄₋₅циклоалкила и

-(CH₂)_m-A, где m равно 0 или 1 и A выбирают из фурила, тиофенила, морфолинила, тетрагидрофурила, пиридинила, нафталенила, пирролила, тиоморфолинила, пирролидинила, пиперидинила, оксоазетидинила, тиазолидинила, 1,1-диоксоизотиазолидинила и 2,4-диметилизоксазолила;

(d) -C(O)C(R⁶R⁷)R⁸, где R⁶ является водородом или C₁₋₃алкилом и R⁷ представляет собой водород, -OH или C₁₋₃алкил или R⁶ и R⁷, взятые вместе, образуют оксо или -(CH₂)₂- и R⁸ является фенилом или циклогексиллом, где фенил или циклогексил необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена, C₁₋₄алкокси, -CF₃, -OCF₃, -OCHF₂ и -CN; и

(e) -C(O)C(HR⁹)OR¹⁰, где R⁹ является водородом или C₁₋₃алкилом и R¹⁰ является фенилом, необязательно замещенным 1, 2 или 3 заместителями, выбранными из C₁₋₄алкила, галогена, C₁₋₄алкокси, -CF₃, -OCF₃ и -OCHF₂;

или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или стереоизомера, включающий взаимодействие соединения формулы (II)

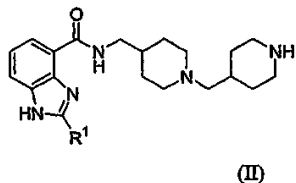


с соединением формулы (IV)



где X¹ выбирают из R³, C(R⁶R⁷)R⁸ и C(HR⁹)OR¹⁰, с получением соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или стереоизомера.

28. Соединение формулы (II)



где R¹ представляет собой C₃₋₅алкил или его соль, стереоизомер или его защищенное производное.

29. Способ получения кристаллического метилового эфира

4-(4-[(2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил)пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты, включающий:

(a) диспергирование метилового эфира 4-(4-[(2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил)пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты в инертном разбавителе, выбираемом из ацетонитрила, простого эфира, циклогексана и этилацетата в пропорции приблизительно от 15 до 25 мг метилового эфира 4-(4-[(2-изопропил-1H-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил)пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты на 1 мл разбавителя с образованием смеси; и

(b) оставление смеси для выпаривания с получением кристаллического метилового эфира 4-(4-[(2-

изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты.

30. Способ получения кристаллического метилового эфира 4-(4-{[(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты, включающий:

(а) взаимодействие (пиперидин-4-илметил)амида 2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбоновой кислоты с метиловым сложным эфиром 4-формилпиперидин-1-карбоновой кислоты в полярном апротонном разбавителе;

(б) добавление ацетонитрила при перегонке продукта стадии (а) для удаления полярного апротонного разбавителя из продукта стадии (а);

(с) получение смеси из остатка со стадии перегонки (б) в ацетонитриле при концентрации приблизительно от 50 до приблизительно 125 мг метилового эфира 4-(4-{[(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты на 1 мл ацетонитрила при температуре, достаточной для растворения остатка; и

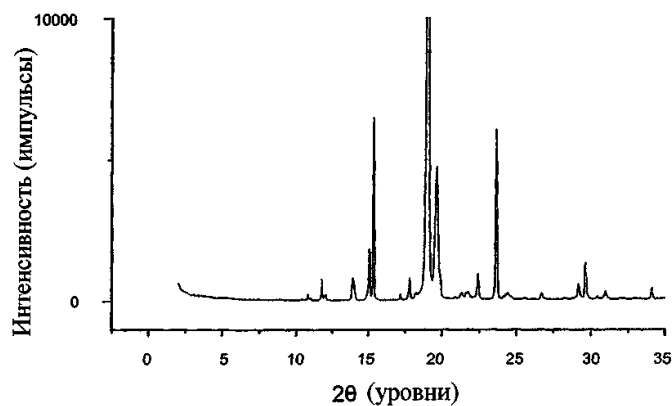
(д) охлаждение смеси со стадии (с) до температуры не выше чем приблизительно 20°C с получением кристаллического метилового эфира 4-(4-{[(2-изопропил-1Н-бензоимидазол-4-карбонил)амино]метил}пиперидин-1-илметил)пиперидин-1-карбоновой кислоты.

31. Способ лечения млекопитающего, имеющего клиническое состояние, обусловленное активностью рецепторов 5-HT₄, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель и соединение по любому из пп.1-18.

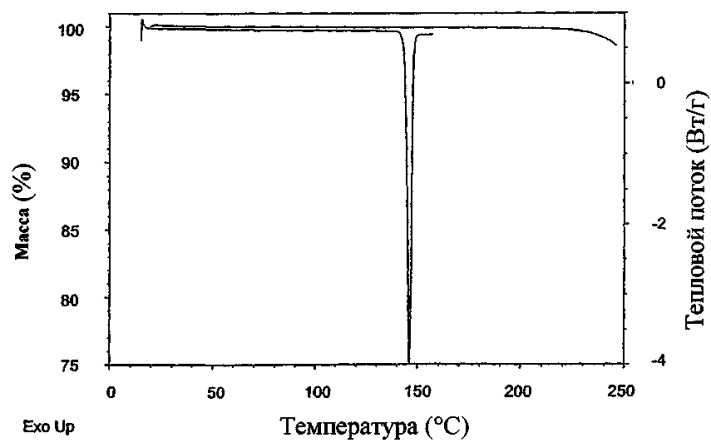
32. Способ по п.31, где клиническое состояние выбирают из синдрома раздраженного кишечника, хронического запора, функциональной диспепсии, задержки эвакуации содержимого желудка, гастроэзофагеальной рефлюксной болезни, гастропареza, послеоперационной непроходимости кишечника, кишечной псевдообструкции и медикаментозного замедления кишечного транзита.

33. Способ лечения заболевания со сниженной моторикой желудочно-кишечного тракта у млекопитающего, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель и соединение по любому из пп.1-18.

34. Способ по п.33, где заболевание со сниженной моторикой выбирают из хронического запора, синдрома раздраженного кишечника с преобладанием запора, диабетического и идиопатического гастропареza и функциональной диспепсии.



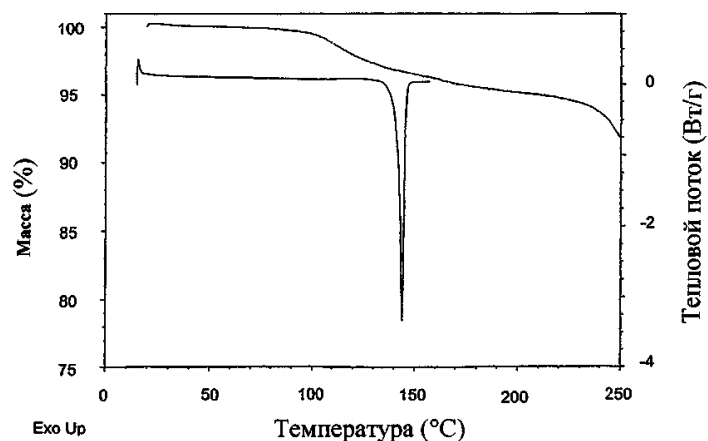
Фиг. 1



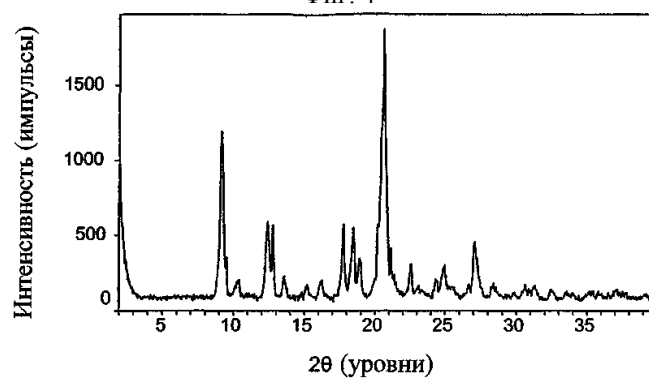
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

