



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101784541 A

(43) 申请公布日 2010. 07. 21

(21) 申请号 200880104013. 6

(22) 申请日 2008. 06. 25

(30) 优先权数据

60/945, 959 2007. 06. 25 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2010. 02. 23

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2008/068115 2008. 06. 25

(87) PCT申请的公布数据

W02009/003003 EN 2008. 12. 31

(71) 申请人 纽罗根公司

地址 美国康涅狄格州

(72) 发明人 蒂莫西·M·考德威尔 高洋

许月莲 谢玲红

(74) 专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限公司 11227

代理人 顾晋伟 韩宏星

(51) Int. Cl.

C07D 403/12 (2006. 01)

C07D 403/08 (2006. 01)

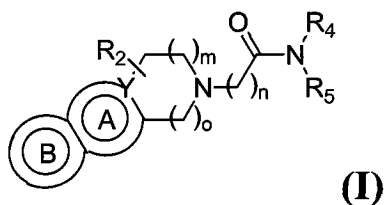
权利要求书 13 页 说明书 71 页

(54) 发明名称

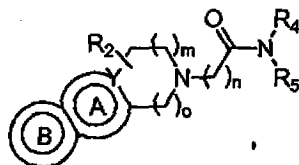
哌嗪基氧代烷基四氢-β-吡啶及相关类似物

(57) 摘要

本文提供了式 (I) 的哌嗪基氧代烷基四氢-β-吡啶及相关类似物以及其制备方法和用途。这些化合物一般可用于体内或体外调节配体与组胺 H3 受体的结合, 特别可用于治疗人、伴侣动物和家畜中的多种疾病。本文提供了药物组合物 and 治疗方法, 以及使用这些配体检测组胺 H3 受体的方法 (例如受体定位研究)。



1. 下式的化合物：



或其可药用盐或水合物，其中：

Y 是 C 或 N；

表示 5 元或 6 元杂芳基，其与 表示的环稠合，还与 表示的环稠合；

表示苯基或 5 元或 6 元杂芳基，其与 表示的环稠合，每个苯基或杂芳基被 0 至 4 个独立地选自下列的取代基取代：

(i) 氢、氨基、卤素、氰基、羟基、硝基和氧代基；以及

(ii) C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、(C_3-C_8 环烷基) C_0-C_2 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_1-C_6 烷基磺酰基、单-或二-(C_1-C_6 烷基) 氨基 C_0-C_4 烷基、苯基 C_0-C_2 烷基或者 (5 元至 7 元杂环) C_0-C_2 烷基；其各自是未取代的或者被氧代基、 C_1-C_6 烷基或 C_1-C_6 烷氧基取代；

n 是 0、1、2 或 3；

m 是 0、1 或 2；

o 是 1 或 2；

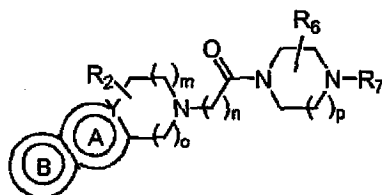
R_2 代表 0 至 4 个独立选自下列的取代基： C_3-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、(C_3-C_8 环烷基) C_0-C_2 烷基、 C_1-C_6 卤代烷基以及一起形成 C_1-C_3 亚烷基桥的基团；

R_4 和 R_5 ：

(i) 独立地选自 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基和 C_2-C_6 烷基醚；其各自被 0 至 4 个独立选自下列的取代基取代：氨基、氰基、氧代基、单-或二-(C_1-C_6 烷基) 氨基、单-或二-(C_1-C_6 烷基) 氨基羰基以及 5 元至 7 元杂环烷基；使得 R_4 和 R_5 至少之一被含氮杂环或胺取代；或者

(ii) 一起形成 4 元至 10 元杂环烷基，其被 0 至 4 个独立选自下列的取代基取代： C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基、单-或二-(C_1-C_6 烷基) 氨基 C_0-C_2 烷基、(C_3-C_8 环烷基) C_0-C_2 烷基、苯基 C_0-C_2 烷基 (4 元至 8 元杂环烷基) C_0-C_2 烷基以及一起形成 C_1-C_3 亚烷基桥的基团；其各自被 0 至 4 个独立选自下列的取代基取代：氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_1-C_6 烷基磺基、 C_3-C_6 烷酮基、 C_1-C_6 烷氧羰基、单-或二-(C_1-C_6 烷基) 氨基、单-或二-(C_1-C_6 烷基) 氨基羰基、 C_3-C_7 环烷基以及 4 元至 7 元杂环烷基。

2. 权利要求 1 的化合物或其盐或水合物，其中所述化合物符合下式：



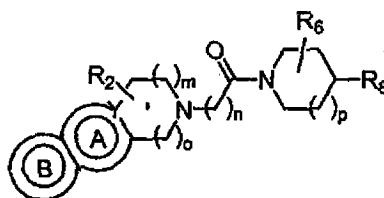
其中：

p 是 1、2 或 3；

R₆ 代表 0 至 4 个独立选自 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 卤代烷基和一起形成 C₁-C₃ 亚烷基桥的基团的取代基；

R₇ 是 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、(C₃-C₈ 环烷基)C₀-C₂ 烷基、苯基 C₀-C₂ 烷基或 (4 元至 8 元杂环烷基)C₀-C₂ 烷基，其各自被 0 至 4 个独立地选自以下的取代基所取代：氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₁-C₆ 卤代烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、C₁-C₆ 烷硫基、C₂-C₆ 烷基醚、C₁-C₆ 烷酰基、C₃-C₆ 烷酮基、C₁-C₆ 烷氧羰基、单-或二-(C₁-C₆ 烷基)氨基、单-或二-(C₁-C₆ 烷基)氨基羰基、C₃-C₇ 环烷基和 4 元至 7 元杂环烷基。

3. 权利要求 1 的化合物或其盐或水合物，其中所述化合物符合下式：



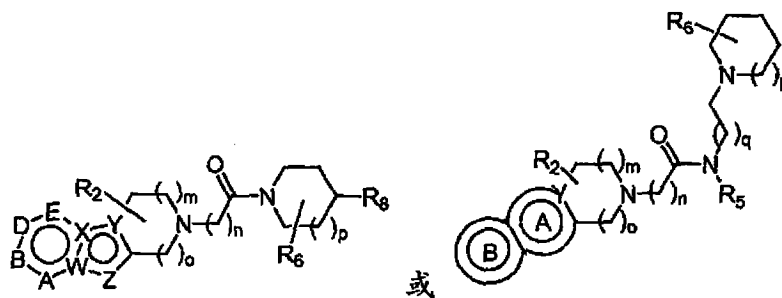
其中：

p 是 0、1、2 或 3；

R₆ 代表 0 至 4 个独立选自 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 卤代烷基和一起形成 C₁-C₃ 亚烷基桥的基团的取代基；以及

R₈ 是单-或二-(C₁-C₆ 烷基)氨基 C₀-C₂ 烷基或者 (4 元至 8 元杂环烷基)C₀-C₂ 烷基，其各自被 0 至 4 个独立地选自以下的取代基所取代：氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₁-C₆ 卤代烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、C₁-C₆ 烷硫基、C₂-C₆ 烷基醚、C₁-C₆ 烷酰基、C₃-C₆ 烷酮基、C₁-C₆ 烷氧羰基、单-或二-(C₁-C₆ 烷基)氨基、单-或二-(C₁-C₆ 烷基)氨基羰基、C₃-C₇ 环烷基和 4 元至 7 元杂环烷基。

4. 权利要求 1 的化合物或其盐或水合物，其中所述化合物符合下式：



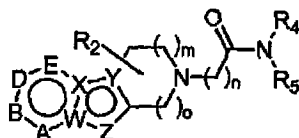
其中：

p 和 q 独立地是 0、1、2 或 3；

R_6 代表 0 至 4 个独立选自 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 卤代烷基和一起形成 C_1-C_3 亚烷基桥的基团的取代基 ; 以及

R_7 是 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、(C_3-C_8 环烷基) C_0-C_2 烷基、苯基 C_0-C_2 烷基或 (4 元至 8 元杂环烷基) C_0-C_2 烷基, 其各自被 0 至 4 个独立地选自以下的取代基所取代 : 氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_1-C_6 烷基酯、 C_3-C_6 烷酮基、 C_1-C_6 烷氧羰基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基羰基、 C_3-C_7 环烷基和 4 元至 7 元杂环烷基。

5. 下式的化合物 :



或其可药用盐或水合物, 其中 :

A、B、D 和 E 独立地是 N 或 CR_1 ; 使得  是芳香性的 ;

W、X 和 Y 独立地是 C 或 N ;

Z 是 CR_9 、N、 NR_3 、S 或 O ;

n 是 0、1、2 或 3 ;

m 是 0、1 或 2 ;

0 是 1 或 2 ;

每个 R_1 独立地是 :

(i) 氢、氨基、卤素、氰基、羟基、硝基或氧代基 ; 或者

(ii) C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、(C_3-C_8 环烷基) C_0-C_2 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_1-C_6 烷基磺酰基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基 C_0-C_4 烷基、苯基 C_0-C_2 烷基或 (5 元至 7 元杂环) C_0-C_2 烷基 ; 其各自未被取代或者被氧代基、 C_1-C_6 烷基或 C_1-C_6 烷氧基取代 ;

R_2 代表 0 至 4 个独立选自 C_2-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、(C_3-C_8 环烷基) C_0-C_2 烷基、 C_1-C_6 卤代烷基和一起形成 C_1-C_3 亚烷基桥的基团的取代基 ;

R_3 是氢、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_2-C_6 氨基烷基或者单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基 C_2-C_6 烷基 ;

R_4 和 R_5 :

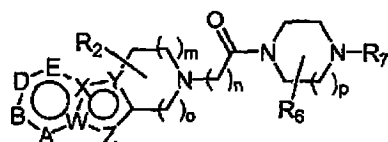
(i) 独立地选自 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基和 C_2-C_6 烷基醚 ; 其各自被 0 至 4 个独立选自氨基、氰基、氧代基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基羰基和 5 元至 7 元杂环烷基的取代基所取代 ; 使得 R_4 和 R_5 至少之一被含氮杂环或胺所取代 ; 或者

(ii) 一起形成 4 元至 10 元杂环烷基, 其被 0 至 4 个独立地选自以下的取代基所取代 : C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基 C_0-C_2 烷基、(C_3-C_8 环烷基) C_0-C_2 烷基、苯基 C_0-C_2 烷基、(4 元至 7 元杂环烷基) C_0-C_2 烷基和一起形成 C_1-C_3 亚烷基桥的基团 ; 其各自被 0 至 4 个独立地选自以下的取代基所取代 : 氧代基、硝

基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_1-C_6 烷酰基、 C_3-C_6 烷酮基、 C_1-C_6 烷氧羰基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基羰基、 C_3-C_7 环烷基和 4 元至 7 元杂环烷基 ; 以及

R_9 是氢、氨基、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_1-C_6 氨基烷基或者单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基 C_0-C_6 烷基。

6. 权利要求 5 的化合物或其盐或水合物, 其中所述化合物符合下式 :



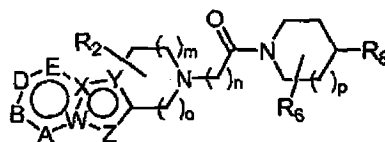
其中 :

p 是 1、2 或 3 ;

R_6 代表 0 至 4 个独立地选自 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 卤代烷基和一起形成 C_1-C_3 亚烷基桥的基团的取代基 ;

R_7 是 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、(C_3-C_8 环烷基) C_0-C_2 烷基、苯基 C_0-C_2 烷基或 (4 元至 8 元杂环烷基) C_0-C_2 烷基, 其各自被 0 至 4 个独立地选自以下的取代基所取代 : 氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_1-C_6 烷酰基、 C_3-C_6 烷酮基、 C_1-C_6 烷氧羰基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基羰基、 C_3-C_7 环烷基和 4 元至 7 元杂环烷基。

7. 权利要求 5 的化合物或其盐或水合物, 其中所述化合物符合下式 :



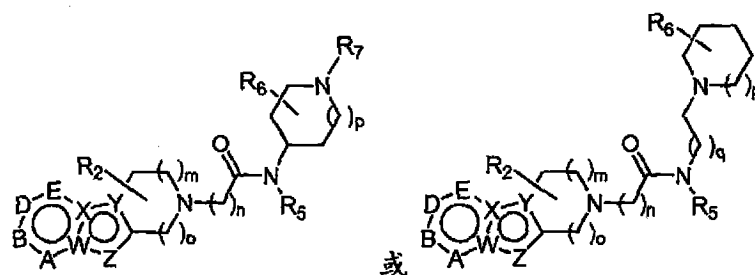
其中 :

p 是 0、1、2 或 3 ;

R_6 代表 0 至 4 个独立选自 C_1-C_6 烷基、 C_1-C_6 卤代烷基和一起形成 C_1-C_3 亚烷基桥的基团的取代基 ; 以及

R_8 是单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基 C_0-C_2 烷基或者 (4 元至 8 元杂环烷基) C_0-C_2 烷基, 其各自被 0 至 4 个独立地选自以下的取代基所取代 : 氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_1-C_6 烷酰基、 C_3-C_6 烷酮基、 C_1-C_6 烷氧羰基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基羰基、 C_3-C_7 环烷基和 4 元至 7 元杂环烷基。

8. 权利要求 5 的化合物或其盐或水合物, 其中所述化合物符合下式 :



其中：

p 和 q 独立地是 1、2 或 3；

R₆ 代表 0 至 4 个独立地选自 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 卤代烷基和一起形成 C₁-C₃ 亚烷基桥的基团的取代基；以及

R₇ 是 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、(C₃-C₈ 环烷基)C₀-C₂ 烷基、苯基 C₀-C₂ 烷基或 (4 元至 8 元杂环烷基)C₀-C₂ 烷基，其各自被 0 至 4 个独立地选自以下的取代基所取代：氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₁-C₆ 卤代烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、C₁-C₆ 烷硫基、C₂-C₆ 烷基醚、C₁-C₆ 烷酰基、C₃-C₆ 烷酮基、C₁-C₆ 烷氧羰基、单-或二-(C₁-C₆ 烷基)氨基、单-或二-(C₁-C₆ 烷基)氨基羰基、C₃-C₇ 环烷基和 4 元至 7 元杂环烷基。

9. 权利要求 5-8 中任一项的化合物或其盐或水合物，其中：

X、W 和 Y 是碳；以及

Z 是氧或硫。

10. 权利要求 5-8 中任一项的化合物或其盐或水合物，其中：

X、W 和 Y 是碳；以及

Z 是氮或 NR₃。

11. 权利要求 5-8 中任一项的化合物或其盐或水合物，其中：

X 和 W 是碳；

Y 是氮；以及

Z 是氮或 NR₃。

12. 权利要求 5-8 中任一项的化合物或其盐或水合物，其中：

X 和 W 是碳；

Y 是氮，以及

Z 是 CR₃。

13. 权利要求 5-11 中任一项的化合物或其盐或水合物，其中：

W 是碳；以及

A、B、D 和 E 中恰好一个是氮。

14. 权利要求 5-11 中任一项的化合物或其盐或水合物，其中：

W 是碳；

A 是氮；以及

B、D 和 E 中恰好一个是氮。

15. 权利要求 5-12 中任一项的化合物或其盐或水合物，其中 A、B、D 和 E 独立地选自

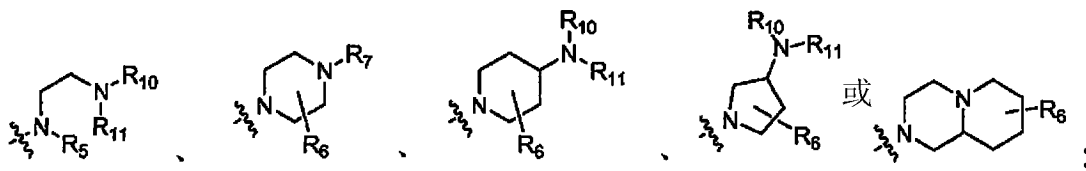
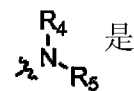
CR₁。

16. 权利要求 5-12 中任一项的化合物或其盐或水合物, 其中:

A 是碳; 以及

B、D 和 E 中恰好两个是氮。

17. 权利要求 1、5 或 9-16 中任一项的化合物或其盐或水合物, 其中:



R₅ 是氢或 C₁-C₆ 烷基;

R₆ 代表 0-2 个独立地选自 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷基的取代基;

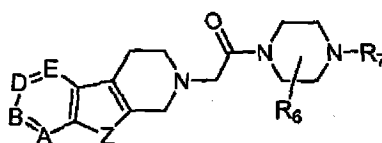
R₇ 是环丙基、环丁基、环戊基、环己基或 C₃-C₆ 烷基; 以及

R₁₀ 和 R₁₁ 独立地选自:

(i) 氢; 和

(ii) C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、(C₃-C₈ 环烷基)C₀-C₂ 烷基以及一起形成 4 元至 7 元杂环烷基的基团, 其各自被 0 至 4 个独立地选自氧代基、氨基、氰基、C₁-C₄ 烷基单-或二-(C₁-C₄ 烷基) 氨基的取代基所取代。

18. 权利要求 5 的化合物或其盐或水合物, 其中所述化合物符合下式:



其中:

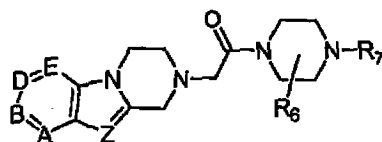
Z 是氧、硫或 NR₃;

A、B、D 和 E 独立地是氮或 CR₁; 使得 A、B、D 和 E 中恰有 0 个、1 个或 2 个是氮;

R₆ 代表 0 至 2 个独立地选自 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷基的取代基; 以及

R₇ 是环丙基、环丁基、环戊基、环己基或 C₃-C₆ 烷基。

19. 权利要求 5 的化合物或其盐或水合物, 其中所述化合物符合下式:



其中:

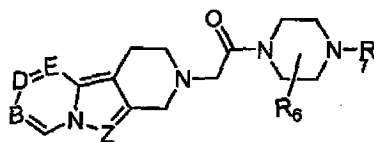
Z 是氮或 CR₃;

A、B、D 和 E 独立地是氮或 CR₁; 使得 A、B、D 和 E 中恰有 0 个、1 个或 2 个是氮;

R₆ 代表 0 至 2 个独立地选自 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷基的取代基; 以及

R₇ 是环丙基、环丁基、环戊基、环己基或 C₃-C₆ 烷基。

20. 权利要求 5 的化合物或其盐或水合物, 其中所述化合物符合下式:



其中：

Z 是氮或 CR_3 ；

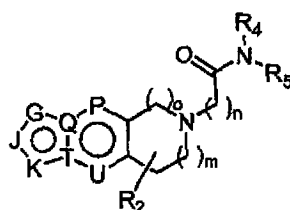
B、D 和 E 独立地是氮或 CR_1 ；使得 B、D 和 E 中恰有 0 个、1 个或 2 个是氮；

R_6 代表 0 至 2 个独立地选自 C_1 - C_6 烷基和 C_1 - C_6 卤代烷基的取代基；以及

R_7 是环丙基、环丁基、环戊基、环己基或 C_3 - C_6 烷基。

21. 权利要求 1-20 中任一项的化合物或其盐或水合物，其中每个 R_1 独立地选自氢、卤素、氰基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 卤代烷基、(C_3 - C_8 环烷基) C_0 - C_2 烷基、 C_2 - C_6 烷基醚、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷酰基、单-或二-(C_1 - C_6 烷基) 氨基和单-或二-(C_1 - C_6 烷基) 氨基羰基。

22. 下式的化合物：



或者其可药用盐或水合物，其中：

G、J 和 K 独立地是氮、氧、硫或 CR_1 ；

Q 和 T 独立地是碳或氮；

P 和 U 独立地是 CR_3 或氮；

n 是 0、1、2 或 3；

m 是 0、1 或 2；

o 是 1 或 2；

每个 R_1 独立地是：

(i) 氢、氨基、卤素、氰基、羟基、硝基或氧代基；或者

(ii) C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、(C_3 - C_8 环烷基) C_0 - C_2 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 卤代烷基、 C_2 - C_6 烷基醚、 C_1 - C_6 烷基磺酰基、单-或二-(C_1 - C_6 烷基) 氨基 C_0 - C_4 烷基、苯基 C_0 - C_2 烷基或者 (5 元至 7 元杂环) C_0 - C_2 烷基；其各自未被取代或者被氧代基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_6 烷氧基所取代；

R_2 代表 0 至 4 个独立地选自 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、(C_3 - C_8 环烷基) C_0 - C_2 烷基、 C_1 - C_6 卤代烷基和一起形成 C_1 - C_3 亚烷基桥的基团的取代基；

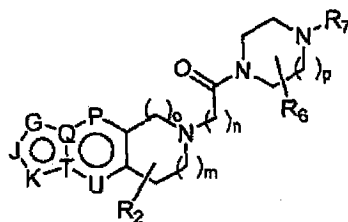
R_3 是氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 卤代烷基、 C_2 - C_6 烷基醚、 C_2 - C_6 氨基烷基或者单-或二-(C_1 - C_6 烷基) 氨基 C_2 - C_6 烷基；

R_4 和 R_5 ：

(i) 独立地选自 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 卤代烷基和 C_2 - C_6 烷基醚；其各自被 0 至 4 个独立地选自氨基、氰基、氧代基、单-或二-(C_1 - C_6 烷基) 氨基、单-或二-(C_1 - C_6 烷基) 氨基羰基和 5 元至 7 元杂环烷基的取代基所取代；使得 R_4 和 R_5 至少之一被含氮杂环或胺所取代；或者

(ii) 一起形成 4 元至 10 元杂环烷基, 其被 0 至 4 个独立地选自 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 卤代烷基、单 - 或二 - (C_1 - C_6 烷基) 氨基 C_0 - C_2 烷基、(C_3 - C_8 环烷基) C_0 - C_2 烷基、苯基 C_0 - C_2 烷基、(4 元至 7 元杂环烷基) C_0 - C_2 烷基和一起形成 C_1 - C_3 亚烷基桥之基团的取代基所取代; 其各自被 0 至 4 个独立地选自氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_1 - C_6 卤代烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 卤代烷氧基、 C_1 - C_6 烷硫基、 C_2 - C_6 烷基醚、 C_1 - C_6 烷基酯、 C_3 - C_6 烷酮基、 C_1 - C_6 烷氧羰基、单 - 或二 - (C_1 - C_6 烷基) 氨基、单 - 或二 - (C_1 - C_6 烷基) 氨基羰基、 C_3 - C_7 环烷基和 4 元至 7 元杂环烷基的取代基所取代。

23. 权利要求 22 的化合物或其盐或水合物, 其中所述化合物符合下式:



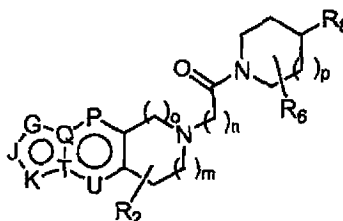
其中:

p 是 1、2 或 3;

R_6 代表 0 至 4 个独立地选自 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 卤代烷基和一起形成 C_1 - C_3 亚烷基桥的基团的取代基;

R_7 是 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、(C_3 - C_8 环烷基) C_0 - C_2 烷基、苯基 C_0 - C_2 烷基或 (4 元至 8 元杂环烷基) C_0 - C_2 烷基, 其各自被 0 至 4 个独立地选自氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_1 - C_6 卤代烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 卤代烷氧基、 C_1 - C_6 烷硫基、 C_2 - C_6 烷基醚、 C_1 - C_6 烷基酯、 C_3 - C_6 烷酮基、 C_1 - C_6 烷氧羰基、单 - 或二 - (C_1 - C_6 烷基) 氨基、单 - 或二 - (C_1 - C_6 烷基) 氨基羰基、 C_3 - C_7 环烷基和 4 元至 7 元杂环烷基的取代基所取代。

24. 权利要求 22 的化合物或其盐或水合物, 其中所述化合物符合下式:



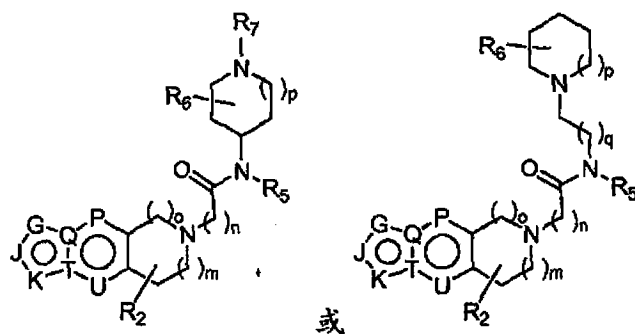
其中:

p 是 0、1、2 或 3;

R_6 代表 0 至 4 个独立地选自 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 卤代烷基和一起形成 C_1 - C_3 亚烷基桥的基团的取代基; 以及

R_8 是单 - 或二 - (C_1 - C_6 烷基) 氨基 C_0 - C_2 烷基或者 (4 元至 8 元杂环烷基) C_0 - C_2 烷基, 其各自被 0 至 4 个独立地选自氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_1 - C_6 卤代烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 卤代烷氧基、 C_1 - C_6 烷硫基、 C_2 - C_6 烷基醚、 C_1 - C_6 烷基酯、 C_3 - C_6 烷酮基、 C_1 - C_6 烷氧羰基、单 - 或二 - (C_1 - C_6 烷基) 氨基、单 - 或二 - (C_1 - C_6 烷基) 氨基羰基、 C_3 - C_7 环烷基和 4 元至 7 元杂环烷基的取代基所取代。

25. 权利要求 22 的化合物或其盐或水合物, 其中所述化合物符合下式:



其中：

p 和 q 独立地是 0、1、2 或 3；

R₆ 代表 0 至 4 个独立选自 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 卤代烷基和一起形成 C₁-C₃ 亚烷基桥的基团的取代基；以及

R₇ 是 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、(C₃-C₈ 环烷基)C₀-C₂ 烷基、苯基 C₀-C₂ 烷基或 (4 元至 8 元杂环烷基)C₀-C₂ 烷基，其各自被 0 至 4 个独立地选自氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₁-C₆ 卤代烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、C₁-C₆ 烷硫基、C₂-C₆ 烷基醚、C₁-C₆ 烷基酯、C₃-C₆ 烷酮基、C₁-C₆ 烷氧羰基、单-或二-(C₁-C₆ 烷基)氨基、单-或二-(C₁-C₆ 烷基)氨基羰基、C₃-C₇ 环烷基和 4 元至 7 元杂环烷基的取代基所取代。

26. 权利要求 22-25 中任一项的化合物或其盐或水合物，其中：

Q 和 U 是氮；

T 是碳；以及

P 是 CH。

27. 权利要求 22-25 中任一项的化合物或其盐或水合物，其中：

P 和 T 是氮；

Q 是碳；以及

U 是 CH。

28. 权利要求 22-27 中任一项的化合物或其盐或水合物，其中：

G 是氮；以及

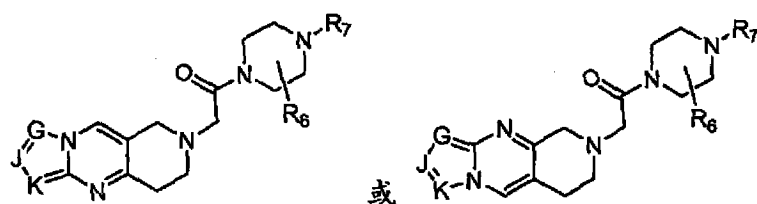
J 和 K 是 CH。

29. 权利要求 22-27 中任一项的化合物或其盐或水合物，其中：

K 是氮；以及

J 和 G 是 CH。

30. 权利要求 22 的化合物或其盐或水合物，其中所述化合物符合下式：

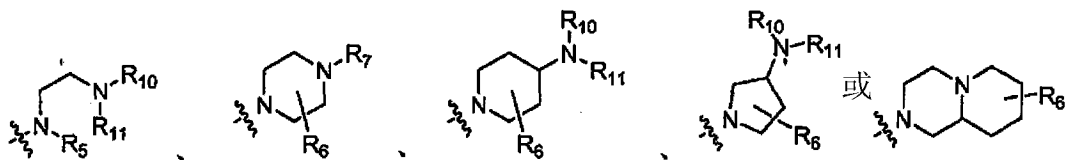
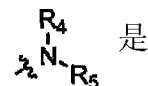


其中：

G、J 和 K 独立地是氮或 CR₁；使得 G、J 和 K 中恰有 0 个、1 个或 2 个是氮；

R_6 表示 0 至 2 个独立地选自 C_1 - C_6 烷基和 C_1 - C_6 卤代烷基的取代基；以及
 R_7 是环丙基、环丁基、环戊基、环己基或者 C_3 - C_6 烷基。

31. 权利要求 22 的化合物或其盐或水合物，其中：



R_6 代表 0-2 个独立地选自 C_1 - C_6 烷基和 C_1 - C_6 卤代烷基的取代基；

R_7 是环丙基、环丁基、环戊基、环己基或 C_3 - C_6 烷基；

R_5 是氢或 C_1 - C_6 烷基；以及

R_{10} 和 R_{11} 独立地选自：

(i) 氢；和

(ii) C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、(C_3 - C_8 环烷基) C_0 - C_2 烷基以及一起形成 4 元至 7 元杂环烷基的基团，其各自被 0 至 4 个独立地选自氧代基、氨基、氰基、 C_1 - C_4 烷基单-或二-(C_1 - C_4 烷基) 氨基的取代基所取代。

32. 根据权利要求 22-31 中任一项的化合物或其盐或水合物，其中每个 R_1 独立地选自氢、卤素、氰基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 卤代烷基、(C_3 - C_8 环烷基) C_0 - C_2 烷基、 C_2 - C_6 烷基醚、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基酯、单-或二-(C_1 - C_6 烷基) 氨基和单-或二-(C_1 - C_6 烷基) 氨基羰基。

33. 根据权利要求 1-32 中任一项的化合物或其盐或水合物，其中所述化合物能够表现出 1 微摩尔/升或更小的 K^i 值，如使用 H3 受体 GTP 结合测定所测定的。

34. 根据权利要求 33 的化合物或其盐或水合物，其中所述化合物能够表现出 100 纳摩尔/升或更小的 K^i 值，如使用 H3 受体 GTP 结合测定所测定的。

35. 一种药物组合物，其包含根据权利要求 1-34 中任一项的至少一种化合物或盐以及生理可接受载体或赋形剂。

36. 根据权利要求 35 的药物组合物，其中所述组合物被配制成可注射流体、气雾剂、乳膏、凝胶剂、丸剂、胶囊剂、糖浆剂或透皮贴剂的形式。

37. 一种用于治疗患者中响应于 H3 受体调节的病症的方法，其包括将治疗有效量的根据权利要求 1-34 中任一项的化合物或其盐或水合物施用给所述患者，由此减轻患者中的所述病症。

38. 根据权利要求 37 的方法，其中所述化合物显示出 H3 受体拮抗剂活性。

39. 根据权利要求 37 的方法，其中所述疾病是注意力缺陷障碍、注意力缺陷多动症、痴呆、精神分裂症、认知障碍、癫痫、偏头痛、过度日间嗜睡、换班工作睡眠障碍、时差综合症、疲劳或疲劳相关疾病、发作性睡病、睡眠呼吸暂停、过敏性鼻炎、眩晕、晕动病、记忆障碍或帕金森病。

40. 根据权利要求 37 的方法，其中所述疾病是肥胖症、进食障碍或糖尿病。

41. 根据权利要求 36-40 中任一项的方法，其中所述患者是人。

42. 根据权利要求 1-32 中任一项的化合物或其盐或水合物，其中所述化合物或盐是放射性标记的。

43. 一种用于确定样品中是否存在 H3 受体的方法,其包括以下步骤:

(a) 在允许权利要求 1-32 中任一项的化合物或其盐或水合物与 H3 受体结合的条件下使样品与权利要求 1-32 中任一项的化合物或其盐或水合物相接触;和

(b) 检测与 H3 受体结合的所述化合物的水平,由此确定样品中是否存在 H3 受体。

44. 根据权利要求 43 的方法,其中所述化合物是放射性标记的,其中所述检测步骤包括以下步骤:

(i) 将未结合的化合物与结合的化合物分离开;和

(ii) 检测样品中是否存在结合的化合物。

45. 一种经包装药物制剂,其包含:

(a) 在容器中的根据权利要求 35 的药物组合物;和

(b) 使用所述组合物治疗患者中响应于 H3 受体调节的疾病的说明。

46. 根据权利要求 45 的经包装药物制剂,其中所述疾病是注意力缺陷障碍、注意力缺陷多动症、痴呆、精神分裂症、认知障碍、癫痫、偏头痛、过度日间嗜睡、换班工作睡眠障碍、时差综合症、疲劳或疲劳相关疾病、发作性睡病、睡眠呼吸暂停、过敏性鼻炎、眩晕、晕动病、记忆障碍或帕金森病。

47. 根据权利要求 45 的经包装药物制剂,其中所述疾病是肥胖症、进食障碍或糖尿病。

48. 根据权利要求 1-34 中任一项的化合物或盐在制备用于治疗响应于 H3 受体调节的疾病的药物中的用途。

49. 根据权利要求 48 的用途,其中所述疾病是注意力缺陷障碍、注意力缺陷多动症、痴呆、精神分裂症、认知障碍、癫痫、偏头痛、过度日间嗜睡、换班工作睡眠障碍、时差综合症、疲劳或疲劳相关疾病、发作性睡病、睡眠呼吸暂停、过敏性鼻炎、眩晕、晕动病、记忆障碍或帕金森病。

50. 根据权利要求 48 的用途,其中所述疾病是肥胖症、进食障碍或糖尿病。

51. 根据权利要求 1 的化合物或其盐或水合物,其中所述化合物是:

1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(1,2-二氢-4H-3,8a,9-三氮杂-芴-3-基)-乙酮;

1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮;

1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(3,4-二氢-1H-苯并[4,5]呋喃并[2,3-c]吡啶-2-基)-乙酮;

1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(3,4-二氢-1H-苯并[4,5]噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)-乙酮;

1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮;

2-[2-(1,3'-联吡咯烷-1'-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉;

2-[2-(1,4'-联哌啶-1'-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉;

2-[2-(2-甲基-1,4'-联哌啶-1'-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉;

2-[2-(4-烯丙基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉;

2-[2-(4-丁基-1,4-二氮杂-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉;

2-[2-(4-丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉;

2-[2-(4-环丁基-1,4-二氮䓬-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉-6-腈；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-5-氟-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6-氟-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6-氟-9-甲基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6-甲氧基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6-甲氧基-9-甲基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6-甲基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6-嘧啶-5-基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-7-氟-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-7-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1H-吡啶并[4,3-b]吡啶；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-7-嘧啶-5-基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-8-氟-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-8-甲氧基-1,2,3,4-四氢吡嗪并[1,2-a]吡啶；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-(2,2,2-三氟乙基)-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-乙基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-异丙基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-甲基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-苯基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-丙基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环己基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-环戊基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-异丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-异丙基-1,4-二氮䓬-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-异丙基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(4-丙基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉；
2-[2-(6-甲基八氢-2H-吡啶并[1,2-a]吡嗪-2-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1571H-β-咔啉；

2-[2-(八氢-2H-吡啶并[1,2-a]吡嗪-2-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咪啉;

2-[2-氧代-2-(4-吡咯烷-1-基哌啶-1-基)乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咪啉;

2-{2-[4-(2-甲基环戊基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙基}-2,3,4,9-四氢-1H-β-咪啉;

2-{2-氧代-2-[4-(1-苯基乙基)哌嗪-1-基]乙基}-2,3,4,9-四氢-1H-β-咪啉;

2-{2-氧代-2-[4-(2-哌啶-1-基乙基)哌嗪-1-基]乙基}-2,3,4,9-四氢-1H-β-咪啉;

2-{2-氧代-2-[4-(2-吡咯烷-1-基乙基)哌嗪-1-基]乙基}-2,3,4,9-四氢-1H-β-咪啉;

2-{2-氧代-2-[4-(3-哌啶-1-基丙基)哌嗪-1-基]乙基}-2,3,4,9-四氢-1H-β-咪啉;

2-{2-氧代-2-[4-(3-吡咯烷-1-基丙基)哌嗪-1-基]乙基}-2,3,4,9-四氢-1H-β-咪啉;

2-{2-氧代-2-[4-(四氢-2H-吡喃-4-基)哌嗪-1-基]乙基}-2,3,4,9-四氢-1H-β-咪啉;

6-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,5-a]吡啶并[3,4-d]嘧啶;

6-溴-2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咪啉;

7-[2-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-3-甲基-5,6,7,8-四氢-3H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-4-酮;

7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,5-a]吡啶并[4,3-d]嘧啶;

7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-甲基-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-b]吡啶;

N-(1-甲基哌啶-4-基)-N-乙基-2-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咪啉-2-基)乙酰胺;

N-(1-甲基哌啶-4-基)-N-丙基-2-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咪啉-2-基)乙酰胺;

N-(2-甲氧基乙基)-N-(1-甲基哌啶-4-基)-2-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咪啉-2-基)乙酰胺;

N-(环丙基甲基)-N-丙基-1-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咪啉-2-基乙酰基)哌啶-4-胺;

N,N-二乙基-1-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咪啉-2-基乙酰基)哌啶-4-胺;

N,N-二乙基-1-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咪啉-2-基乙酰基)吡咯烷-3-胺;

N-[2-(二甲基氨基)乙基]-N-甲基-2-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咪啉-2-基)乙酰胺;

N-[3-(二甲基氨基)丙基]-N-(1-甲基哌啶-4-基)-2-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咪啉-2-基)乙酰胺;或

N-甲基-N-(1-乙基哌啶-4-基)-2-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咪啉-2-基)乙酰胺。

哌嗪基氧代烷基四氢-β-咔啉及相关类似物

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2007 年 6 月 25 日提交的美国临时专利申请 No. 60/945,959 的权益，其在此通过引用以整体并入本文。

技术领域

[0003] 本发明一般性涉及哌嗪基氧代烷基四氢-β-咔啉及相关类似物，以及这些化合物用于治疗响应于组胺 H3 受体调节的病症的用途。本发明还涉及这些化合物作为检测和定位组胺 H3 受体的探针的用途。

背景技术

[0004] 激素和神经递质经常通过位于活细胞表面的特定受体蛋白调节多种生物功能。许多这些受体通过活化偶联的鸟苷三磷酸结合蛋白 (G 蛋白) 来进行细胞内信号传递；这些受体总称为 G 蛋白偶联受体或 GPCR。GPCR 在调节细胞和器官功能上的重要作用引起了对这些受体作为新药剂靶标的关注。

[0005] 组胺是一种多功能化学递质，其通过特定细胞表面 GPCR 传递信号。迄今为止，已经鉴定出四种组胺受体亚型：H1、H2、H3 和 H4。组胺 H3 受体是突触前 GPCR，其主要存在于中枢神经系统中，但是其也以较低水平存在于外周神经系统中。据报道编码 H3 受体的基因存在于包括人在内的多种生物中（参见 Lovenberg 等人，(1999) *Molecular Pharmacology* 55: 1101-07），此基因的选择性剪接似乎得到多种同工型。组胺 H3 受体是自受体和异受体，其活化导致从脑中神经元释放的神经递质（包括组胺、乙酰胆碱、去甲肾上腺素和谷氨酸）减少。组胺 H3 受体参与对例如睡眠和觉醒、进食和记忆等过程的调节。

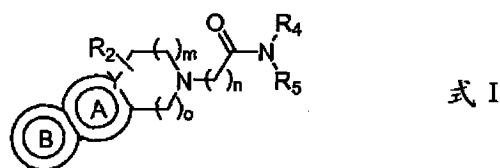
[0006] 组胺 H3 受体的拮抗剂增加脑中组胺及其他神经递质的合成和释放，引起觉醒的延长、认知过程改善、进食减少和前庭反射正常化。这些拮抗剂可例如用作下列疾病的治疗剂：例如中枢神经系统疾病比如阿尔茨海默病、帕金森病、精神分裂症；情绪和注意力改变包括注意力缺陷多动症以及注意力缺陷疾病；记忆和学习疾病；认知障碍（例如轻度认知障碍和精神病理学中的认知障碍）；癫痫症；偏头痛以及与睡眠和觉醒调节相关的疾病，以及用于治疗 and 预防例如肥胖、进食障碍、糖尿病、眩晕、运动性疾病和过敏性鼻炎的病症。

[0007] 因此，需要新的 H3 受体调节剂。本发明满足了此需求，并提供了另外的相关优点。

发明内容

[0008] 在某些方面，本发明提供了式 I 的哌嗪基氧代烷基四氢-β-咔啉及相关类似物：

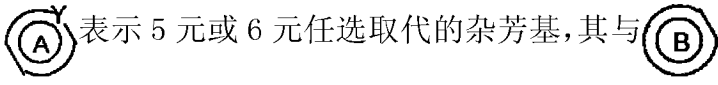
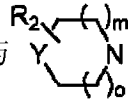
[0009]



[0010] 包括其可药用盐、溶剂化物（例如水合物）以及酯。

[0011] 在式 I 中：

[0012] Y 是 C 或 N；

[0013]  表示 5 元或 6 元任选取代的杂芳基，其与  表示的环稠合，还与  表示的环稠合；

[0014]  表示苯基或 5 元或 6 元杂芳基，其与  表示的环稠合，每个苯基或杂芳基是任选取代的，优选被 0 至 4 个独立地选自下列的取代基取代：

[0015] (i) 氢、氨基、卤素、氰基、羟基、硝基和氧代基；以及

[0016] (ii) C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、(C_3-C_8 环烷基) C_0-C_2 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_1-C_6 烷基磺酰基、单-或二- (C_1-C_6 烷基) 氨基 C_0-C_4 烷基、苯基 C_0-C_2 烷基或者 (5 元至 7 元杂环) C_0-C_2 烷基；其各自是未取代的或者被氧代基、 C_1-C_6 烷基或者 C_1-C_6 烷氧基取代；

[0017] n 是 0、1、2 或 3；

[0018] m 是 0、1 或 2；

[0019] o 是 1 或 2；

[0020] R_2 代表 0 至 4 个独立地选自下列的取代基： C_1-C_6 烷基（例如 C_2-C_6 烷基或者 C_3-C_6 烷基）、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、(C_3-C_8 环烷基) C_0-C_2 烷基、 C_1-C_6 卤代烷基以及一起形成 C_1-C_3 亚烷基桥的基团；

[0021] R_4 和 R_5 ：

[0022] (i) 独立地选自： C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基和 C_2-C_6 烷基醚；其各自被 0 至 4 个独立地选自下列的取代基取代：氨基、氰基、氧代基、单-或二- (C_1-C_6 烷基) 氨基、单-或二- (C_1-C_6 烷基) 氨基羰基以及 5 元至 7 元杂环烷基；使得 R_4 和 R_5 至少之一被含氮杂环或胺基取代；或者

[0023] (ii) 一起形成 4 元至 10 元杂环烷基，其被 0 至 4 个独立地选自下列的取代基取代： C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基、单-或二- (C_1-C_6 烷基) 氨基 C_0-C_2 烷基、(C_3-C_8 环烷基) C_0-C_2 烷基、苯基 C_0-C_2 烷基 (4 元至 8 元杂环烷基) C_0-C_2 烷基以及一起形成 C_1-C_3 亚烷基桥的基团；其各自被 0 至 4 个独立选自下列的取代基取代：氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_1-C_6 烷酰基、 C_3-C_6 烷酮基、 C_1-C_6 烷氧羰基、单-或二- (C_1-C_6 烷基) 氨基、单-或二- (C_1-C_6 烷基) 氨基羰基、 C_3-C_7 环烷基以及 4 元至 7 元杂环烷基。

[0024] 在某些方面中，本文提供的哌嗪基氧代烷基四氢-β-咔啉及相关类似物是 H3 受体调节剂，其表现出对组胺 H3 受体（优选人 H3 受体）的 K_i 不大于 4 微摩尔/升、1 微摩尔/升、500 纳摩尔/升、100 纳摩尔/升、50 纳摩尔/升或 10 纳摩尔/升，如使用针对 H3 受体 GTP 结合的检测所测定的。

[0025] 在某些方面中，用可检测标记（例如放射性或荧光素缀合的）来标记本文提供的哌嗪基氧代烷基四氢-β-咔啉及相关类似物。

[0026] 在另一些方面,本发明还提供了包含至少一种本文所提供的哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉或相关类似物与生理上可接受载体或赋形剂的药物组合物。

[0027] 在另一些方面,提供了用于调节 H3 受体活性的方法,其包括使表达 H3 受体的细胞(例如神经元)与如本文所述的至少一种 H3 受体调节剂相接触。此接触可在体内或体外发生,一般使用一定浓度的足以改变 H3 受体 GTP 结合的化合物在体外进行(例如使用本文实施例 7 所提供的测定)。

[0028] 本发明还提供了用于治疗患者中响应于 H3 受体调节的病症的方法,其包括向所述患者施用治疗有效量的至少一种 H3 受体调节剂。这些病症包括例如注意力缺陷疾病;注意力缺陷多动疾病;痴呆;精神分裂症;认知障碍(例如轻度认知障碍);癫痫症;偏头痛;过度日间嗜睡(EDS)及相关疾病例如换班工作疾病、疲劳和疲劳相关疾病、时差综合症、发作性睡病、睡眠呼吸暂停、过敏性鼻炎、眩晕、晕动病;记忆障碍例如阿尔茨海默病;帕金森病;肥胖;进食障碍和糖尿病。

[0029] 在另一些方面中,本发明提供了用于测定样品中是否存在 H3 受体的方法,其包括:(a) 使样品在允许如本文所述的 H3 受体调节剂与 H3 受体结合的条件下与所述 H3 受体调节剂相接触;和(b) 检测与 H3 受体结合的所述 H3 调节剂的水平。

[0030] 本发明还提供了经包装药物制剂,其包含:(a) 在容器中的如本发明所述的药物组合物;和(b) 使用所述组合物治疗一种或多种响应于 H3 受体调节的病症(例如本文所述病症)的说明。

[0031] 在另一个方面,本发明提供了制备本文所公开的化合物包括中间体的方法。

[0032] 参考下述详细说明将使本发明的这些方面及其它方面更加明显。

[0033] 发明详述

[0034] 如上所述,本发明提供了哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉及相关类似物。这些化合物可在多种背景下体外或体内用于调节 H3 受体活性。

[0035] 术语

[0036] 本文中一般使用标准命名描述化合物。对于具有不对称中心的化合物而言,应该理解的是(除非另作说明)涵盖其所有光学异构体和混合物。另外,具有碳-碳双键的化合物可以是 Z 型和 E 型,除非另有说明,化合物的所有同分异构体形式均包含在本发明中。当化合物以多种互变异构形式存在时,所述化合物不限于任何一种具体的互变异构体,而是旨在涵盖所有互变异构形式。本发明中使用包含变量(例如 R_1 、Z 等)的通式描述某些化合物。除非另作说明,在这些式中的各个变量是独立于任何其它变量定义的,式中出现超过一次的任何变量每次出现都是独立定义的。

[0037] 本文所使用的短语“哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉及相关类似物”涵盖式 I 的所有化合物,包括任何对映体、外消旋体和立体异构体以及这些化合物的可药用盐,溶剂化物(例如水合物)和酯。

[0038] 本文所述化合物的“可药用盐”是酸盐或碱盐,其适用于接触人或动物的组织而没有过度的毒性或致癌性,优选没有刺激、过敏反应或其它问题或并发症。这些盐包括碱性残基(例如胺)的矿酸盐和有机酸盐,以及酸性残基(例如羧酸)的碱性或有机盐。用于成盐的具体的可药用阴离子包括但不限于:醋酸根、2-乙酰氧基苯甲酸根、抗坏血酸根、苯甲酸根、碳酸氢根、溴离子、乙二胺四乙酸钙离子、碳酸根、氯离子、柠檬酸根、二盐酸根、

二磷酸根 (diphosphate)、二酒石酸根 (ditartrate)、乙二胺四乙酸根 (edetate)、依托酸根 (乙基琥珀酸根)、甲酸根、延胡索酸根、葡庚糖酸根、葡萄糖酸根、谷氨酸根、乙醇酸根、乙醇酰基对氨基苯砷酸根 (glycollylarsanilate)、己基间苯二酚根 (hexylresorcinate)、海巴明根 (hydrabamine)、氢溴酸根、盐酸根、氢碘酸根、羟基马来酸根、羟基萘酸根 (hydroxynaphthoate)、氢碘酸根、羟乙基磺酸根、乳酸根、乳糖酸根 (lactobionate)、苹果酸根、马来酸根、扁桃酸根、甲基溴离子、甲基硝酸根、甲基硫酸根、粘酸根、萘磺酸根、硝酸根、双羟基萘酸根、泛酸根、苯乙酸根、磷酸根、聚半乳糖醛酸根、丙酸根、水杨酸根、硬脂酸根、碱式醋酸根、琥珀酸根、氨基磺酸根、磺胺酸根、硫酸根、磺酸根包括苯磺酸根、右旋樟脑磺酸根 (樟脑磺酸根)、edisylate (乙烷 -1,2- 二磺酸根)、乙磺酸根 (乙烷磺酸根) 2- 羟基乙磺酸根、甲磺酸根 (甲烷磺酸根)、三氟甲磺酸根 (三氟甲烷磺酸根) 和甲苯磺酸根 (对甲苯磺酸根)、丹宁酸根、酒石酸根、茶氯酸根 (teoclolate) 和三乙基碘。类似地,用于成盐的可药用阳离子包括但不限于铵、二苄乙二胺、氯普鲁卡因、胆碱、二乙醇胺、乙二胺、葡甲胺、普鲁卡因和金属例如铝、钙、锂、镁、钾、钠和锌。本领域技术人员会分辨其它用于本文所提供化合物的可药用盐。一般来说,可药用酸盐或碱盐可通过任何常规化学法由含有碱性或酸性部分的母化合物合成。简要地,这些盐可通过游离酸或碱形式的这些化合物与化学计量的适当碱或酸在水中或有机溶剂中或其两者混合物中反应而制得;通常,优选使用非水介质,例如醚、乙酸乙酯、乙醇、甲醇、异丙醇或乙腈。

[0039] 显然,本文提供的每种化合物可以但不必须配制成溶剂化物 (例如水合物)、酯或非共价络合物的形式。另外,多种结晶形式和多晶型物在本发明的范围内。本文还提供了所述式的化合物的前药。“前药”是这样的化合物,其可以不完全满足本文所提供化合物的结构要求但是在施用给患者后在体内变化而产生本文所提供式的化合物。例如,前药可以是本文所提供化合物的酰基化衍生物。前药包括其中羟基、胺或巯基分别键合至任何基团的化合物,当施用给哺乳动物对象时,所述基团断裂而形成游离羟基、氨基或巯基。前药的实例包括但不限于酯,比如在本文提供的化合物中醇和胺官能团的醋酸酯、甲酸酯和苯甲酸酯衍生物。本文所提供的化合物的前药可通过对所述化合物中存在的官能团进行改性来制备,从而所述修饰在体内被断裂以产生所述母体化合物。

[0040] 本文中所用的术语“烷基”指直链的或支链饱和脂肪烃。烷基包括具有 1 至 8 个碳原子的基团 (C_1-C_8 烷基),具有 1 至 6 个碳原子的基团 (C_1-C_6 烷基) 以及具有 1 至 4 个碳原子的基团 (C_1-C_4 烷基),例如甲基、乙基、丙基、异丙基、正丁基、仲丁基、叔-丁基、戊基、2-戊基、异戊基、新戊基、己基、2-己基、3-己基和 3-甲基戊基。

[0041] 术语“亚烷基”指二价烷基基团,其可以是直链的或支链的。 C_1-C_4 亚烷基是具有 1 至 4 个碳原子的亚烷基。“ C_0-C_4 烷基”或“ C_0-C_4 亚烷基”是一个共价键 (C_0) 或者具有 1 至 4 个碳原子的亚烷基。

[0042] “烯基”指直链或支链烯基,其包含至少一个不饱和碳-碳双键。烯基包括 C_2-C_8 烯基、 C_2-C_6 烯基和 C_2-C_4 烯基,其分别具有 2-8、2-6 或者 2-4 个碳原子,例如乙烯基,烯丙基或者异丙烯基。“炔基”指直链或支链炔基,其具有一个或多个不饱和碳-碳键,至少其中一个是三键。炔基包括 C_2-C_8 炔基、 C_2-C_6 炔基和 C_2-C_4 炔基,其分别具有 2 至 8、2 至 6 或 2 至 4 个碳原子。

[0043] “环烷基”是包含一个或多个饱和和 / 或部分饱和环的基团,其中所有环成员都是

碳,例如环丙基、环丁基、环戊基、环己基、环庚基、环辛基、金刚烷基、十氢萘基、八氢茛基以及上述各基团的部分饱和的变化形式,例如环己烯基。环烷基不包括芳香环或杂环。“ $(C_3-C_8 \text{ 环烷基})C_0-C_2 \text{ 烷基}$ ”是通过一个共价键或者亚甲基或亚乙基连接的 C_3-C_8 环烷基; C_3-C_7 环烷基是直接连接的 3 元至 7 元环烷基。

[0044] 本文所用的“烷氧基”意为通过氧桥连接的烷基。“ C_1-C_6 烷氧基”在基团的烷基部分具有 1 至 6 个碳原子。甲氧基、乙氧基、丙氧基、异丙氧基、正丁氧基、仲丁氧基、叔丁氧基、正戊氧基、2-戊氧基、3-戊氧基、异戊氧基、新戊氧基、己氧基、2-己氧基、3-己氧基以及 3-甲基戊氧基是代表性的烷氧基。类似地,“烷硫基”指通过硫桥连接的烷基。

[0045] 术语“氧代基”在本文中用于指碳原子的氧取代基,其导致形成羰基($C=O$)。作为非芳香碳原子的取代基的氧代基团导致 $-CH_2-$ 转变为 $-C(=O)-$ 。作为芳香碳原子的取代基的氧代基团导致 $-CH-$ 转变为 $-C(=O)-$,并可导致芳香性的丧失。

[0046] 术语“烷酰基”指这样的酰基(例如 $-(C=O)-$ 烷基),其中碳原子呈直链或支链烷基排列,并且其连接是通过酮基碳进行的。烷酰基具有所示数目的碳原子,酮基碳包括在计数的碳原子之中。例如 C_2 烷酰基是乙酰基,其式为 $-(C=O)CH_3$;“ C_1 烷酰基”指 $-(C=O)H$ 。“ C_1-C_6 烷酰基”含 1 至 6 个碳原子。

[0047] “烷酮基”是其中碳原子呈直链或支链排列的酮基。“ C_3-C_6 烷酮基”指分别具有 3 至 6 个碳原子的烷酮基。例如, C_3 烷酮基具有结构 $-CH_2-(C=O)-CH_3$ 。

[0048] 类似地,“烷基醚”指直链或支链醚取代基(即被烷氧基取代的烷基)。 C_2 烷基醚具有结构 $-CH_2-O-CH_3$; C_2-C_6 烷基醚总共有 2、3、4、5 或 6 个碳原子。

[0049] 术语“烷氧羰基”指通过酮($-(C=O)-$)桥连接的烷氧基(即烷氧羰基具有通式 $-C(=O)-O-$ 烷基)。“ C_1 烷氧羰基”指 $-C(=O)-O-CH_3$; C_3 烷氧羰基指 $-C(=O)-O-(CH_2)_2CH_3$ 或 $-C(=O)-O-(CH)(CH_3)_2$ (即酮桥的碳不包括在所示碳原子数内)。“ C_1-C_6 烷氧羰基”在基团的烷基部分具有 1 至 6 个碳原子。

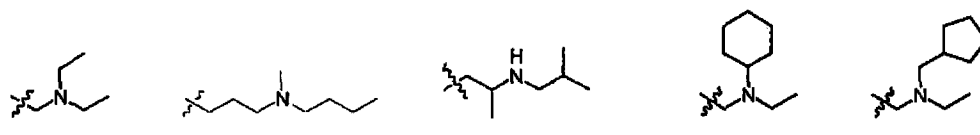
[0050] “烷基磺酰基”指式 $-(SO_2)-$ 烷基的基团,其中硫原子是连接点。“ C_1-C_6 烷基磺酰基”在烷基中具有 1 至 6 个碳原子。

[0051] 术语“氨基羰基”指酰胺基(即 $-(C=O)NH_2$)。术语“单-或二- $(C_1-C_6$ 烷基)氨基羰基”指式 $-(C=O)-N(R)_2$ 的基团,其中羰基是连接点,一个 R 是 C_1-C_6 烷基,另一个 R 是氢或独立选择的 C_1-C_6 烷基。

[0052] “烷基氨基”指仲氨或叔氨,其具有通用结构 $-NH-$ 烷基或 $-N(\text{烷基})(\text{烷基})$,其中每个烷基独立地选自烷基、环烷基和(环烷基)烷基。这些基团包括例如单-和二- $(C_1-C_6$ 烷基)氨基,其中每个 C_1-C_6 烷基可以相同或不同。

[0053] “烷基氨基烷基”指通过亚烷基连接的烷基氨基(即具有通用结构 $-$ 亚烷基 $-NH-$ 烷基或者 $-$ 亚烷基 $-N(\text{烷基})(\text{烷基})$),其中每个烷基独立地选自烷基、环烷基和(环烷基)烷基。烷基氨基烷基包括例如单-和二- $(C_1-C_8$ 烷基)氨基 C_1-C_8 烷基、单-和二- $(C_1-C_6$ 烷基)氨基 C_1-C_6 烷基以及单-和二- $(C_1-C_6$ 烷基)氨基 C_1-C_4 烷基。“单-或二- $(C_1-C_6$ 烷基)氨基 C_0-C_2 烷基”指通过一个共价键或亚甲基或亚乙基连接的单-和二- $(C_1-C_6$ 烷基)氨基。以下是代表性的烷基氨基烷基:

[0054]



[0055] 很明显,用于术语“烷基氨基”和“烷基氨基烷基”中的“烷基”的定义不同于用于所有其它含烷基基团的“烷基”的定义,包括环烷基和(环烷基)烷基(例如(C₃-C₇环烷基)C₀-C₆烷基)。

[0056] 术语“卤素”指氟、氯、溴或碘。

[0057] “卤代烷基”是被1个或多个卤素原子取代的烷基(例如,“C₁-C₆卤代烷基”具有1至6个碳原子)。卤代烷基的例子包括但不限于:单-、二-或三-氟甲基;单-、二-或三-氯甲基;单-、二-、三-、四-或五-氟乙基;单-、二-、三-、四-或五-氯乙基;以及1,2,2,2-四氟-1-三氟甲基-乙基。典型的卤代烷基是三氟甲基和二氟甲基。术语“卤代烷氧基”指如上所定义通过氧桥连接的卤代烷基。“C₁-C₆卤代烷氧基”具有1至6个碳原子。

[0058] 不是位于两个字母或符号之间的短横线(“-”)用于表示取代基的连接点。例如-CONH₂通过碳原子连接。

[0059] “碳环”或者“碳环基团”包括完全由碳-碳键形成的至少一个环(本文指碳环),并且不包括杂环。某些代表性碳环是如上所述的环烷基。其它碳环是芳基(即包含至少一个芳香环)。苯基C₀-C₂烷基是苯基、苯甲基或苯乙基部分。

[0060] “杂环”或“杂环基”具有1至3个稠环、侧环或螺环(通常总共有3至15个环成员),其中至少之一是杂环(即一个或多个环原子是独立选自O、S和N的杂原子,其余环原子是碳)。另外的环(如果存在的话)可以是杂环或碳环。通常,杂环包含1、2、3或4个杂原子;在某些实施方案中,每个杂环具有1或2个杂原子/环。每个杂环通常含有3至8个环成员(具有4或5至7个环成员中环在某些实施方案中描述),包含稠环、侧环或螺环的某些杂环含有9至14个环成员。某些杂环包含硫原子作为环成员;在某些实施方案中,硫原子被氧化成SO或SO₂。杂环可以任选地被多个取代基取代,如所示。除非另作说明,杂环可以是杂环烷基(即每个环是饱和或部分饱和的)或者是杂芳基(即所述基团中至少一个环是芳香性的),并且其可以通过任何环原子连接,只要得到稳定的化合物即可。

[0061] 杂环基包括例如吡啶基、氮杂环庚烷基、氮杂环辛烷基、苯并咪唑基、苯并咪唑啉基、苯并异噻唑基、苯并异噻唑基、苯并呋喃基、苯并硫代呋喃基、苯并噻吩基、苯并噻唑基、苯并噻唑基、苯并三唑基、苯并四唑基、NH-呋唑基、呋啉基、苯并二氢吡喃基、苯并呋喃基(chromenyl)、噌啉基、十氢喹啉基、二氢呋喃并[2,3-b]四氢呋喃、二氢异喹啉基、二氢四氢呋喃基、1,4-二氧杂-8-氮杂-螺[4,5]癸-8-基、二噻嗪基、呋喃基、呋吡基、咪唑啉基、咪唑烷基、咪唑基、吡唑基、indolenyl、二氢吡啶基、吡啶基、吡啶基、异苯并呋喃基、异苯并二氢呋喃基、异吡唑基、异吡啶基、异噻唑基、异噻唑基、异喹啉基、吗啉基、萘啶基、八氢异喹啉基、噁二唑基、噁唑烷基、噁唑基、菲啶基、菲啉基、吩嗪基、吩噻嗪基、吩噻噻基(phenoxathiinyl)、吩噻噻基、2,3-二氮杂萘基、哌嗪基、哌啶基、哌啶基、哌啶酮基、异氮杂茛基(pteridinyl)、嘌呤基、吡喃基、吡嗪基、吡唑烷基、吡唑啉基、吡唑基、哒嗪基、吡啶并咪唑基、吡啶并噻唑基、吡啶并噻唑基、吡啶基、嘧啶基、吡咯烷基、吡咯烷酮

基、吡咯啉基、吡咯基、喹啉基、喹啉基、喹啉基、奎宁环基、四氢异喹啉基、四氢喹啉基、四唑基、噻二嗪基、噻二唑基、噻嗯基、噻唑基、噻吩并噻唑基、噻吩并噻唑基、噻吩并咪唑基、噻吩基、苯硫基、硫代吗啉基以及其硫原子被氧化的变体、三嗪基、咕吨基以及如本文所述取代的上述任意基团。

[0062] 某些杂环是 5 元或 6 元杂芳基（例如吡啶基、嘧啶基和哒嗪基），其每个可以如所示地被取代。其他的杂环有 4 元至 8 元杂环烷基，其为如上所述的饱和或不饱和杂环，含有 4、5、6、7 或 8 个环成员。“（4 元至 8 元杂环烷基）C₀-C₂ 烷基”是通过一个共价键或亚甲基或亚乙基连接的 4 元至 8 元杂环烷基。

[0063] 本文所用的“取代基”指共价键键合到目的分子内原子上的分子部分。例如，“环取代基”可以是共价键键合到作为环成员的原子（优选碳或氮原子）的部分，例如卤素、烷基、卤代烷基或本文所讨论的其它基团。术语“取代”指用如上所述的取代基替换分子结构中一个或多个氢原子，使得不超过所指明原子上的化合价，并且使得由该取代产生化学稳定化合物（即可分离、表征并测试生物学活性的化合物）。

[0064] “任选地取代”的基团是未取代的或在一个或多个可用位置由氢以外的基团取代的，通常在 1、2、3、4 或 5 个位置由一个或多个合适基团取代（可以为相同或不同的）的基团。任选地取代也由短语“被 0 至 X 个取代基取代”来指出，其中 X 是可允许取代基的最大数目。某些任选地取代的基团是被 0 至 2、3 或 4 个独立选择的取代基取代（即未取代的或被多达所述最大数目的取代基取代的）。其他任选地取代的基团是被至少一个取代基取代的（例如由 1 至 2、3 或 4 个独立选自的取代基取代）。

[0065] 除非另作说明，术语“H3 受体”在本文中用于指任何组胺 H3 亚型受体，包括人 H3 受体（参见例如美国专利 No. 6, 136, 559），其它哺乳动物中发现的 H3 受体以及保留 H3 功能的嵌合受体，包括在以 US 2006/0188960 公开的美国专利申请号 11/355, 711 中以 SEQ ID NO :8 提供的嵌合 H3 受体。

[0066] “H3 受体调节剂”在本文中也称为“调节剂”，是调节 H3 受体 GTP 结合的化合物。H3 受体调节剂可以是 H3 受体激动剂或拮抗剂。如果 H3 受体的 K_i 小于 4 微摩尔 / 升（优选小于 1 微摩尔 / 升、500 纳摩尔 / 升、100 纳摩尔 / 升、50 纳摩尔 / 升或 10 纳摩尔 / 升），则调节剂以“高亲和”结合。本文实施例 7 中提供了用于评价 H3 受体 GTP 结合作用的代表性测定。

[0067] 除非另作说明，本文所用的术语“IC₅₀”和“EC₅₀”指使用实施例 7 中所述测定获得的值。

[0068] 如果可检测到调节剂抑制 H3 受体激动剂刺激的 GTP 结合（使用例如实施例 7 中所提供的代表性测定），则其被认为是“拮抗剂”；一般来说，这样的拮抗剂以 IC₅₀ 值小于 4 微摩尔 / 升，优选小于 1 微摩尔 / 升、500 纳摩尔 / 升、100 纳摩尔 / 升、50 纳摩尔 / 升或 10 纳摩尔 / 升来抑制这些 GTP 结合。H3 受体拮抗剂包括中性拮抗剂和反向激动剂。

[0069] H3 受体的“反向激动剂”是在不加入激动剂的情况下使 H3 受体的 GTP 结合活性降低至其基线活性水平以下的化合物。H3 受体的反向激动剂还可在激动剂存在的情况下抑制其活性。H3 受体的基线活性以及由于 H3 受体拮抗剂的存在而引起的 H3 受体 GTP 结合活性的降低可以使用实施例 7 的测定来确定。

[0070] H3 受体的“中性拮抗剂”是抑制 H3 受体激动剂活性但是不显著改变所述受体的

基线活性（即在没有激动剂的情况下进行的实施例 7 的测定中，H3 受体活性降低不超过 10%，优选不超过 5%，更优选不超过 2%，最优选没有可检出的活性降低）的化合物。基线活性是在不加入组胺或任何其它激动剂并且也不存在任何测试化合物的情况下的测定中观察到的 GTP 结合水平。H3 受体中性拮抗剂可以但不必抑制激动剂与 H3 受体的结合。

[0071] 本文所用的“H3 受体激动剂”是将所述受体活性提高至其基线活性水平之上的化合物。可以使用实施例 7 中所提供的代表性测定鉴定 H3 受体激动剂活性。一般来说，这些激动剂在实施例 7 提供的测定中具有小于 4 微摩尔 / 升，优选小于 1 微摩尔 / 升、500 纳摩尔 / 升、100 纳摩尔 / 升、50 纳摩尔 / 升或 10 纳摩尔 / 升的 EC_{50} 值。如果测试化合物导致 GTP 结合活性达到组胺的相同活性水平，则其被定义为完全激动剂。如果测试化合物导致 GTP 结合活性水平高于基线但是低于组胺所达到的水平，其被定义为部分激动剂。在这样的条件下，优选的拮抗剂不使 GTP 结合活性升高至超过基线之上 10%，优选不超过基线之上 5%，最优选不超过基线之上 2%。

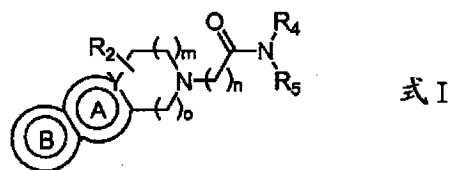
[0072] “治疗有效量（或剂量）”是在施用给患者后得到可辨别的患者益处的量（例如提供所治疗疾病的可检出的缓解）。这样的缓解可使用任何合适标准检测，包括疾病的一个或多个特征症状的减轻。治疗有效量或剂量通常导致足以改变体外 H3 受体 GTP 结合的体液（例如血液、血浆、血清、CSF、关节液、淋巴、细胞间隙流体、泪液或尿液）中化合物的浓度。显然，可辨别患者益处可以是在施用单次剂量后变得明显，或者可在根据预定方案重复施用治疗有效剂量后变得明显，这取决于所施用化合物的适应症。

[0073] “患者”是用本文提供的哌嗪基氧代烷基四氢-β-咔啉或相关类似物治疗的任何个体。患者包括人以及其它动物例如伴侣动物（例如狗和猫）以及家畜。患者可以是正在经受响应于 H3 受体调节的疾病的一种或多种症状，或者可以没有这些症状（例如治疗可以是预防性的）。

[0074] 哌嗪基氧代烷基四氢-β-咔啉及相关类似物

[0075] 如上所述，本发明提供式 I 的哌嗪基氧代烷基四氢-β-咔啉及相关类似物：

[0076]

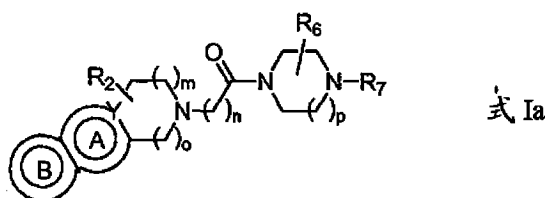


[0077] 其中变量如上所述。

[0078] 在某些方面中，这些化合物是 H3 受体调节剂，可用于多种情形中，包括如下文所述的人和动物患者治疗处理中。H3 受体调节剂还可在体外测定中使用（例如用于受体活性的测定），以及作为 H3 受体测定和定位的探针使用。

[0079] 式 I 的某些哌嗪基氧代烷基四氢-β-咔啉及相关类似物还符合式 Ia：

[0080]



[0081] 其中：

[0082] p 是 1、2 或 3；

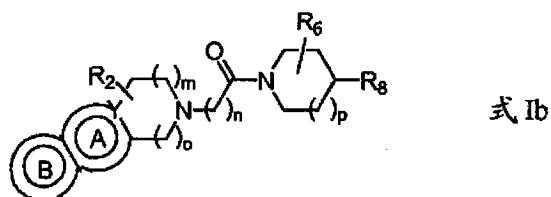
[0083] R₆ 代表 0 至 4 个独立地选自 C₁-C₆ 烷基、C₁-C₆ 卤代烷基和一起形成 C₁-C₃ 亚烷基桥的基团的取代基；

[0084] R₇ 是 C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、(C₃-C₈ 环烷基)C₀-C₂ 烷基、苯基 C₀-C₂ 烷基或 (4 元至 8 元杂环烷基)C₀-C₂ 烷基，其各自被 0 至 4 个独立地选自以下的取代基所取代：氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₁-C₆ 卤代烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、C₁-C₆ 烷硫基、C₂-C₆ 烷基醚、C₁-C₆ 烷酰基、C₃-C₆ 烷酮基、C₁-C₆ 烷氧羰基、单-或二-(C₁-C₆ 烷基)氨基、单-或二-(C₁-C₆ 烷基)氨基羰基、C₃-C₇ 环烷基和 4 元至 7 元杂环烷基；和

[0085] 其余变量如式 I 所述。

[0086] 式 I 的另一些哌嗪基氧代烷基四氢-β-咔啉及相关类似物还符合式 Ib：

[0087]



[0088] 其中：

[0089] p 是 0、1、2 或 3；

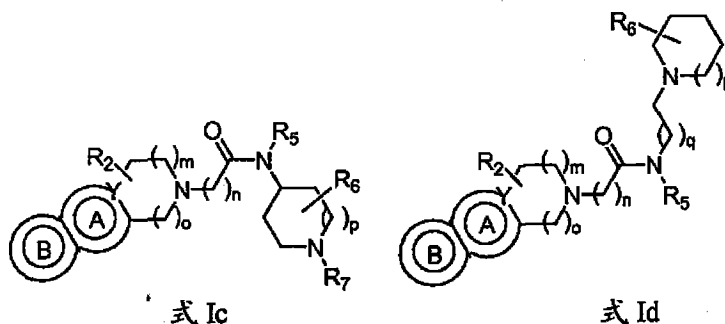
[0090] R₆ 如式 Ia 所述；

[0091] R₈ 是单-或二-(C₁-C₆ 烷基)氨基 C₀-C₂ 烷基或者 (4 元至 8 元杂环烷基)C₀-C₂ 烷基，其各自被 0 至 4 个独立地选自以下的取代基所取代：氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₁-C₆ 卤代烷基、C₁-C₆ 烷氧基、C₁-C₆ 卤代烷氧基、C₁-C₆ 烷硫基、C₂-C₆ 烷基醚、C₁-C₆ 烷酰基、C₃-C₆ 烷酮基、C₁-C₆ 烷氧羰基、单-或二-(C₁-C₆ 烷基)氨基、单-或二-(C₁-C₆ 烷基)氨基羰基、C₃-C₇ 环烷基和 4 元至 7 元杂环烷基；和

[0092] 其余变量如式 I 所述。

[0093] 式 I 的另一些哌嗪基氧代烷基四氢-β-咔啉及相关类似物还符合式 Ic 或式 Id：

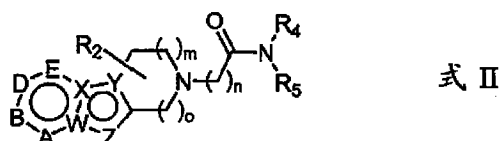
[0094]



[0095] 其中 p 是 0、1、2 或 3； R_6 和 R^7 如式 Ia 所述；q 是 1、2 或 3；其余变量如式 I 所述。

[0096] 式 I 的某些哌嗪基氧代烷基四氢-β-吡啶及相关类似物还符合式 II：

[0097]



[0098] 或者是其可药用盐、溶剂化物或酯。

[0099] 在式 II 中：

[0100] A、B、D 和 E 独立地是 N 或 CR_1 ；使得 是芳香性的；

[0101] W、X 和 Y 独立地是 C 或 N；

[0102] Z 是 CR_9 、N、 NR_3 、S 或 O；

[0103] n 是 0、1、2 或 3；

[0104] m 是 0、1 或 2；

[0105] o 是 1 或 2；

[0106] 每个 R_1 独立地是：

[0107] (i) 氢、氨基、卤素、氰基、羟基、硝基或氧代基；或

[0108] (ii) C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、(C_3 - C_8 环烷基) C_0 - C_2 烷基、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 卤代烷基、 C_2 - C_6 烷基醚、 C_1 - C_6 烷基磺酰基、单-或二-(C_1 - C_6 烷基) 氨基 C_0 - C_4 烷基、苯基 C_0 - C_2 烷基或 (5 元至 7 元杂环) C_0 - C_2 烷基；其各自未被取代或者被氧代基、 C_1 - C_6 烷基或 C_1 - C_6 烷氧基取代；

[0109] R_2 代表 0 至 4 个独立选自 C_2 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、(C_3 - C_8 环烷基) C_0 - C_2 烷基、 C_1 - C_6 卤代烷基和一起形成 C_1 - C_3 亚烷基桥之基团的取代基；

[0110] R_3 是氢、 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 卤代烷基、 C_2 - C_6 烷基醚、 C_2 - C_6 氨基烷基或者单-或二-(C_1 - C_6 烷基) 氨基 C_2 - C_6 烷基；

[0111] R_4 和 R_5 ：

[0112] (i) 独立地选自 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯基、 C_2 - C_6 炔基、 C_1 - C_6 卤代烷基和 C_2 - C_6 烷基醚；其各自被 0 至 4 个独立选自氨基、氰基、氧代基、单-或二-(C_1 - C_6 烷基) 氨基、单-或二-(C_1 - C_6 烷基) 氨基羰基和 5 元至 7 元杂环烷基的取代基所取代；使得 R_4 和 R_5 至少之一被含氮杂环或胺所取代；或者

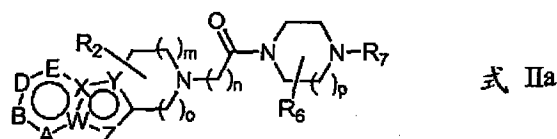
[0113] (ii) 一起形成 4 元至 10 元杂环烷基，其被 0 至 4 个独立选自 C_1 - C_6 烷基、 C_2 - C_6 烯

基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基、单-或二- $(C_1-C_6$ 烷基) 氨基 C_0-C_2 烷基、 $(C_3-C_8$ 环烷基) C_0-C_2 烷基、苯基 C_0-C_2 烷基、(4 元至 7 元杂环烷基) C_0-C_2 烷基和一起形成 C_1-C_3 亚烷基桥之基团的取代基所取代；其各自被 0 至 4 个独立地选自以下的取代基所取代：氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_1-C_6 烷酰基、 C_3-C_6 烷酮基、 C_1-C_6 烷氧羰基、单-或二- $(C_1-C_6$ 烷基) 氨基、单-或二- $(C_1-C_6$ 烷基) 氨基羰基、 C_3-C_7 环烷基和 4 元至 7 元杂环烷基；以及

[0114] R_9 是氢、氨基、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_1-C_6 氨基烷基或者单-或二- $(C_1-C_6$ 烷基) 氨基 C_0-C_6 烷基。

[0115] 式 II 的某些哌嗪基氧代烷基四氢- β -吡啶及相关类似物还符合式 IIa：

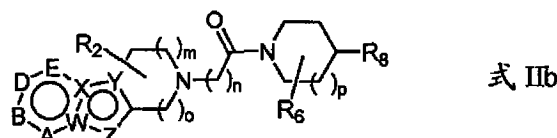
[0116]



[0117] 其中 p 、 R_6 和 R_7 如式 Ia 所述，其余变量如式 II 所述。

[0118] 式 II 的某些哌嗪基氧代烷基四氢- β -吡啶及相关类似物还符合式 IIb：

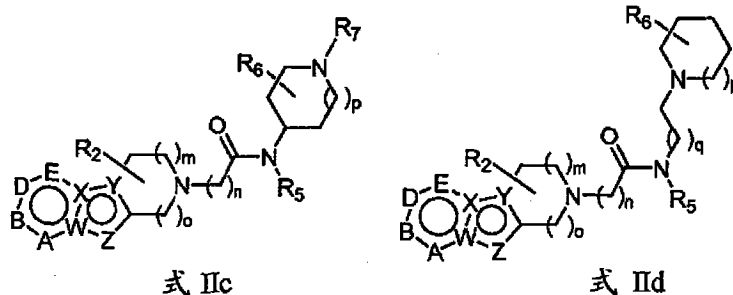
[0119]



[0120] 其中 p 、 R_6 和 R_8 如式 Ib 所述，其余变量如式 II 所述。

[0121] 式 II 的另一些哌嗪基氧代烷基四氢- β -吡啶及相关类似物还符合式 IIc 或式 IIId：

[0122]



[0123] 其中 p 、 R_6 和 R_7 如式 IIa 所述， q 是 1、2 或 3，其余变量如式 II 所述。

[0124] 式 I、式 II 及其多个子式的某些哌嗪基氧代烷基四氢- β -吡啶及相关类似物还符合下列一项或多项：

[0125] (i) W 和 Y 是碳， Z 是氧或硫。

[0126] (ii) X 、 W 和 Y 是碳， Z 是氮或 NR_3 。

[0127] (iii) X 和 W 是碳， Y 是氮， Z 是氮或 NR_3 。

[0128] (iv) X 和 W 是碳， Y 是氮， Z 是 CR_3 。

[0129] (v) W 是碳， A 、 B 、 D 和 E 中恰好一个是氮。

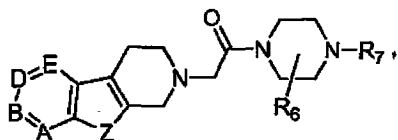
[0130] (vi) W 是碳, A 是氮, B、D 和 E 中恰好一个是氮。

[0131] (vii) A、B、D 和 E 独立地选自 CR_1 。

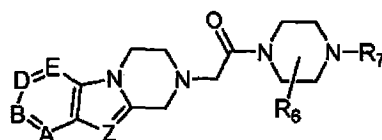
[0132] (viii) A 是碳, B、D 和 E 中恰好两个是氮。

[0133] 式 II 的另一些哌嗪基氧代烷基四氢-β-咔啉及相关类似物还符合下列式之一, 其中变量一般如上所述:

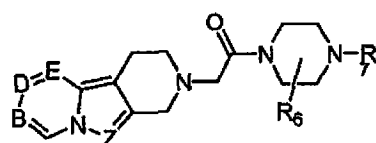
[0134]



式 IIe



式 IIIf



式 IIg

[0135] 在式 I、II 及其子式的某些实施方案中:

[0136] A、B、D 和 E (在式 IIg 的情况下为 B、D 和 E) 独立地是氮或 CR_1 ; 使得 A、B、D 和 E 中恰好有 0 个、1 个或 2 个是氮;

[0137] R_6 代表 0 至 2 个独立地选自 C_1 - C_6 烷基和 C_1 - C_6 卤代烷基的取代基; 以及

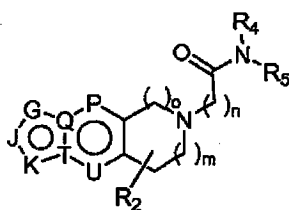
[0138] R_7 环丙基、环丁基、环戊基、环己基或 C_3 - C_6 烷基。

[0139] 在式 I、II 和 IIa-IIe 的一些实施方案中, Z 是氧、硫或 NR_3 。在式 I、II、IIa-IId、IIIf 和 IIg 的一些实施方案中, Z 是氮或 CR_3 。

[0140] 在式 I、II 及其子式的一些实施方案中, 每个 R_1 独立地选自氢、卤素、氰基、 C_1 - C_6 烷基、 C_1 - C_6 卤代烷基、(C_3 - C_8 环烷基) C_0 - C_2 烷基、 C_2 - C_6 烷基醚、 C_1 - C_6 烷氧基、 C_1 - C_6 烷基酰基、单-或二-(C_1 - C_6 烷基) 氨基和单-或二-(C_1 - C_6 烷基) 氨基羰基。

[0141] 式 I 的某些哌嗪基氧代烷基四氢-β-咔啉及相关类似物还符合式 III:

[0142]



式 III

[0143] 或者是其可药用盐、溶剂化物或酯。

[0144] 在式 III 中:

[0145] G、J 和 K 独立地是氮、氧、硫或 CR_1 ;

[0146] Q 和 T 独立地是碳或氮;

[0147] P 和 U 独立地是 CR_3 或氮;

[0148] n 是 0、1、2 或 3;

[0149] m 是 0、1 或 2;

[0150] o 是 1 或 2 ;

[0151] 每个 R_1 独立地是 :

[0152] (i) 氢、氨基、卤素、氰基、羟基、硝基或氧代基 ;或者

[0153] (ii) C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、(C_3-C_8 环烷基) C_0-C_2 烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_1-C_6 烷基磺酰基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基 C_0-C_4 烷基、苯基 C_0-C_2 烷基或者 (5 元至 7 元杂环) C_0-C_2 烷基 ;其各自未被取代或者被氧代基、 C_1-C_6 烷基或者 C_1-C_6 烷氧基所取代 ;

[0154] R_2 代表 0 至 4 个独立地选自 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、(C_3-C_8 环烷基) C_0-C_2 烷基、 C_1-C_6 卤代烷基和一起形成 C_1-C_3 亚烷基桥之基团的取代基 ;

[0155] R_3 是氢、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_2-C_6 氨基烷基或者单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基 C_2-C_6 烷基 ;

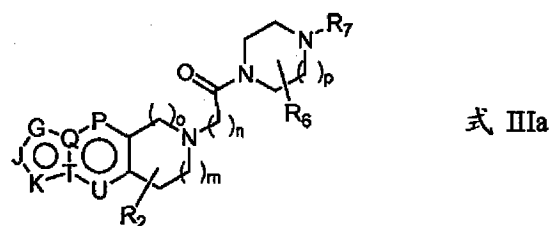
[0156] R_4 和 R_5 :

[0157] (i) 独立地选自 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基和 C_2-C_6 烷基醚 ;其各自被 0 至 4 个独立地选自氨基、氰基、氧代基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基羰基和 5 元至 7 元杂环烷基的取代基所取代 ;使得 R_4 和 R_5 至少之一被含氮杂环或胺所取代 ;或者

[0158] (ii) 一起形成 4 元至 10 元杂环烷基,其被 0 至 4 个独立地选自以下的取代基所取代 : C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、 C_1-C_6 卤代烷基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基 C_0-C_2 烷基、(C_3-C_8 环烷基) C_0-C_2 烷基、苯基 C_0-C_2 烷基、(4 元至 7 元杂环烷基) C_0-C_2 烷基和一起形成 C_1-C_3 亚烷基桥的基团 ;其各自被 0 至 4 个独立地选自以下的取代基所取代 :氧代基、硝基、卤素、氨基、氰基、羟基、氨基羰基、 C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_1-C_6 卤代烷基、 C_1-C_6 烷氧基、 C_1-C_6 卤代烷氧基、 C_1-C_6 烷硫基、 C_2-C_6 烷基醚、 C_1-C_6 烷酰基、 C_3-C_6 烷酮基、 C_1-C_6 烷氧羰基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基、单 - 或二 - (C_1-C_6 烷基) 氨基羰基、 C_3-C_7 环烷基和 4 元至 7 元杂环烷基。

[0159] 式 III 的一些哌嗪基氧代烷基四氢 - β - 咪啉及相关类似物还符合式 IIIa :

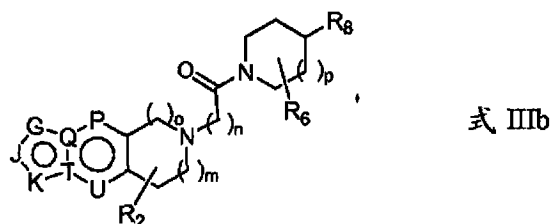
[0160]



[0161] 其中 p 是 1、2 或 3, R_6 和 R_7 如式 Ia 所述。

[0162] 式 III 的另一些哌嗪基氧代烷基四氢 - β - 咪啉及相关类似物还符合式 IIIb :

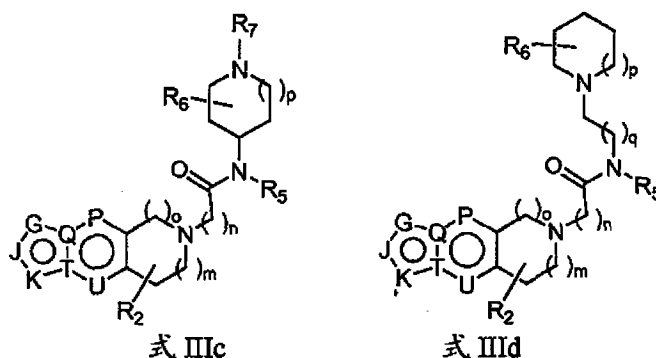
[0163]



[0164] 其中 p 是 0、1、2 或 3 ; R_6 和 R_8 如式 Ib 所述。

[0165] 式 III 的另一些哌嗪基氧代烷基四氢-β-吡啶及相关类似物还符合式 IIIc 或式 IIIId:

[0166]



[0167] 其中 p 是 0、1、2 或 3; R₆ 和 R₇ 如式 IIIa 所述。

[0168] 在式 III 及其子式的一些化合物中,符合下列一种或多种情况:

[0169] (a) Q 和 U 是氮; T 是碳; P 是 CH。

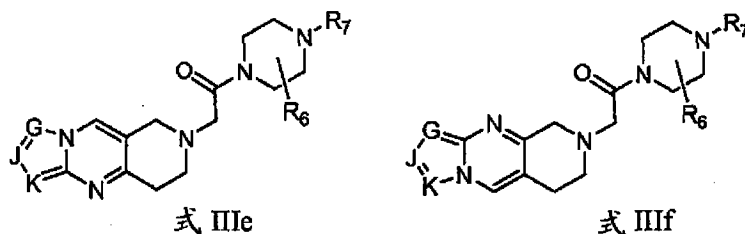
[0170] (b) P 和 T 是氮; Q 是碳; U 是 CH。

[0171] (c) G 是氮; J 和 K 是 CH。

[0172] (d) K 是氮; J 和 G 是 CH。

[0173] 式 III 的另一些哌嗪基氧代烷基四氢-β-吡啶及相关类似物还符合式 IIIe 或式 IIIIf:

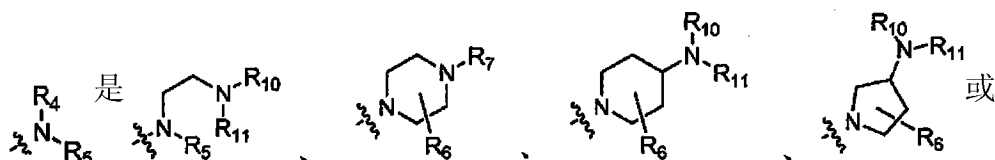
[0174]



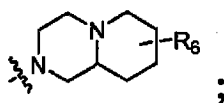
[0175] 其中 G、J 和 K 独立地是氮或 CR₁;使得 G、J 和 K 中恰好有 0 个、1 个或 2 个是氮; R₆ 表示 0 至 2 个独立地选自 C₁-C₆ 烷基和 C₁-C₆ 卤代烷基的取代基;以及 R₇ 是环丙基、环丁基、环戊基、环己基或者 C₃-C₆ 烷基。

[0176] 在式 I、II 或 III 的某些化合物中:

[0177]



[0178]



[0179] 其中 R₅、R₆ 和 R₇ 如上所述, R₁₀ 和 R₁₁ 独立地选自: (i) 氢; 和 (ii) C₁-C₆ 烷基、C₂-C₆ 烯基、C₂-C₆ 炔基、(C₃-C₈ 环烷基) C₀-C₂ 烷基、(4 元至 7 元杂环烷基) C₀-C₂ 烷基以及一起形成 4 元至 7 元杂环烷基的基团,其各自任选地被符合式 I 的任何基团所取代。在某些这样的化

合物中, R_6 表示独立地选自 C_1-C_6 烷基和 C_1-C_6 卤代烷基的 0 至 2 个取代基; R_7 是环丙基、环丁基、环戊基、环己基或 C_3-C_6 烷基; 在另一些这样的化合物中, R_5 是氢或 C_1-C_6 烷基; R_{10} 和 R_{11} 独立地选自: (i) 氢; 和 (ii) C_1-C_6 烷基、 C_2-C_6 烯基、 C_2-C_6 炔基、(C_3-C_8 环烷基) C_0-C_2 烷基以及一起形成 4 元至 7 元杂环烷基的基团, 其各自被 0 至 4 个独立地选自氧代基、氨基、氰基、 C_1-C_4 烷基单- 或二- (C_1-C_4 烷基) 氨基的取代基所取代。

[0180] 本文提供的代表性哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉及相关类似物包括但不限于实施例 1-3 中具体记载的那些。显然, 本文所述的具体化合物仅仅是代表性的, 不旨在限制本发明的范围。另外, 如上所述, 本发明的所有化合物可以游离酸或碱的形式或者以可药用盐、溶剂化物或酯的形式存在。

[0181] 在某些方面, 本发明提供的哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉及相关类似物是 H3 受体调节剂, 如使用针对 H3 受体 GTP 结合的测定所测定的。在本文中引用“针对 H3 受体 GTP 结合的测定”旨在表示实施例 7 中所提供的体外 GTP 结合测定, 其可以在加入或不加入激动剂的情况下进行。简而言之, 为了评估 H3 受体激动剂刺激的 GTP 结合, 将 H3 受体制备物与 H3 受体激动剂 (例如组胺或其类似物例如 R- α -甲基组胺)、标记的 (例如 ^{35}S) GTP 和未标记的测试化合物一起孵育。在本文提供的测定中, 所用的 H3 受体优选是哺乳动物 H3 受体 (例如人或大鼠 H3 受体, 优选人 H3 受体), 更优选嵌合人 H3 受体例如具有 SEQ ID NO: 8 所提供序列的受体。H3 受体可以是重组表达的或者天然表达的。所述 H3 受体制备物可以是例如来自重组表达 H3 受体的细胞的膜制备物。与 H3 受体调节剂一起孵育导致与 H3 受体制备物结合的标记物的量相对于不存在所述化合物时结合的标记物的量降低或增加。

[0182] 如上所述, 作为 H3 受体拮抗剂的哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉及相关类似物在某些实施方案中是优选的。当接触激动剂的细胞与作为 H3 受体拮抗剂的哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉或相关类似物接触时, 与哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉或相关类似物不存在时与所述激动剂接触的细胞相比, 反应优选降低至少 20%、更优选至少 50%、进一步更优选至少 80%。本文提供的 H3 受体拮抗剂的 IC_{50} 优选小于 4 微摩尔/升、小于 1 微摩尔/升、小于 500nM/升、小于 100nM/升、小于 50nM/升或者小于 10nM/升。在某些实施方案中, 本文提供的 H3 受体拮抗剂在等于所述 IC_{50} 的化合物浓度下于实施例 7 的测定中不显示可检出的激动剂活性。某些优选的拮抗剂在拮抗剂浓度比所述 IC_{50} 高 100 倍时不显示可检出的激动剂活性。

[0183] 在某些实施方案中, 本文提供的优选的 H3 受体调节剂是非镇静性的。换句话说, 最小治疗有效剂量两倍的 H3 受体调节剂的剂量在镇静动物模型测定中仅仅导致瞬时 (即持续时间不超过治疗作用持续时间的 1/2) 或者优选非统计学上显著的镇静作用 (使用 Fitzgerald 等人 (1988) Toxicology 49 (2-3): 433-9 所述的方法)。优选地, 最小治疗有效剂量的 5、10、20、30、40、50、60、70、80、90 或 100 倍中的任意剂量不产生统计学上显著的镇静作用。更优选地, H3 受体调节剂在口服剂量小于 140mg/kg (优选小于 50mg/kg, 更优选小于 30mg/kg) 时不产生镇静作用。

[0184] 必要时, 可评价本文提供的 H3 受体调节剂的某些药理学性质, 包括但不限于: 口服生物利用度 (优选化合物的口服生物利用程度是使得所述化合物在小于 140mg/kg、优选小于 50mg/kg、更优选小于 30mg/kg、甚至更优选小于 10mg/kg、甚至更优选小于 1mg/kg 的口服剂量下得到治疗有效浓度)、毒性 (优选的 H3 受体调节剂在以治疗有效量施用给对象

时是无毒的)、副作用(优选的 H3 受体调节剂在以治疗有效量的所述化合物施用给对象时产生的副作用与安慰剂相当)、血清蛋白质结合以及体外和体内半衰期(优选的 H3 受体调节剂显示出的体内半衰期允许每日给药四次,优选每日给药三次,更优选每日给药两次,最优选每日给药一次)。另外,对于某些 H3 受体调节剂来说对血脑屏障的不同穿透性可能是所期望的。本领域中公知的常规测定可用于评估这些性质,并鉴定出用于特定用途的优异化合物。例如,用于预测生物利用度的测定包括跨越人肠细胞单层(例如 Caco-2 细胞单层)的转运。化合物对人血脑屏障的穿透性可以根据所述化合物在给予(例如静脉内)该化合物的实验动物脑中的水平进行预测。血清蛋白结合可以由白蛋白结合测定或者全血清结合测定来预测。化合物的体外半衰期可以由微粒体半衰期测定来预测,其如 PCT 公开号 W006/089076 的实施例 8 中所述。

[0185] 如上所述,优选的哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉及相关类似物是无毒的。一般来说,本文使用的术语“无毒的”应理解为相对而言,旨在指已经被美国食品和药品监督管理局(FDA)批准用于施用给哺乳动物(优选人)或者符合既定标准而易于被 FDA 批准用于施用给哺乳动物(优选人)的任何物质。另外,非常优选的无毒化合物通常符合下列一个或多个标准:(1)基本上不抑制细胞 ATP 产生;(2)不显著延长心脏 QT 间期;(3)不造成实质的肝脏增大;或者(4)不造成实质的肝酶释放。

[0186] 如本文所施用的,基本上不抑制细胞 ATP 产生的化合物是满足 PCT 公开 W006/089076 的实施例 9 中所述标准的化合物。换句话说,如其实施例 9 中所述用 100 μ M 的所述化合物进行处理的细胞显示出的 ATP 水平是在未处理细胞中所测定到的 ATP 水平的至少 50%。在更优选的实施方案中,这些细胞显示出的 ATP 水平是在未处理细胞中测定到的 ATP 水平的至少 80%。

[0187] 不显著延长心脏 QT 间期的化合物是在豚鼠、小型猪或狗中施用产生等于其 EC_{50} 或 IC_{50} 的血清浓度的剂量后不导致心脏 QT 间期出现统计学显著延长(如心电图所确定的)的化合物。在某些优选的实施方案中,胃肠外或口服施用 0.01、0.05、0.1、0.5、1、5、10、40 或 50mg/kg 的剂量不导致心脏 QT 间期出现统计学显著的延长。“统计学显著的”表示结果与对照的差异为 $p < 0.1$ 水平或者更优选为 $p < 0.05$ 的显著性水平,如使用统计学显著性标准参数检验所测量的,例如 T 检验。

[0188] 如果每天用产生等于化合物 EC_{50} 或 IC_{50} 的血清浓度的剂量处理实验啮齿动物(例如小鼠或大鼠)5-10 天所导致的肝脏与体重比值的增加相对于匹配对照不超过 100%,则该化合物不导致实质的肝脏增大。在一些更优选的实施方案中,这些剂量不导致相对于匹配对照而言肝脏增大超过 75%或 50%。如果使用非啮齿类哺乳动物(例如狗),则这些剂量相对于匹配的未处理对照而言应该不导致肝脏与体重比值增加超过 50%,优选不超过 25%,更优选不超过 10%。在这样的测定中,胃肠外或口服施用的优选剂量包括 0.01、0.05、0.1、0.5、1、5、10、40 或 50mg/kg。

[0189] 类似地,如果施用产生等于化合物 EC_{50} 或 IC_{50} 的血清浓度两倍的最小剂量不导致实验啮齿动物血清 ALT、LDH 或 AST 水平相对于匹配的模拟处理对照升高超过 100%,则该化合物不促进肝酶的实质释放。在一些更优选的实施方案中,这些剂量不导致血清 ALT、LDH 或 AST 水平相对于匹配对照升高超过 75%或 50%。或者,如果在体外肝细胞测定中,等于化合物 EC_{50} 或 IC_{50} 的浓度(在培养基或其它体外接触和孵育肝细胞的溶液中)不造成任何

这些肝酶在高于匹配的模拟处理对照细胞培养基中所见的基线水平上可检出地释放到培养基中,则 H3 受体调节剂不促进肝酶的实质释放。在一些更优选的实施方案中,当这些化合物浓度是其 EC₅₀ 或 IC₅₀ 的 5 倍(优选 10 倍)时,没有高于基线水平的任何这些肝酶可检出地释放到培养基中。

[0190] 在另一些实施方案中,某些优选的化合物在浓度等于所述化合物 EC₅₀ 或 IC₅₀ 时基本上不抑制或诱导微粒体细胞色素 P450 酶活性,例如 CYP1A2 活性、CYP2A6 活性、CYP2C9 活性、CYP2C19 活性、CYP2D6 活性、CYP2E1 活性或者 CYP3A4 活性。

[0191] 某些优选的化合物在浓度等于所述化合物 EC₅₀ 或 IC₅₀ 时不导致染色体断裂(例如,使用小鼠红细胞前体细胞微核检测、Ames 微核检测、螺旋微核检测等所确定的)。在另一些实施方案中,某些优选的 H3 受体调节剂在这些浓度下不诱导姐妹染色单体互换(例如在中国仓鼠卵巢细胞中)。

[0192] 出于检测目的,如下文更详细讨论的,本文提供的哌嗪基氧代烷基四氢-β-咪啉及相关类似物可以是同位素标记的或者放射性标记的。例如,一个或多个原子可被原子量或质量数不同于自然界常见原子量或质量数的相同元素的原子所替代。可存在于本文所提供化合物中的同位素的实例包括氢、碳、氮、氧、磷、氟和氯的同位素,例如 ²H、³H、¹¹C、¹³C、¹⁴C、¹⁵N、¹⁸O、¹⁷O、³¹P、³²P、³⁵S、¹⁸F 和 ³⁶Cl。另外,用重同位素例如氘(即 ²H)取代可提供由于代谢稳定性更强而产生的某些治疗优点,例如体内半衰期延长或者剂量需求降低,因此在一些情况下可能是优选的。

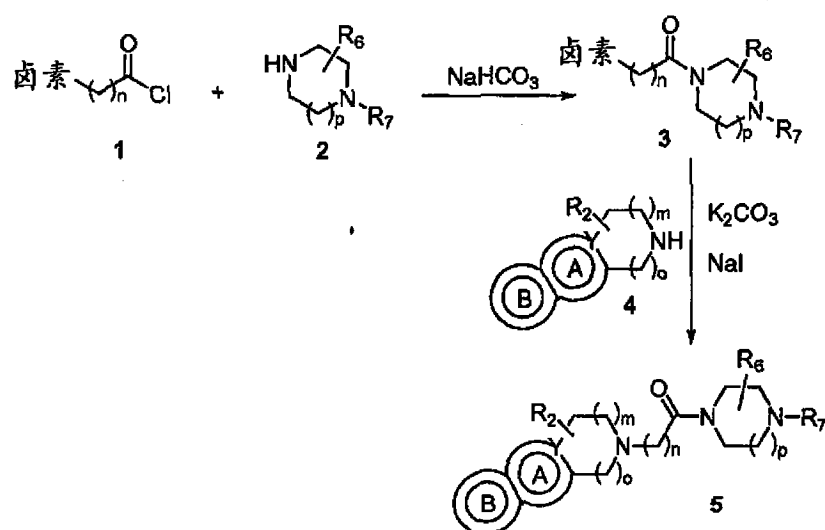
[0193] 哌嗪基氧代烷基四氢-β-咪啉及相关类似物的制备

[0194] 本文提供的哌嗪基氧代烷基四氢-β-咪啉及相关类似物通常可使用标准合成方法进行制备。方案和实施例中示例的起始材料可购自例如 Sigma-Aldrich 公司(St. Louis, MO)的供应商,或者可使用既定方案自市售前体合成。例如,可使用类似于下列方案中任一种的合成路线,以及合成有机化学领域中已知的合成方法,或者本领域技术人员了解的其变化形式。下列方案中每个变量指与本文所提供的哌嗪基氧代烷基四氢-β-咪啉及相关类似物的描述中一致的任何基团。

[0195] 下列方案中及本文其它处所用的某些缩写如下:

- [0196] BOC 叔丁基羰基
[0197] BOP 苯并三唑-1-基-氧基-三(二甲基氨基)磷鎓六氟磷酸盐
[0198] Bu 丁基
[0199] CDCl₃ 氘代氯仿
[0200] δ 化学位移
[0201] DCM 二氯甲烷
[0202] DMA 二甲基乙缩醛
[0203] DMC 2-氯-1,3-二甲基咪唑啉鎓氯化物
[0204] DMF 二甲基甲酰胺
[0205] dppf 1,1'-双(二苯膦基)二茂铁
[0206] EtOAc 乙酸乙酯
[0207] Et 乙基
[0208] EtOH 乙醇

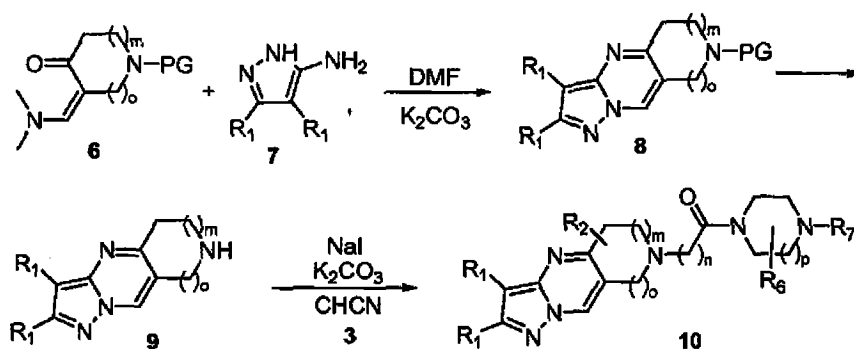
[0209]	Eq.	当量
[0210]	^1H NMR	质子核磁共振
[0211]	HPLC	高效液相色谱
[0212]	h	小时
[0213]	Hz	赫兹
[0214]	LCMS	液相色谱 / 质谱
[0215]	MS	质谱
[0216]	(M+1)	质量 +1
[0217]	Me	甲基
[0218]	MeOH	甲醇
[0219]	MsCl	甲磺酰氯
[0220]	min	分钟
[0221]	$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$	三(二亚苄基丙酮)二钯(0)
[0222]	$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$	四(三苯基膦)钯(0)
[0223]	PG	保护基, 例如 BOC 或苄基
[0224]	PPh_3	三苯基膦
[0225]	PTLC	制备型薄层色谱
[0226]	rt	室温
[0227]	TEA	三乙胺
[0228]	TfO	三氟甲磺酰基氧基
[0229]	Tf_2O	三氟甲磺酸酐
[0230]	THF	四氢呋喃
[0231]	Xantphos	9,9-二甲基-4,5-双(二苯基膦)咕吨
[0232]	方案 1	
[0233]		



[0234] 方案 1 举例说明了化合物 5 的制备。环胺 2 在碱例如碳酸氢钠存在下与卤素取代的酰基氯 1 反应, 得到卤素取代的羧酰胺 3, 其在碱例如碳酸钾的存在下用四氢-1H- β -吡啶或相关胺类似物 4 处理, 产生 5。

[0235] 方案 2

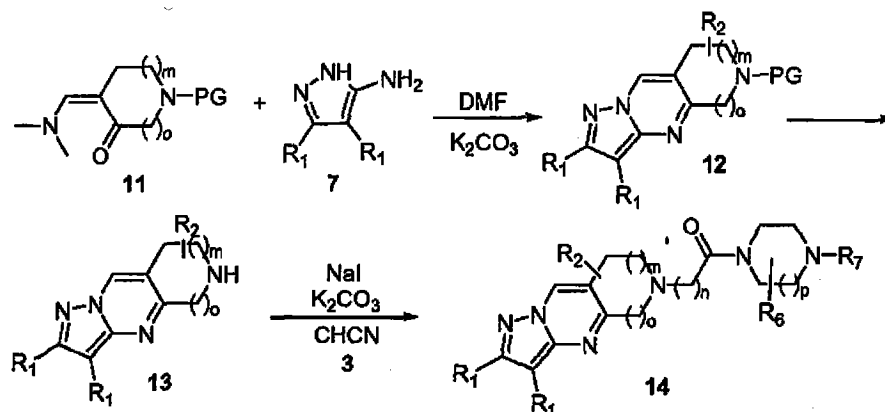
[0236]



[0237] 方案 2 举例说明了化合物 10 的制备。用 5-氨基吡啶 7 与 6 缩合得到了 8, 然后其在脱保护后转变为胺 9。在标准烷基化条件下用羧酰胺 3 对 9 进行烷基化, 得到 10。

[0238] 方案 3

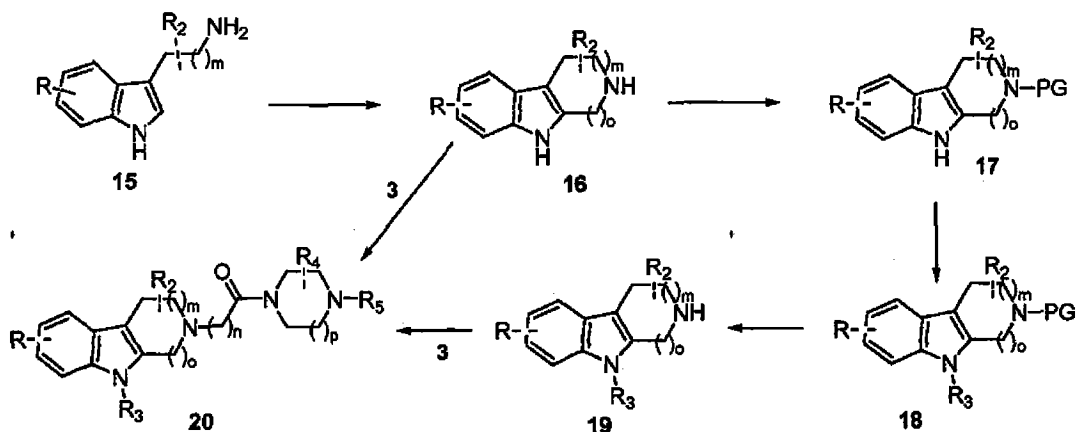
[0239]



[0240] 方案 3 举例说明了化合物 14 的制备。用 5-氨基吡啶 7 与 11 缩合得到了 12, 然后其在脱保护后转变为胺 13。在标准烷基化条件下用羧酰胺 3 对 13 进行烷基化得到 14。

[0241] 方案 4

[0242]

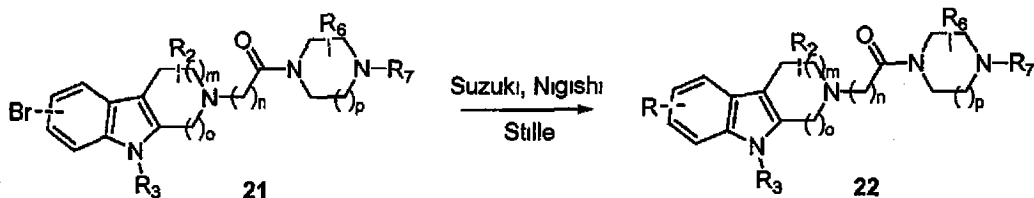


[0243] 根据方案 4 制备化合物 20, 其中“R”代表 0 至 4 个环取代基, 在本文某些式中以 R_1 表示。使用文献中已建立的方法 (例如 Organic Syntheses(1971)51:136-38; 以及 Journal of Labeled Compounds & Radiopharmaceuticals(2005)48(5):323-30) 从多种市售色胺 15 开始制备 2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉 16。或者, 所述合成可从市售 2,3,4,9-四

氢-1H-β-咔啉 16 开始。用羧酰胺 3 直接对 16 进行烷基化形成 20。对仲胺进行保护形成 17, 其可以被烷基卤化物直接烷基化或者通过 Buchwald 反应被芳基化而形成 18。对 18 进行脱保护形成 19, 在标准烷基化条件下用羧酰胺 3 进行烷基化得到 20。

[0244] 方案 5

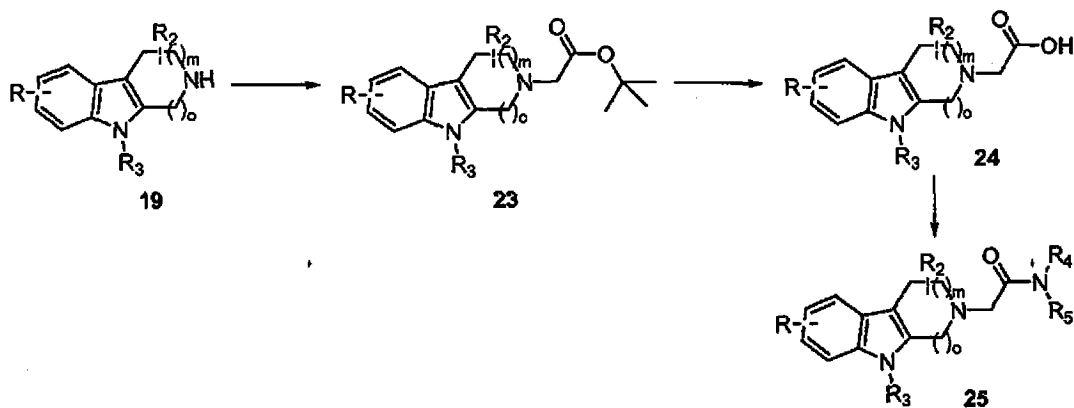
[0245]



[0246] 方案 5 举例说明了二芳基 (R = 芳基或杂芳基) 和氰基 (R = CN) 类似物 22 的制备, 其中“R”表示 0 至 4 个环取代基, 在某些式中用 R_1 表示。通过钯催化偶联 (例如 Suzuki 偶联, Nigishi 偶联或 Stille 偶联) 将适当取代的溴-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉 21 转变为 22 (R = 芳基或杂芳基)。使用 $Zn(CN)_2$ 的 Nigishi 反应制得氰类似物 22 (R = CN)。

[0247] 方案 6

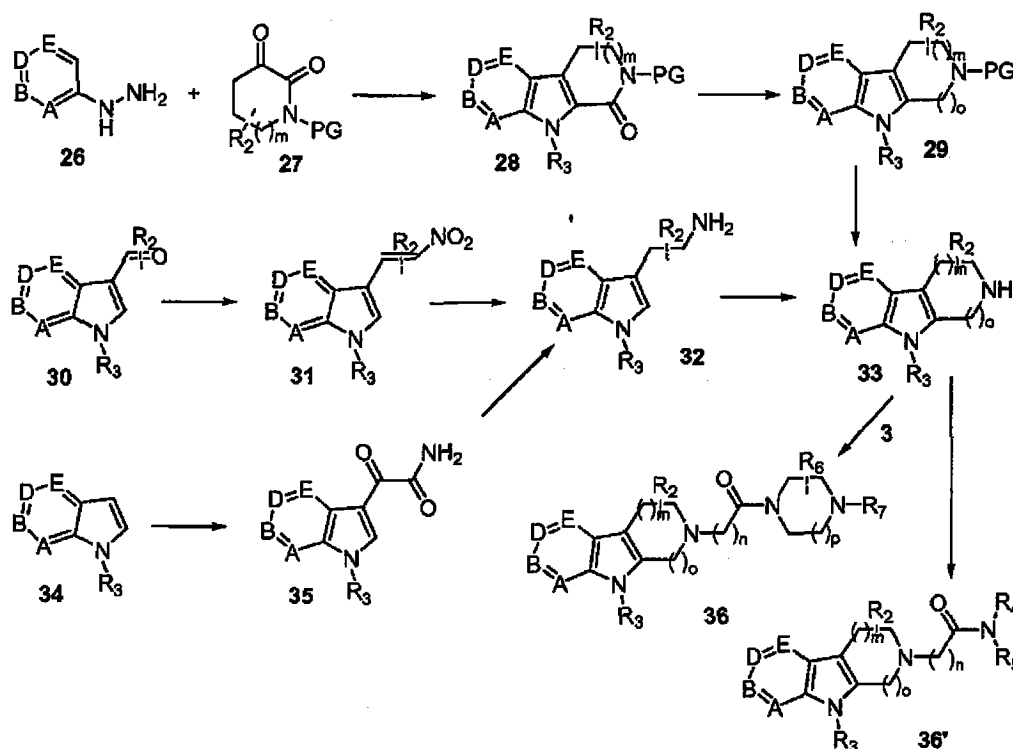
[0248]



[0249] 方案 6 举例说明了酰胺类似物 25 的制备。用溴乙酸叔丁酯对化合物 19 进行烷基化形成 23。在 4N HCl 二噁烷中回流后, 对叔丁酯脱保护形成羧酸 24, 其在偶联试剂例如 DMC 或 BOP 存在下与适当的胺偶联后转变为酰胺 25。

[0250] 方案 7

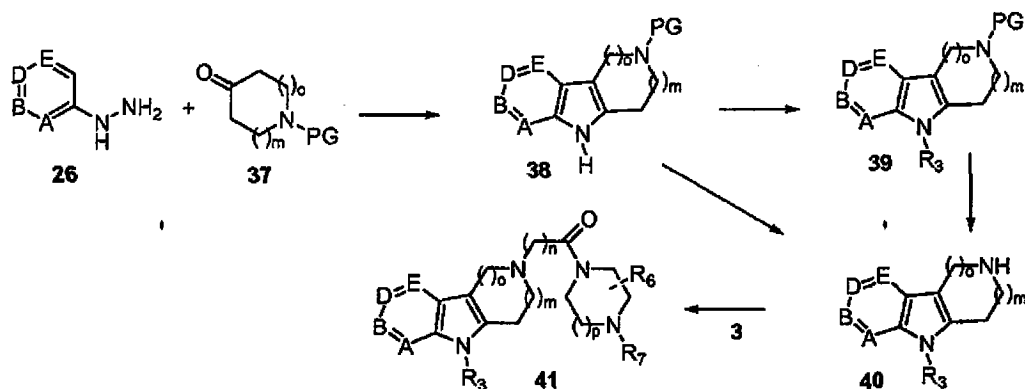
[0251]



[0252] 方案7举例说明了氮杂吡啶类似物 36 和 36' 的制备。通过 26 和 27 之间的Fisher 吡啶反应形成化合物 28 (Annali di Chimica (Rome, Italy) (1965) 55 (12) :1223-32 and Farmaco, Edizione Scientifica (1964) 19 (9) :741-50)。酰胺还原形成 29, 然后脱保护产生 33。或者, 化合物 33 可由醛 30 形成。30 和硝基甲烷之间的缩合产生硝基烯 31。还原成氮杂色胺 32 后通过 Pictet-Spangler 环化产生 33。产生 33 的第三种方法是从氮杂吡啶 34 出发, 利用乙基草酰氯的 Friedel-Crafts 烷基化形成草酸酯, 其立即被甲醇中的 NH_3 处理形成酰胺 35 (参见 Journal of Organic Chemistry (2002) 67 (17) :6226-27; PCT 国际专利申请公开号 WO 2006/061212 和美国专利申请公开号 2004-0192718)。还原所述酰胺形成 32, 其使用 Pictet-Spangler 环化产生 33。用羧酰胺 3 或者相关二胺在标准烷基化条件下烷基化得到 36 和 36'。

[0253] 方案 8

[0254]

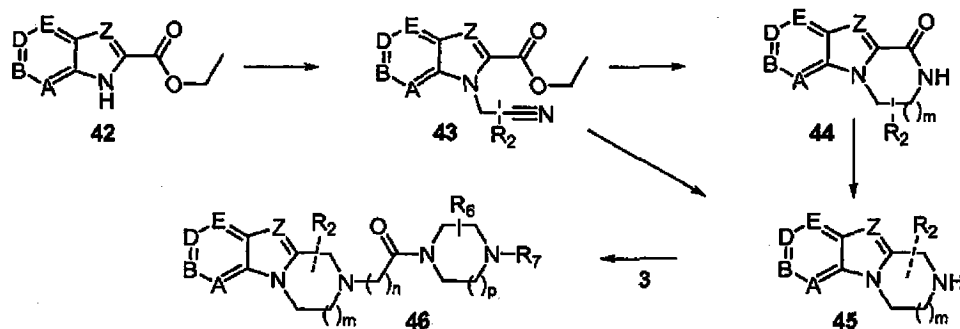


[0255] 方案 8 举例说明了吡啶类似物 41 的制备。通过 26 和 37 之间的 Fisher 吡啶反应形成化合物 38 (Journal of Heterocyclic Chemistry (2006) 43 (3) :571-78)。对 38 进行

脱保护产生 40。吡啶 38 的氮可以直接用烷基卤化物烷基化或者通过 Buchwald 反应芳基化而形成吡啶 39。对 39 进行脱保护形成胺 40。或者,许多 2,3,4,5- 四氢 -1H- 嘧啶并 [4,3-b] 吡啶是市售的 (例如来自 AKos Consulting and Solutions GmbH)。在标准烷基化条件下用羧酰胺 3 对 40 进行烷基化得到 41。

[0256] 方案 9

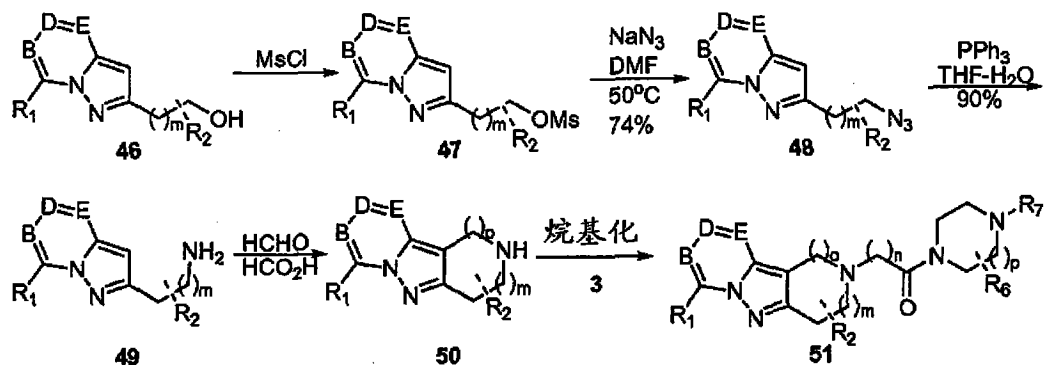
[0257]



[0258] 方案 9 举例说明了化合物 46 的制备。从适当取代的吡啶 42 开始,用氯乙腈烷基化形成 43。用 LiAlH_4 直接还原形成 45 或者对腈分步还原和环化形成 44,然后还原形成 45 (参见 Guandalini et al., Archive for Organic Chemistry (ARCHIVOC) 2004 (v) :286-300 以及 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters (2004) 14 (4) :1003-05)。在标准烷基化条件下用羧酰胺 3 对 45 进行烷基化得到 46。

[0259] 方案 10

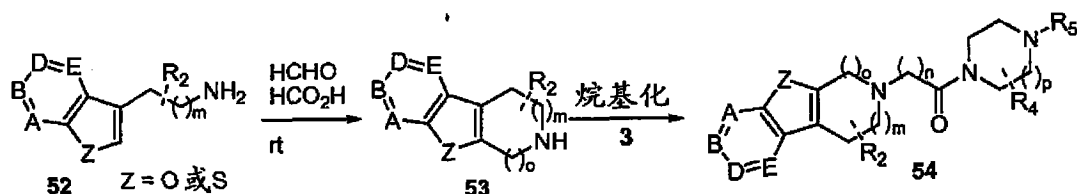
[0260]



[0261] 方案 10 举例说明了 51 的制备方法。醇 46 是文献中已知的 (例如 Bioorg. Med. Chem. Lett. (2002) 20 :2377-80) 或者通过本领域技术人员熟知的多种方法方便地制得。用甲磺酰氯处理化合物 46 得到 47,其在使用 DMF 中的叠氮化钠处理后转变为 48。用三苯基膦还原叠氮化合物 48 得到胺 49,其通过 Pictet-Spengler 环化转变为 50。在标准烷基化条件下用羧酰胺 3 对 50 进行烷基化得到 51。

[0262] 方案 11

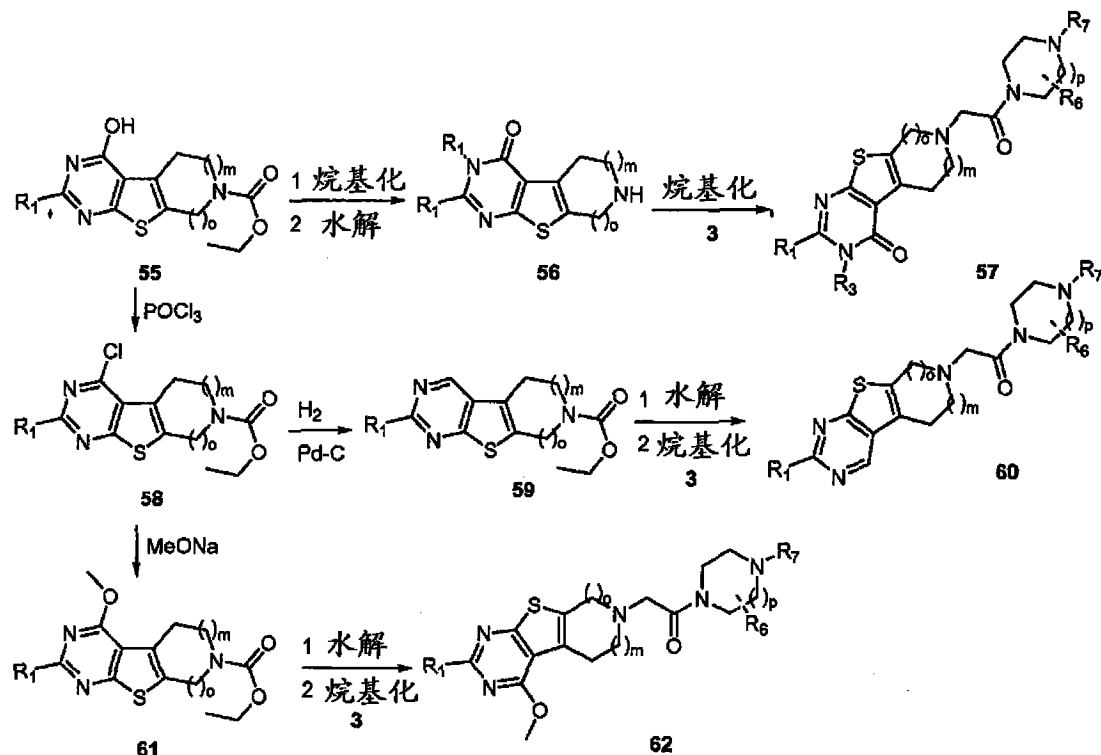
[0263]



[0264] 可根据方案 11 制备化合物 54。胺 52 可自商业来源例如 Aldrich (StLouis, MO) 获得或者可使用已建立的方案或其显而易见的变化形式从市售前体合成。在 Pictet-Spengler 环化条件下用甲酸中的多聚甲醛处理 52 得到化合物 53。用羧酰胺 3 在碱例如碳酸钾存在下处理 53 产生化合物 54。

[0265] 方案 12

[0266]



[0267] 方案 12 举例说明了化合物 57、60 和 62 的制备。三环中间体 55 是市售的,其在文献中已知 (例如 Ach. Mod. Chem. (1994) 131 :489-98) 或者通过多种方法方便地制得。用乙腈中的烷基卤化物处理化合物 55 然后脱保护得到嘧啶酮 56。在标准烷基化条件下用羧酰胺 3 对 56 进行烷基化得到 57。化合物 55 也可在碱例如吡啶存在下在 100℃ 下用三氯氧磷处理转变为氯化物 58;化合物 58 在钯炭存在下氢化得到化合物 59,其在脱保护后用羧酰胺 3 进行标准烷基化反应之后转变为化合物 60。用甲醇中的甲醇钠加热化合物 58,得到中间体 61,其在脱保护和与 3 反应之后转变为化合物 62。

[0268] 在某些实施方案中,本文提供的哌嗪基氧代烷基四氢-β-咔啉或相关类似物可含有一个或多个不对称碳原子,使得所述化合物可以以不同立体异构形式存在。这些形式可以是例如外消旋物或旋光形式。如上所述,所有立体异构体均包括在本发明中。尽管如此,获得单一对映异构体 (即旋光型) 可能是所期望的。用于制备单一对映异构体的标准方法包括不对称合成和外消旋物的拆分。外消旋物的拆分可以通过例如常规方法来完成,如在拆分试剂存在下结晶,或者使用如手性 HPLC 柱的色谱。

[0269] 哌嗪基氧代烷基四氢-β-咔啉及相关类似物可以通过使用包含至少一种放射性同位素的原子的前体进行合成来进行放射性标记。优选地,每种放射性同位素是碳 (例如 ^{14}C)、氢 (例如 ^3H)、硫 (例如 ^{35}S) 或者碘 (例如 ^{125}I)。也可通过在氘代乙酸中的铂催化交换、在氘代三氟乙酸中的酸催化交换或者使用所述化合物作为底物用氘气的非均质催化交

换来催化地制备氟标记的化合物。另外,适当时,可对某些前体进行使用氟气的氟-卤素交换、不饱和键的氟气还原或者使用硼氟化钠的还原。放射性标记化合物的制备可以方便地由专门进行定制合成放射性标记探针化合物的放射性同位素供应商来进行。

[0270] 药物组合物

[0271] 本发明还提供了包含本文提供的一种或多种哌嗪基氧代烷基四氢-β-吡啶或相关类似物以及至少一种生理可接受载体或赋形剂的药物组合物。药物组合物可包含例如水、缓冲液(例如中性缓冲盐溶液或磷酸盐缓冲液)、乙醇、矿物油、植物油、二甲亚砜、碳水化合物(例如葡萄糖、甘露糖、蔗糖或右旋糖)、甘露醇、蛋白质、辅料、多肽或氨基酸例如甘氨酸、抗氧化剂、螯合剂例如 EDTA 或谷胱甘肽和/或防腐剂。优选的药物组合物被配制成用于口服递送给人或其它动物(例如伴侣动物如狗或猫)。另外,本文所提供的药物组合物中可(但不必需)包含其它活性成分。

[0272] 药物组合物可配制成用于任何合适方式施用,包括例如吸入(例如经鼻或口服)、局部、口服、经鼻、直肠或肠胃外施用。本文所用的术语肠胃外包括皮下、皮内、血管内(例如静脉内)、肌内、脊髓、颅内、鞘内和腹膜内注射,以及任何类似的注射或输注技术。在某些实施方案中,优选适于口服施用的组合物形式。这些形式包括例如片剂、锭剂、糖锭剂、水性或油性混悬液、可分散粉末或颗粒、乳液、硬或软胶囊剂、或者糖浆或酏剂。在另一些实施方案中,本发明的组合物可配制成冻干物形式。

[0273] 旨在用于口服施用的组合物还可包含一种或多种组分例如甜味剂、调味剂、着色剂和/或防腐剂,以提供有吸引力的可口的制剂。片剂含有活性成分与适于制造片剂的生理可接受赋形剂的混合物。这些赋形剂包括例如以增加待制成片剂的材料总重的惰性稀释剂(例如碳酸钙、碳酸钠、乳糖、磷酸钙或磷酸钠)、改变在使用环境中崩解速率的造粒剂或崩解剂(例如玉米淀粉、淀粉衍生物、藻酸以及羧甲基纤维素的盐)、赋予粉末材料粘合性质的粘合剂(例如淀粉、明胶、阿拉伯胶和糖如蔗糖、葡萄糖、右旋糖和乳糖)以及润滑剂(例如硬脂酸镁、硬脂酸钙、硬脂酸或滑石)。可以使用标准技术制成片剂,包括干法制粒、直接压片以及湿法制粒。所述片剂可以是无包衣的,或者它们可通过已知方法包衣。

[0274] 用于口服使用的制剂还可以硬明胶胶囊的形式存在,其中所述活性成分与惰性固体稀释剂(例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土)混合,或者以软明胶胶囊的形式存在,其中所述活性成分与水或油性介质(例如花生油、液体石蜡或橄榄油)混合。

[0275] 水性混悬液包含活性物质与一种或多种合适赋形剂的混合物;所述赋形剂例如助悬剂(如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、黄耆胶和阿拉伯胶);和分散剂或润湿剂(例如天然磷脂如卵磷脂、亚烷基氧化物与脂肪酸的缩合产物例如聚氧乙烯硬脂酸酯、环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物例如十七亚乙基氧基鲸腊醇(heptadecaethyleneoxycetanol)、环氧乙烷与脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物例如聚氧乙烯山梨醇单油酸酯、或者环氧乙烷与脂肪酸和己糖醇酐的偏酯的缩合产物例如聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯)。水性混悬液还可包含一种或多种防腐剂例如对羟基苯甲酸乙酯或对羟基苯甲酸正丙酯、一种或多种着色剂、一种或多种调味剂以及一种或多种甜味剂,例如蔗糖或糖精。

[0276] 油性混悬液可以通过将活性成分混悬于植物油(例如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油)或矿物油例如液体石蜡中来配制。所述油性混悬液可含有增稠剂例如蜂蜡、固体

石蜡或鲸蜡醇。可加入甜味剂和 / 或调味剂以提供可口的口服制剂。可通过加入抗氧化剂例如抗坏血酸来保存这些混悬液。

[0277] 适于通过加入水来制备水性混悬液的可分散性粉剂和颗粒提供与分散剂或润湿剂、助悬剂以及一种或多种防腐剂相混合的活性成分。合适的分散剂或润湿剂以及助悬剂已在上文举例说明过。还可存在其它的赋形剂,例如甜味剂、调味剂和着色剂。

[0278] 药物组合物还可配制成水包油型乳剂。油相可以是植物油(例如橄榄油或花生油)、矿物油(如液体石蜡)或其混合物。合适的乳化剂包括天然胶(例如阿拉伯胶或黄蓍胶)、天然磷脂(例如大豆卵磷脂和脂肪酸与己糖醇的酯或偏酯)、酸酐(例如失水山梨醇单油酸酯)以及脂肪酸与己糖醇之偏酯与环氧乙烷的缩合产物(例如聚氧乙烯失水山梨醇单油酸酯)。乳剂还可包含一种或多种甜味剂和 / 或调味剂。

[0279] 糖浆和酏剂可以用甜味剂例如甘油、丙二醇、山梨醇或蔗糖来配制。这些制剂还可包含一种或多种缓和剂(demulcent)、防腐剂、调味剂和 / 或着色剂。

[0280] 可将药物组合物制备成无菌可注射水性或油性混悬液。根据所用的载体和浓度,所述活性成分可混悬或溶解在所述载体中。这些组合物可根据已知技术使用合适的分散剂、润湿剂和 / 或助悬剂(例如上文所述的那些)来配制。在可以使用的可接受载体和溶剂中有水、1,3-丁二醇、林格氏溶液和等渗氯化钠溶液。另外,无菌不挥发性油类可用作溶剂或混悬介质。为此目的,可使用任何温和的不挥发性油,包括合成的甘油单酯或甘油二酯。另外,脂肪酸例如油酸可用于制备注射用组合物,可将辅助剂例如局部麻醉剂、防腐剂和 / 或缓冲剂溶解于所述载体中。

[0281] 药物组合物还可制备成栓剂的形式(例如用于经直肠施用)。这些组合物可通过将所述药物与合适的非刺激性赋形剂混合来制备,所述赋形剂在常温下是固体但是在体温下是液体,因此在身体中会熔融以释放所述药物。适当的赋形剂包括例如可可脂和聚乙二醇。

[0282] 用于吸入的组合物通常可以溶液、混悬液或乳液的形式提供,其可以干燥粉末的形式施用,或者所述组合物可以以使用常规抛射剂(例如二氯二氟甲烷或者三氯氟甲烷)的气雾剂形式提供。

[0283] 药物组合物可以配制成以预定速率释放。可以通过例如舌下施用(即通过口施用,在这种方式下所述活性成分通过舌下的血管快速吸收,而不是通过消化道吸收)实现瞬时释放。控释制剂(即在施用后缓慢和 / 或延迟释放活性成分的制剂如胶囊剂、片剂或包衣片)可通过例如口服、经直肠或皮下植入或者在目标部位植入来施用。一般来说,控释制剂包含基质和 / 或包衣,所述包衣延迟在胃肠道(或植入部位)中的崩解和吸收,从而长期提供延迟作用或持续作用。一种类型的控释制剂是持续释放制剂,其中至少一种活性成分在一段时间内以恒定速率持续释放。优选地,所述治疗剂以使得血液(例如血浆)浓度保持在治疗范围内但是低于毒性水平的速率释放,其持续时间是至少4小时,优选至少8小时,更优选至少12小时。这些制剂通常可使用公知技术制备,通过例如口服、经直肠或皮下植入或者在所需目标部位植入来施用。用在这些制剂中的载体是生物相容性的,也可以是生物可降解的;优选地,所述制剂提供相对恒定的调节剂释放水平。在持续释放制剂中所含调节剂的量取决于例如植入部位、释放速率和预期释放持续时间以及待治疗或预防疾病的性质。

[0284] 可通过将所述活性成分与基质材料相组合来实现控制释放,所述基质材料本身改变释放速率和/或通过使用控制释放包衣来改变释放速率。可使用本领域公知的方法改变释放速率,包括(a)改变包衣的厚度或组成,(b)改变向包衣中添加增塑剂的量或方式,(c)包括其它的成分,例如释放调节剂,(d)改变所述基质的组成、颗粒大小或颗粒形状,以及(e)提供一个或多个穿过所述包衣的通道。在持续释放制剂中所含调节剂的量取决于例如施用方法(例如植入部位)、释放速率和预期释放持续时间以及待治疗或预防疾病的性质。

[0285] 其自身可具有或不具有控制释放功能的所述基质材料通常是支持所述活性成分的任何材料。例如,可使用时间延迟材料例如单硬脂酸甘油酯或者二硬脂酸甘油酯。活性成分可以在形成所述剂型(例如片剂)之前与基质材料组合。作为替代或者另外地,活性成分可以涂覆在包含所述基质材料的粒子、颗粒、球、微球、珠或丸的表面。这些涂覆可通过常规方法实现,例如通过将所述活性成分溶解于水或其他合适的溶剂中并喷雾。任选地,在涂覆之前可加入另外的成分(例如用以协助所述活性成分与所述基质材料的结合,或者用以对所述溶液染色)。然后可在应用控制释放包衣之前将所述基质涂覆屏障剂(barrier agent)。必要时,可以封装多个经包衣的基质单元以产生最终的剂型。

[0286] 在某些实施方案中,通过使用控制释放包衣(即允许以受控速率在水性介质中释放活性成分的包衣)实现控制释放。控制释放包衣应该是强韧的连续膜,其是平滑的(能够支持颜料及其他添加剂)、无毒的、惰性的且不剥落。调节所述调节剂释放的包衣包括非pH依赖性包衣、pH依赖性包衣(其可用于在胃中释放调节剂)和肠溶包衣(其允许所述制剂完整地通过胃进入小肠,在小肠中所述包衣溶解,内容物被身体所吸收)。显然,可使用多层包衣(例如,以允许剂量的一部分在胃中释放,而一部分沿着胃肠道释放)。例如,一部分活性成分可以包在肠衣之外,从而在胃中释放,而基质核心中活性成分的其余部分被肠溶包衣所保护,进一步沿胃肠道释放。pH依赖性包衣包括例如虫胶、醋酸纤维素邻苯二甲酸酯、聚醋酸乙烯酯邻苯二甲酸酯、羟丙基甲基纤维素邻苯二甲酸酯、甲基丙烯酸酯共聚物以及玉米朊。

[0287] 在某些实施方案中,所述包衣是疏水性材料,优选以施用后有效减缓胶凝剂水合的量使用。适当的疏水材料包括烷基纤维素(例如乙基纤维素或羧甲基纤维素)、纤维素醚、纤维素酯、丙烯酸聚合物(例如聚(丙烯酸)、聚(甲基丙烯酸)、丙烯酸和甲基丙烯酸共聚物、甲基丙烯酸甲酯共聚物、甲基丙烯酸乙氧基乙酯、甲基丙烯酸氰基乙基酯、甲基丙烯酸烷基酰胺共聚物、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚丙烯酰胺、甲基丙烯酸氨基酯共聚物、甲基丙烯酸氨基烷基酯共聚物、聚(甲基丙烯酸酐)和甲基丙烯酸缩水甘油酯共聚物)以及上述的混合物。代表性的乙基纤维素水分散体包括例如**AQUACOAT**[®](FMC Corp., Philadelphia, PA)和**SURELEASE**[®](Colorcon, Inc., West Point, PA),两者都可根据制造商说明书施加到所述基质。代表性的丙烯酸聚合物包括例如多种**EUDRAGIT**[®](Rohm America, Piscataway, NJ)聚合物,根据制造商说明书,其可单独使用或者根据所需的释放特征组合使用。

[0288] 可通过加入一种或多种增塑剂来改善包含疏水性材料水分散体的包衣的物理性能。用于烷基纤维素的合适增塑剂包括例如癸二酸二丁酯、邻苯二甲酸二乙酯、柠檬酸三乙酯、柠檬酸三丁酯和三乙酸甘油酯。用于丙烯酸聚合物的合适增塑剂包括例如枸橼酸酯(例如柠檬酸三乙酯和柠檬酸三丁酯、邻苯二甲酸二丁酯、聚乙二醇、丙二醇、邻苯二甲酸二

乙酯、蓖麻油和三乙酸甘油酯)。

[0289] 通常使用常规方法施加控制释放包衣,例如通过水性分散体系形式的喷雾。必要时,所述包衣可包含孔或通道以便于释放活性成分。可通过公知方法产生孔和通道,包括加入在使用环境中从所述包衣中溶解、析出或渗漏出的有机或无机材料。一些这样的成孔材料包括亲水性聚合物,例如羟基烷基纤维素(如羟丙基甲基纤维素)、纤维素醚、合成的水溶性聚合物(例如聚乙烯吡咯烷酮、交联聚乙烯吡咯烷酮和聚环氧乙烷)、水溶性聚葡萄糖、糖类和多糖以及碱金属盐。作为替代或者另外地,控制释放包衣可包含一个或多个孔,其可通过例如美国专利 No. 3,845,770、4,034,758、4,077,407、4,088,864、4,783,337 和 5,071,607 中所述的方法形成。控制释放还可使用常规技术通过使用透皮贴剂实现(参见例如美国专利 No. 4,668,232)。

[0290] 控制释放制剂及其组分的其它实例可见于例如美国专利 No. 4,572,833、4,587,117、4,606,909、4,610,870、4,684,516、4,777,049、4,994,276、4,996,058、5,128,143、5,202,128、5,376,384、5,384,133、5,445,829、5,510,119、5,618,560、5,643,604、5,891,474、5,958,456、6,039,980、6,143,353、6,126,969、6,156,342、6,197,347、6,387,394、6,399,096、6,437,000、6,447,796、6,475,493、6,491,950、6,524,615、6,838,094、6,905,709、6,923,984、6,923,988、和 6,911,217。

[0291] 除上述施用模式之外或者与之同时,本文所提供的哌嗪基氧代烷基四氢- β -咪啉或相关类似物可便利地加入到食物或饮水中(例如,用于施用给非人动物,包括伴侣动物(例如狗和猫)和家畜)。可配制动物饲料和饮用水组合物,以使得动物随着它的饮食摄取合适量的所述组合物。还可便利地以预混物形式提供所述组合物,用于加入到饲料或饮水中。

[0292] 本文提供的哌嗪基氧代烷基四氢- β -咪啉及相关类似物通常以在施用后提供治疗有效量的水平存在于药物组合物中,如上所述。提供约 0.1mg 至约 140mg/kg 体重/天的剂量水平的剂型是优选的(约 0.5mg 至约 7g/人患者/天)。可与载体材料组合产生单一剂型的活性成分的量根据所治疗宿主和具体的施用方式而改变。剂量单位形式通常含有约 0.1mg 至约 2g、优选 0.5mg 至 1g、更优选 1mg 至 500mg 的活性成分。但是,应当理解的是,对于任何特定患者而言最优剂量会取决于多种因素,包括所用具体化合物的活性;患者的年龄、体重、总体健康情况、性别和饮食;施用的时间和途径;排泄速率;任何同时进行治疗,例如药物组合;以及进行治疗的特定疾病的类型和严重程度。可使用本领域中公知的常规测试和方法来确定最优剂量。

[0293] 药物组合物可被包装用于治疗响应于 H3 受体调节的疾病,包括本文具体描述的那些。经包装药物制剂包含容纳一个或多个剂量单位的容器和说明(例如标签),所述单位包含如本文所述治疗有效量的至少一种 H3 受体调节剂,所述说明显示所含组合物将用于治疗患者中响应于 H3 受体调节的疾病。

[0294] 使用方法

[0295] 本文提供的 H3 受体调节剂可用于在多种情形中体内和体外改变 H3 受体活性和/或活化。在某些方面中,H3 受体调节剂可用于体内或体外抑制或提高(优选抑制)H3 受体活性。一般来说,这些方法包括使 H3 受体与本文提供的一种或多种 H3 受体调节剂相接触的步骤,其是在水溶液中或者适于所述调节剂与 H3 受体结合的条件下进行的。H3 受体调

节剂通常以足以体外改变 H3 受体 GTP 结合活性的浓度存在（使用实施例 7 提供的测定）。H3 受体可存在于溶液或混悬液中（例如在分离的膜或细胞制备物中），或者在培养的或分离的细胞中。在某些实施方案中，所述 H3 受体存在于患者中（例如由神经元细胞表达），所述水溶液是体液。优选地，一种或多种 H3 受体调节剂是以下述量施用给患者的，所述量是使得每种 H3 受体调节剂在患者的至少一种体液中以治疗有效浓度存在，所述浓度是 1 微摩尔 / 升或更少；优选 500 纳摩尔 / 升或更少；更优选 100 纳摩尔 / 升或更少，50 纳摩尔 / 升或更少，20 纳摩尔 / 升或更少，或者 10 纳摩尔 / 升或更少。例如，这些化合物可以小于 20mg/kg 体重、优选小于 5mg/kg 的剂量施用，在一些情形下，以小于 1mg/kg 的剂量施用。可以通过测定用本文提供的一种或多种 H3 受体调节剂治疗的患者中症状（例如记忆或注意力）的变化来评估 H3 受体活性的体内调节。

[0296] 本发明还提供了用于治疗响应于 H3 受体调节的疾病的方法。在本发明的情形中，术语“治疗”涵盖疾病调节性治疗和针对症状的治疗，这两者都可以是预防性的（即在症状发生之前，为了防止、延迟或降低症状的严重程度）或者治疗性的（即在症状发生之后，为了降低症状的严重程度和 / 或持续时间）。如果疾病的特征在于不论局部存在的 H3 受体配体的量如何，都有不相称的 H3 受体活性，和 / 或如果 H3 受体活性的调节导致疾病或其症状的减轻，则该疾病是“响应于 H3 受体调节”的。这样的疾病可使用本领域既定标准进行诊断和监测。患者可包括人、驯化的陪伴动物和家畜，其中剂量如上所述。

[0297] 响应于 H3 受体调节的疾病包括，例如：

[0298] 心血管疾病，包括动脉粥样硬化、高血压、心肌梗塞、冠心病和中风；

[0299] 癌症（例如子宫内膜癌、乳癌、前列腺癌和结肠癌、皮肤恶性肿瘤、甲状腺髓样癌和黑素瘤）；

[0300] 代谢疾病包括葡萄糖耐受受损、血脂异常（dyslipidaemia）和糖尿病（例如非胰岛素依赖型糖尿病）；

[0301] 免疫疾病和病症，包括骨关节炎、过敏（例如过敏障碍鼻炎）和炎症；

[0302] 呼吸疾病，包括鼻充血、上呼吸道过敏反应、哮喘和慢性阻塞性肺病；

[0303] 与睡眠和觉醒或者唤醒和失眠的调节相关的障碍，包括过度白日嗜睡（EDS）；换班工作病；发作性睡病；时差综合症和睡眠障碍，例如原发性失眠，特发性过度睡眠，昼夜节律睡眠障碍，睡眠障碍 NOS，深眠状态包括恶梦疾病，睡眠恐惧症，抑郁、焦虑和 / 或其他的精神疾病继发的睡眠障碍以及物质引起的睡眠障碍；

[0304] 疲劳和疲劳相关疾病，例如睡眠 / 疲劳疾病、由于围绝经期激素变化导致的睡眠受损、帕金森病相关的疲劳、多发性硬化相关的疲劳以及化疗引起的疲劳；

[0305] 进食障碍（例如暴食、狂食和食欲减退）和肥胖；

[0306] 消化系统和胃肠道疾病，包括胆囊疾病、溃疡、胃肠道高运动性和低运动性以及肠易激综合征；

[0307] CNS 疾病，包括中枢神经系统高活性和低活性、偏头痛、癫痫、惊厥、情绪疾病、注意力缺陷障碍、注意力缺陷多动症、双相障碍、抑郁、躁狂症、强迫症、精神分裂症、偏头痛、眩晕、晕动病、痴呆、认知障碍（例如在精神错乱中，例如轻度认知损伤）、学习障碍、记忆力障碍（例如年龄相关记忆力功能异常）、多发性硬化、帕金森病、阿尔茨海默氏病及其他神经退行性疾病、成瘾（例如由药物滥用所致）、神经源性炎症和 Tourette 综合征；

[0308] 前庭功能紊乱（例如 Meniere 病、眩晕和晕动病）；

[0309] 疼痛（例如炎症性疼痛或神经性疼痛）和发痒；

[0310] 脓毒性休克；和

[0311] 青光眼。

[0312] H3 受体调节剂还可用于提高患者的认知能力。

[0313] 在某些实施方案中，本文提供的哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉及相关类似物用于治疗阿尔茨海默病、帕金森病、精神分裂症、情绪和注意力改变包括注意力缺陷多动症以及注意力缺陷障碍、记忆和学习障碍、认知障碍（例如轻度认知障碍和精神病理学中的认知障碍）、癫痫、偏头痛和与睡眠和觉醒调节相关的疾病，以及用于治疗 and 预防例如肥胖、进食障碍、糖尿病、眩晕、晕动病和过敏性鼻炎的疾病。治疗方案可根据所用的化合物以及待治疗的具体疾病而变化。但是，对于大多数疾病的治疗，一天四次或更少的施用频率是优选的。一般来说，一天 2 次的给药方案是更优选的，一天一次的给药是特别优选的。但是，应当理解的是，对于任何特定患者而言，具体剂量水平和治疗方案会取决于多种因素，包括所用具体化合物的活性；年龄；体重；总体健康情况；性别和饮食；施用时间、施用途径；排泄速率；药物组合；以及进行治疗的特定疾病和严重程度。一般来说，优选使用足以提供有效治疗的最小剂量。一般可使用适于所治疗或预防疾病的医学或兽医标准来监测患者的疗效。

[0314] 在其它方面中，本文提供的 H3 受体调节剂可在组合疗法中使用，以治疗响应于 H3 受体调节的疾病，如上所述。或者，这些 H3 调节剂可与诱导嗜睡作为不良反应相关的药物组合使用，以限制对嗜睡的诱导。在这些组合治疗中，将 H3 受体调节剂与不是 H3 受体调节剂的第二治疗剂一起施用给患者。H3 受体调节剂和第二治疗剂可存在于相同药物组合物中，或者以任意顺序分别施用。显然，还可以（但不必需）施用另外的治疗剂。

[0315] 适用于这些组合治疗的第二治疗剂包括例如抗肥胖药、抗糖尿病药、抗高血压药、抗抑郁药、抗精神病药以及抗炎药。在某些组合中，所述第二治疗剂是用于治疗注意力缺陷障碍或者注意力缺陷多动症的化合物、抗精神病药或者抗肥胖药。

[0316] 组胺 H1 受体调节剂代表一类第二治疗剂。可在例如阿尔茨海默病、炎症性疾病和过敏性疾病的治疗中使用与 H1 受体调节剂的组合。代表性 H1 受体拮抗剂包括例如氯雷他定、地氯雷他定、非索非那定和西替利嗪。其它 H1 受体拮抗剂包括依巴斯汀、咪唑斯汀、阿伐斯汀、阿司咪唑、阿扎他定、氮䓬斯汀、溴苯那敏、氯苯那敏、氯马斯汀、赛庚啶、右氯苯那敏、苯海拉明、羟嗪、左卡巴斯汀、异丙嗪和曲吡那敏。已知许多这些药剂诱导嗜睡的不良反应。

[0317] 用于组合治疗的抗肥胖治疗剂包括例如瘦蛋白、瘦蛋白受体激动剂、黑色素聚集激素 (MCH) 受体拮抗剂、黑皮素 (melanocortin) 受体 3 (MC3) 激动剂、黑皮素受体 4 (MC4) 激动剂、促黑激素 (MSH) 激动剂、可卡因和苯丙胺调节转录肽 (CART) 激动剂、二肽基氨基肽酶抑制剂、生长激素促分泌素、 β -3 肾上腺素能激动剂、5HT-2 激动剂、开胃素 (orexin) 拮抗剂、神经肽 Y₁ 或 Y₅ 拮抗剂、肿瘤坏死因子 (TNF) 激动剂、甘丙肽拮抗剂、尿皮质素 (urocortin) 激动剂、缩胆囊肽 (CCK) 激动剂、GLP-1 激动剂、5-羟色胺 (5HT) 激动剂、铃蟾肽激动剂、CB1 拮抗剂比如利莫那班 (rimonabant)、生长激素、生长因子比如促乳素或胎盘催乳激素、生长激素释放化合物、促甲状腺素 (TRH) 激动剂、解偶联蛋白 2 或 3 (UCP2 或 3) 调节剂、多巴胺激动剂（例如部分 D2 激动剂 apindore）、调节脂类代谢的药例如降血脂药（例如考来烯胺、考来替泊、氯贝丁酯、吉非贝齐、洛伐他汀、普伐他汀、辛伐他汀、普罗布考

或右旋甲状腺素)、脂酶/淀粉酶抑制剂、过氧化物酶体增殖物激活受体 (PPAR) 调节剂、类视黄醛 X 受体 (RXR) 调节剂、TR- β 激动剂、刺豚鼠相关蛋白 (AGRP) 抑制剂、阿片类物质拮抗剂例如纳曲酮、exendin-4、GLP-1、睫状神经营养因子、促肾上腺皮质激素释放因子结合蛋白 (CRF BP) 拮抗剂和/或促肾上腺皮质激素释放因子 (CRF) 激动剂。代表性的这些药剂包括例如西布曲明、右芬氟拉明、右旋苯丙胺、苯丙胺、奥利司他、马吲哚、芬特明、苯甲曲秦、安非拉酮、氟西汀、安非他酮、托吡酯和伊考匹泮 (ecopipam)。

[0318] 用于组合治疗的抗高血压治疗剂包括例如 β -阻断剂如阿普洛尔、阿替洛尔、噻吗洛尔、吲哚洛尔、普萘洛尔和美托洛尔, 血管紧张素转化酶 (ACE) 抑制剂比如贝那普利、卡托普利、依那普利、福辛普利、赖诺普利、喹那普利和雷米普利, 钙通道阻断剂例如硝苯地平、非洛地平、尼卡地平、伊拉地平、尼莫地平、地尔硫革和维拉帕米, α -阻断剂比如多沙唑啉、乌拉地尔、哌唑啉和特拉唑啉和血管紧张素受体阻断剂比如氯沙坦。

[0319] 用于组合治疗的 CNS 活性剂包括但不限于下列物质, 其中许多已知诱导嗜睡的不良反应: 针对焦虑、抑郁、情绪疾病或精神分裂症-5-羟色胺受体 (例如 5-HT_{1A}) 激动剂和拮抗剂、神经激肽受体拮抗剂、GABA 能药和促肾上腺皮质激素释放因子受体 (CRF₁) 拮抗剂; 对于睡眠疾病-褪黑素受体激动剂; 以及对于神经退行性疾病-例如阿尔茨海默氏痴呆、烟碱激动剂、毒蕈碱药、乙酰胆碱酯酶抑制剂和多巴胺受体激动剂。例如, 这些组合治疗可包含选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂 (SSRI) 或非选择性 5-羟色胺、多巴胺和/或去甲肾上腺素再摄取抑制剂。这些试剂包括例如氟西汀、舍曲林、帕罗西汀、阿米替林、赛乐特 (seroxat) 和西酞普兰。对于认知障碍, 用于组合治疗的代表性药剂包括 GABA 能药。

[0320] 适用于组合治疗的其它治疗剂包括例如改变胆碱能传导的药 (例如 5-HT₆ 拮抗剂)、M1 毒蕈碱激动剂、M2 毒蕈碱拮抗剂和乙酰胆碱酯酶抑制剂。

[0321] 这些组合治疗中 H3 受体调节剂的合适剂量通常如上所述。其它治疗剂的施用剂量和方法可见于例如医生案头参考 (Physician's DeskReference) 中制造商的说明中。在某些实施方案中, H3 受体调节剂与第二治疗剂的组合施用导致产生治疗效果所需的第二治疗剂的剂量减少 (即最小治疗有效量降低)。因此, 组合或组合治疗方法中所述第二治疗剂的剂量优选小于制造商建议的用于在不与 H3 受体调节剂组合施用时的最大剂量。更优选地, 此剂量小于制造商对于第二治疗剂在不与 H3 受体调节剂组合施用时的建议的最大剂量的四分之三, 甚至更优选小于二分之一, 高度优选小于四分之一, 最优选小于最大剂量的 10%。显然, 实现期望作用所需的所述组合中 H3 受体调节剂组分的剂量可能类似地受所述组合中其他治疗组分的剂量和效力的影响。

[0322] 在某些优选的实施方案中, H3 受体调节剂与其他治疗剂的组合施用是通过将一种或多种 H3 受体调节剂和一种或多种其他治疗剂包装在同一包装中来实现的, 其或者在所述包装中分开的容器内或者作为一种或多种 H3 受体调节剂和一种或多种其他治疗剂的混合物存在于相同容器内。优选的混合物配制成用于口服施用 (例如以丸剂、胶囊剂、片剂等的形式)。在某些实施方案中, 所述包装包含带标记的标签, 其显示所述一种或多种 H3 受体调节剂和一种或多种其他治疗剂一起用于治疗注意力缺陷障碍、注意力缺陷多动症、精神分裂症、认知障碍 (例如轻度认知障碍)、癫痫、偏头痛、睡眠疾病、过度白日嗜睡 (EDS)、换班工作病、发作性睡病、过敏性鼻炎、眩晕、晕动病, 记忆力疾病 (例如阿尔茨海默病、帕金森病)、肥胖, 进食障碍或糖尿病。

[0323] 在不同的方面,本发明提供了本文提供的哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉及相关类似物的多种体外和体内的非药物用途。例如,这些化合物可以被标记并用作检测和定位 H3 受体的探针(在例如细胞制备物或者组织切片、制备物或其级分的样品中)。另外,本文提供的包含合适的反应基团(例如芳基羰基、硝基或叠氮基)的化合物可用于受体结合部位的光亲和标记研究。本文提供的化合物还可用作受体活性测定的阳性对照,用作测定候选药剂的结合 H3 受体能力的标准,或者用作正电子发射断层(PET)成像或者单光子发射计算机断层(SPECT)的放射性示踪剂。这些方法可用于在活体对象中表征 H3 受体。例如,可使用多种公知技术(例如用放射性核素如氟进行放射性标记,如本发明所述)中的任意一种标记哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉或相关类似物,其可与样品一起孵育合适的孵育时间(例如首先通过测定结合时程来确定)。在孵育之后,除去未结合的哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉或相关类似物(例如通过清洗),使用任何适于所用标记的方法测定结合的哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉或相关类似物(例如对于放射性标记化合物用放射自显影或闪烁计数;光谱法可用于测定发光基团和荧光基团)。可以用同样方式处理含有标记化合物和更大量(例如多 10 倍)未标记化合物的匹配样品作为对照。在测试样品中比对照中剩余更大量的可检出标记表示样品中存在 H3 受体。可进行检测测定,包括在培养细胞或组织样品中 H3 受体的受体放射自显影(受体作图),如 Kubar 在 *Current Protocols in Pharmacology*(1998) John Wiley & Sons, New York 的 8.1.1 至 8.1.9 节中所述。

[0324] 本文提供的哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉及相关类似物还可以在多种公知的细胞分离方法中使用。例如,调节剂可连接到组织培养板或其它载体的内表面上,以作用于固定化的亲合配体,由此体外分离 H3 受体(例如分离表达受体的细胞)。在一个优选的实施方案中,使连接荧光标志物比如萤光素的调节剂与细胞接触,然后通过荧光活化细胞分选(FACS)分析(或分离)细胞。

[0325] 本文提供的哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉及相关类似物还可用于鉴定结合 H3 受体的其它物质的测定中。一般来说,这些测定是标准竞争性结合测定,其中结合的带标记哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉或相关类似物被测试化合物替代。简要地说,这些测定如下进行:(a) 在允许如本发明所述哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉或相关类似物结合 H3 受体的条件下,使 H3 受体与放射性标记的所述哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉或相关类似物接触,由此产生结合的带标记哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉或相关类似物;(b) 在没有测试物质的情况下,测定对应于结合的带标记哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉或相关类似物的量的信号;(c) 使结合的带标记哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉或相关类似物与测试物质相接触;(d) 在测试物质存在的情况下,测定对应于结合的带标记哌嗪基氧代烷基四氢- β -咔啉或相关类似物的量的信号;和(e) 测定步骤(d)中检测的信号相比于步骤(b)中检测的信号减少,由此鉴定结合 H3 受体的物质。

[0326] 以示例性而非限制性的方式提供下列实施例。除非另作说明,否则所有试剂和溶剂是标准工业级,并且在不经进一步纯化的情况下使用。使用常规的修改,所述起始材料可以有变化,可使用另外的步骤以产生本文提供的其它化合物。

[0327] 实施例

[0328] 此实施例和下列实施例中的质谱数据是电喷雾(MS),以阳离子模式获得,使用 Micromass 飞行时间 LCT(Micromass, Beverly MA),装备有 Waters 600 泵(Waters

Corp., Milford, MA)、Waters 996 光电二极管阵列检测器、Gilson 215 自动加样器 (Gilson, Inc. Middleton, WI) 和 Gilson841 微量注射器。使用采用 OpenLynx 处理的 MassLynx (AdvancedChemistry Development, Inc ;Toronto, Canada) 4.0 版软件进行数据采集和分析。MS 条件如下:毛细管电压= 3.5kV;锥孔电压= 30V,去溶剂化和源温度分别= 350℃和 120℃;质量范围= 181-750,扫描时间为 0.22 秒和扫描间隔时间为 0.05 分钟。

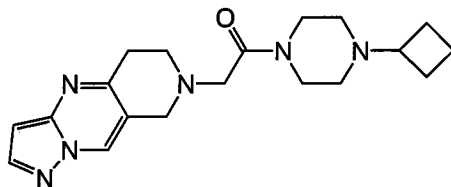
[0329] 将 1 微升体积的样品注射到 50×4.6mm Chromolith SpeedRODRP-18e 柱 (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) 上,使用 2 相线性梯度以 6mL/ 分钟的流速洗脱。使用 220-340nm UV 范围内的总吸光度计数检测样品。洗脱条件如下:流动相 A-95/5/0.05 水 / 甲醇 /TFA;流动相 B-5/95/0.025 水 / 甲醇 /TFA。按注射循环间隔 2.2 分钟使用下列梯度:0-0.5 分钟 10-100% B,保持在 100% B 至 1.2 分钟,在 1.21 分钟回复到 10% B。

[0330] 实施例 1

[0331] 代表性化合物的制备

[0332] 1.7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-5,6,7,8-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[4,3-d]嘧啶(方案2)

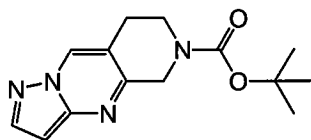
[0333]



[0334] 化合物 1

[0335] 步骤 1.7,8-二氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[3,4-d]嘧啶-6(5H)-羧酸叔丁酯

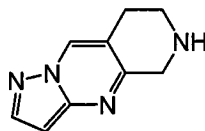
[0336]



[0337] 向 3-二甲基氨基亚甲基-4-氧代-哌啶-1-羧酸叔丁酯(775mg, 3.05mmol) 的无水 DMF(10ml) 溶液中添加 5-氨基吡唑(253mg, 3.05mmol)。在 120℃下过夜加热所述混合物。将混合物冷却至室温,在乙醚(100ml) 和水(100ml) 之间分配,然后用乙醚萃取(2×100ml)。合并有机萃取物,用水(100mL) 和盐水(100mL) 洗,干燥,蒸发得到粗产物。MS(+VE)m/z275. 21 (M⁺+1)。

[0338] 步骤 2.5,6,7,8-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[3,4-d]嘧啶

[0339]

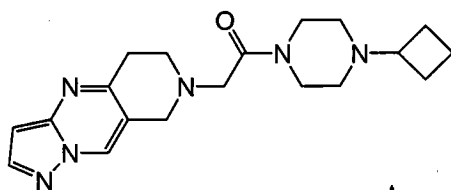


[0340] 将 7,8-四氢吡唑并[1,5-a]吡啶并[3,4-d]嘧啶-6(5H)-羧酸叔丁酯(327mg, 1.20mmol) 溶于二噁烷(5ml) 中的 4N HCl 中,在室温下搅拌 4 小时。减压除去溶剂,得到盐酸盐形式的标题化合物。MS(+VE)m/z175. 11 (M⁺+1)。

[0341] 步骤 3.7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-5,6,7,8-四氢吡唑并[1,

5-a] 吡啶并 [4,3-d] 嘧啶

[0342]

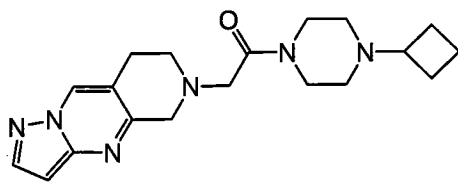


[0343] 向 5,6,7,8-四氢吡啶并 [1,5-a] 吡啶并 [3,4-d] 嘧啶盐酸盐 (250mg, 1.19mmol) 的乙腈 (5ml) 溶液中添加 NaI (50mg, 0.333mmol)、 K_2CO_3 (400mg, 2.90mmol) 和 1-(氯乙酰基)-4-环丁基哌嗪 (257mg, 1.19mmol)。室温下搅拌所述混合物过夜。用 DCM (25ml) 稀释混合物, 通过硅藻土过滤。浓缩滤液, 用 PTLC 纯化残留物, 其用乙酸乙酯 / 甲醇 / TEA (95 : 5 : 5) 洗脱得到标题化合物。

[0344] ^1H NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ 8.24 (1H, s), 8.11 (1H, d), 6.71 (1H, d), 3.81 (2H, s), 3.65-3.58 (4H, m), 3.50 (2H, s), 3.31 (2H, t), 3.04 (2H, t), 2.65 (1H, m), 2.36-2.30 (4H, m), 2.09-1.67 (m, 6H); MS (+VE) m/z 355.17 (M^+ +1)。

[0345] 2.6-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-5,6,7,8-四氢吡啶并 [1,5-a] 吡啶并 [3,4-d] 嘧啶 (方案 3)

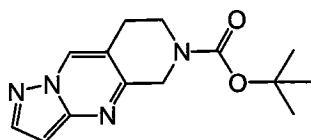
[0346]



[0347] 化合物 2

[0348] 步骤 1. 7,8-二氢吡啶并 [1,5-a] 吡啶并 [3,4-d] 嘧啶-6(5H)-羧酸叔丁酯

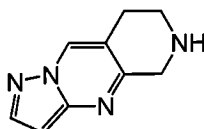
[0349]



[0350] 向 4-[(二甲基氨基)亚甲基]-3-氧代哌啶-1-羧酸叔丁酯 (1.20g, 4.22mmol) 的无水 DMF (10ml) 溶液中添加 5-氨基吡啶 (509g, 6.13mmol) 和 K_2CO_3 (2.33g, 16.9mmol)。在 120℃ 下加热所述混合物过夜。将混合物冷却至室温, 在乙醚 (100ml) 和水 (100ml) 之间分配, 然后用乙醚萃取 (2×100ml)。合并有机萃取物, 用水 (100mL) 和盐水 (100mL) 洗。干燥有机萃取物, 蒸发得到标题化合物。MS (+VE) m/z 275.20 (M^+ +1)。

[0351] 步骤 2. 5,6,7,8-四氢吡啶并 [1,5-a] 吡啶并 [3,4-d] 嘧啶

[0352]

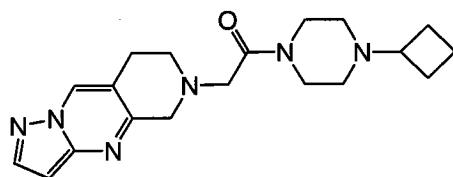


[0353] 将 7,8-四氢吡啶并 [1,5-a] 吡啶并 [3,4-d] 嘧啶-6(5H)-羧酸叔丁酯 (140mg, 0.51mmol) 溶于 TFA (5ml) 中, 在室温下搅拌 3 小时。减压除去溶剂, 得到三氟乙酸盐形式的

标题化合物。MS(+VE)m/z 175.12 (M^+ 1)。

[0354] 步骤 3.6-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-5,6,7,8-四氢吡啶并[1,5-a]吡啶并[3,4-d]嘧啶

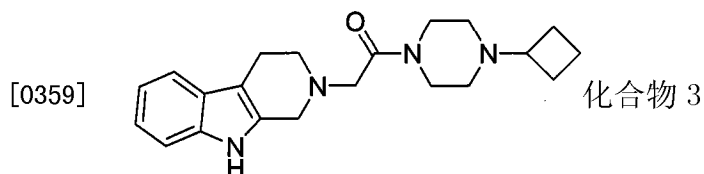
[0355]



[0356] 向 5,6,7,8-四氢吡啶并[1,5-a]吡啶并[3,4-d]嘧啶三氟乙酸盐 (146mg, 0.51mmol) 的乙腈 (5ml) 溶液中添加 NaI (50mg, 0.333mmol)、 K_2CO_3 (750mg, 5.42mmol) 和 1-(氯乙酰基)-4-环丁基哌嗪 (120mg, 0.56mmol)。室温下搅拌所述混合物过夜。用 DCM (25ml) 稀释混合物, 通过硅藻土过滤。浓缩滤液, 用 PTLC 纯化残留物, 其用乙酸乙酯/甲醇/TEA (90 : 10 : 5) 洗脱得到标题化合物。

[0357] ^1H NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ 8.09 (1H, s), 7.96 (1H, d), 6.59 (1H, d), 4.17 (2H, s), 3.64-3.57 (4H, m), 3.52 (2H, t), 3.49 (2H, s), 3.31 (2H, t), 2.65 (1H, m), 2.36-2.30 (4H, m), 2.07-1.65 (m, 6H); MS(+VE)m/z 355.15 (M^+ 1)。

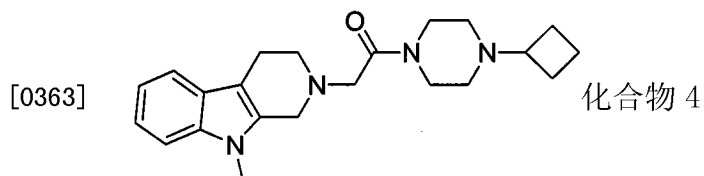
[0358] 3.2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉 (方案 4)



[0360] 向 2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉 (Aldrich; 150mg, 0.87mmol) 的乙腈 (10ml) 溶液中添加 NaI (50mg, 0.333mmol)、 K_2CO_3 (300mg, 2.17mmol) 和 1-(氯乙酰基)-4-环丁基哌嗪 (226mg, 1.05mmol)。室温下搅拌所述混合物过夜。用 DCM (25ml) 稀释混合物, 通过硅藻土过滤。浓缩滤液, 用 PTLC 纯化残留物, 其用乙酸乙酯/甲醇/TEA (90 : 10 : 5) 洗脱得到标题化合物。

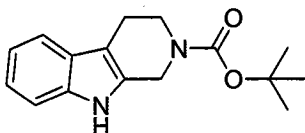
[0361] ^1HNMR (300MHz, $CDCl_3$) δ 8.29 (1H, br, 不包含 s), 7.45 (1H, d), 7.30 (1H, d), 7.09 (2H, m), 3.75 (2H, s), 3.66-3.61 (4H, m), 3.43 (2H, s), 2.91 (2H, t), 2.80 (2H, t), 2.69 (1H, m), 2.29-2.28 (4H, m), 2.04-1.99 (2H, m), 1.89-1.83 (2H, m); 1.73-1.67 (2H, m); MS(+VE)m/z 353.14 (M^+ 1)。

[0362] 4.2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-甲基-2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉 (方案 4)



[0364] 步骤 1.1,3,4,9-四氢-2H- β -咔啉-2-羧酸叔丁酯

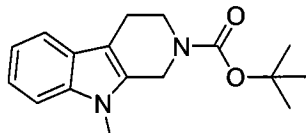
[0365]



[0366] 向 2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉 (300mg, 1.74mmol) 的 THF (10ml) 和 1N NaOH (2ml) 溶液中添加二碳酸二叔丁酯 (380mg, 1.80mmol)。室温下搅拌所述混合物 3 小时。加入乙酸乙酯 (50ml), 用 1N NaOH (2×50ml) 萃取混合物。用 Na₂SO₄ 干燥有机萃取物, 减压蒸发得到标题化合物。MS (+VE)m/z 273.25 (M⁺+1)。

[0367] 步骤 2. 9-甲基-1,3,4,9-四氢-2H-β-咔啉-2-羧酸叔丁酯

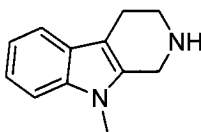
[0368]



[0369] 向 1,3,4,9-四氢-2H-β-咔啉-2-羧酸叔丁酯 (337mg, 1.24mmol) 的 DMF (10ml) 溶液中添加 NaH (60% ; 94mg, 2.48mmol)。室温下搅拌所述混合物一个半小时。加入碘甲烷 (0.115mL, 1.86mmol), 将混合物搅拌 1 小时。加入水 (50ml), 用乙醚萃取混合物 (2×50ml)。用水 (100mL) 和盐水 (100mL) 洗合并的有机萃取物, 用 Na₂SO₄ 干燥, 减压蒸发。用硅胶色谱纯化残留物, 其用己烷 / 乙酸乙酯 (6 : 1) 洗脱得到标题化合物。MS (+VE)m/z 287.27 (M⁺+1)。

[0370] 步骤 3. 9-甲基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉

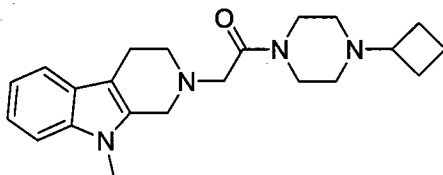
[0371]



[0372] 向 9-甲基-1,3,4,9-四氢-2H-β-咔啉-2-羧酸叔丁酯 (354mg, 1.24mmol) 的 DCM (10ml) 溶液中加入三氟乙酸 (5ml)。室温下搅拌所述混合物 2 小时。减压除去溶剂, 得到三氟乙酸盐形式的标题化合物。MS (+VE)m/z 287.27 (M⁺+1)。

[0373] 步骤 4. 2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-甲基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉

[0374]

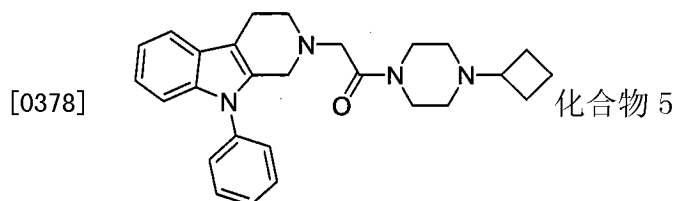


[0375] 向 9-甲基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉三氟乙酸盐 (105mg, 0.35mmol) 的乙腈 (10mL) 溶液中添加 NaI (50mg, 0.333mmol)、K₂CO₃ (400mg, 2.89mmol) 和 1-(氯乙酰基)-4-环丁基哌嗪 (105mg, 0.48mmol)。室温下搅拌所述混合物过夜。用 DCM (25mL) 稀释混合物, 通过硅藻土过滤。浓缩滤液, 用 PTLC 纯化残留物, 其使用乙酸乙酯 / 甲醇 / TEA (90 : 10 : 5) 得到标题化合物。

[0376] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7.47 (1H, d), 7.26 (1H, d), 7.17 (1H, t), 7.08 (1H, t),

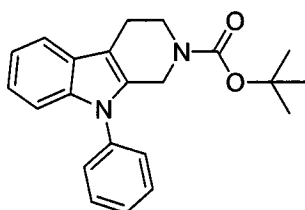
3.77 (2H, s), 3.67–3.65 (4H, m), 3.59 (3H, s), 3.48 (2H, s), 2.91 (2H, t), 2.82 (2H, t), 2.68 (1H, m), 2.30–2.27 (4H, m), 2.04–1.98 (2H, m), 1.87–1.83 (2H, m); 1.72–1.67 (2H, m); MS(+VE) m/z 367.10 ($M^+ + 1$).

[0377] 5. 2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-苯基-2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉 (方案4)



[0379] 步骤 1. 9-苯基-1,3,4,9-四氢-2H- β -咔啉-2-羧酸叔丁酯

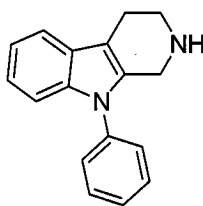
[0380]



[0381] 向 1,3,4,9-四氢-2H- β -咔啉-2-羧酸叔丁酯 (250mg, 0.92mmol) 的二噁烷 (5mL) 溶液中添加溴苯 (288mg, 1.84mmol)、 Pd_2dba_3 (84mg, 0.092mmol)、Xantphos (53mg, 0.092mmol) 和 CS_2CO_3 (400mg, 1.23mmol)。用氮气对混合物脱气, 在 110°C 下加热所述混合物过夜。将混合物冷却至室温, 用 DCM (25mL) 稀释混合物。用硅藻土过滤混合物, 减压蒸发滤液。用硅胶色谱纯化残留物, 其用己烷/乙酸乙酯 (2 : 1) 洗脱得到标题化合物。MS(+VE) m/z 349.20 ($M^+ + 1$)。

[0382] 步骤 2. 9-苯基-2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉

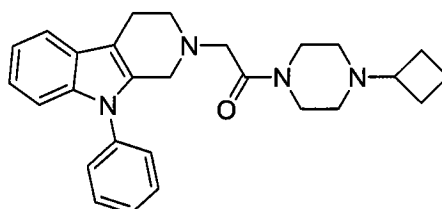
[0383]



[0384] 将 9-苯基-1,3,4,9-四氢-2H- β -咔啉-2-羧酸叔丁酯 (268mg, 0.77mmol) 溶于二噁烷 (5mL) 中的 4N HCl, 室温下搅拌 4 小时。减压蒸发溶剂, 得到盐酸盐形式的标题化合物。MS(+VE) m/z 249.14 ($M^+ + 1$)。

[0385] 步骤 3. 2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-苯基-2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉

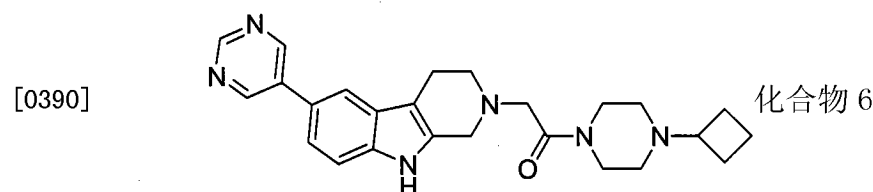
[0386]



[0387] 向 9-苯基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉盐酸盐 (270mg, 0.77mmol) 的乙腈 (10mL) 溶液中添加 NaI (50mg, 0.333mmol)、K₂CO₃ (400mg, 2.89mmol) 和 1-(氯乙酰基)-4-环丁基哌嗪 (200mg, 0.927mmol)。室温下搅拌所述混合物过夜。用 DCM (25mL) 稀释混合物, 通过硅藻土过滤。浓缩滤液, 用 PTLC 纯化残留物, 其用乙酸乙酯/甲醇/TEA (95 : 5 : 5) 洗脱得到标题化合物。

[0388] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 7.55-7.49 (3H, m), 7.43-7.34 (3H, d), 7.24 (1H, t), 7.16-7.13 (2H, m), 3.65-3.63 (6H, m), 3.42 (2H, s), 2.99 (2H, t), 2.90 (2H, t), 2.72 (1H, m), 2.33-2.30 (4H, m), 2.03-1.98 (2H, m), 1.93-1.86 (2H, m); 1.74-1.68 (2H, m); MS (+VE) m/z 429.13 (M⁺+1)。

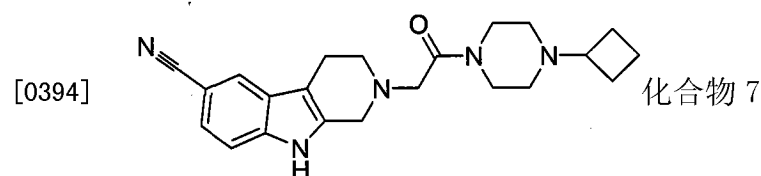
[0389] 6.2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6-嘧啶-5-基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉 (方案 5)



[0391] 向 6-溴-2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉 (200mg, 0.463mmol) 在乙醇 (7mL)、甲苯 (7mL) 和水 (2mL) 的溶液中添加嘧啶-5-硼酸 (100mg, 0.811mmol)、K₂CO₃ (256mg, 1.85mmol) 和 Pd(PPh₃)₄ (27mg, 0.23mmol)。用氮气对混合物脱气, 在密封管中于 95℃ 下加热所述混合物过夜。将混合物冷却至室温, 在乙酸乙酯 (50mL) 和 1N NaOH (50mL) 之间分配。用乙酸乙酯 (2×50mL) 萃取所述混合物。将合并的有机萃取物直接置于 SCX 离子交换树脂上, 首先用乙酸乙酯/甲醇 (95 : 5) 洗脱, 作为废物弃去, 然后用乙酸乙酯/甲醇/TEA (90 : 10 : 10) 洗脱, 收集并蒸发。用 PTLC 纯化残留物, 其用乙酸乙酯/甲醇/TEA (90 : 10 : 10) 洗脱得到标题化合物。

[0392] ¹H NMR (300MHz, CDCl₃) δ 9.16 (1H, s), 9.00 (2H, s), 8.23 (1H, br, 不包含 s), 7.67 (1H, d), 7.44 (1H, d), 7.34 (1H, dd), 3.82 (2H, s), 3.66 (4H, m), 2.48 (2H, s), 2.97 (2H, t), 2.87 (2H, t), 2.69 (1H, m), 2.30 (4H, m), 2.04-1.97 (2H, m), 1.88-1.82 (2H, m); 1.74-1.68 (2H, m); MS (+VE) m/z 431.14 (M⁺+1)。

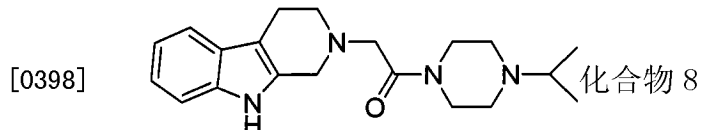
[0393] 7.2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉-6-腈 (方案 5)



[0395] 向 6-溴-2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉 (470mg, 1.10mmol) 的 DMF (6mL) 溶液中添加 Zn(CN)₂ (102mg, 0.872mmol)、Pd₂dba₃ (50mg, 0.055mmol) 和 dppf (60mg, 0.11mmol)。用氮气对混合物脱气, 在密封管中于 120℃ 下加热所述混合物过夜。将混合物冷却至室温, 在乙酸乙酯 (50mL) 和 1N NaOH (50mL) 之间分配。用乙酸乙酯 (2×50mL) 萃取所述混合物。用 Na₂SO₄ 干燥合并的有机萃取物, 减压蒸发。用 PTLC 纯化残留物, 其用乙酸乙酯/甲醇/TEA (95 : 5 : 5) 洗脱得到标题化合物。

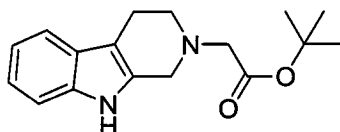
[0396] ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ 8.50(1H, br, 不包含 s), 7.63(1H, d), 7.48(1H, d), 7.31(1H, dd), 3.82(2H, s), 3.66(4H, m), 2.48(2H, s), 2.97(2H, t), 2.87(2H, t), 2.69(1H, m), 2.30(4H, m), 2.04-1.97(2H, m), 1.88-1.82(2H, m); 1.74-1.65(2H, m); MS(+VE)m/z 378.11(M^+ 1)。

[0397] 8.2-[2-(4-异丙基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉(方案6)



[0399] 步骤 1. 1,3,4,9-四氢-2H- β -咔啉-2-基乙酸叔丁酯

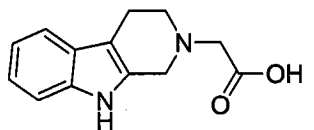
[0400]



[0401] 向 2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉(1.72mg, 10mmol) 的乙腈(50mL) 溶液中添加溴乙酸叔丁酯(1.95g, 10mmol)、NaI(500mg, 3.33mmol) 和 K_2CO_3 (2.07mg, 15mmol)。室温下搅拌所述混合物过夜。用 DCM(50mL) 稀释混合物, 通过硅藻土过滤。浓缩滤液, 用硅胶色谱纯化残留物, 其用乙酸乙酯/己烷(1:1) 洗脱得到标题化合物。MS(+VE)m/z 287.12(M^+ 1)。

[0402] 步骤 2. 1,3,4,9-四氢-2H- β -咔啉-2-基乙酸

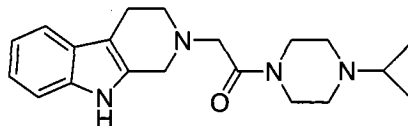
[0403]



[0404] 将 1,3,4,9-四氢-2H- β -咔啉-2-基乙酸叔丁酯(2.7g, 9.4mmol) 溶于 4N HCl 二噁烷中, 并在 80°C 下加热 4 小时。将所述混合物冷却至室温, 减压除去溶剂, 得到盐酸盐形式的标题化合物。MS(+VE)m/z 231.13(M^+ 1)。

[0405] 步骤 3. 2-[2-(4-异丙基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H- β -咔啉

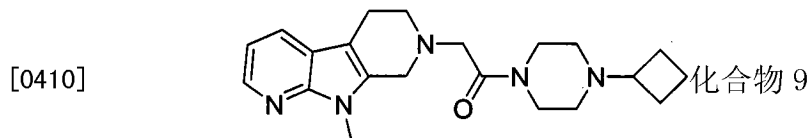
[0406]



[0407] 向 1,3,4,9-四氢-2H- β -咔啉-2-基乙酸(26mg, 0.96mmol) 在 DMA(0.48mL) 中的 5% TEA 溶液中添加 DMA(0.4mL) 中 5% TEA 中的 1-异丙基哌嗪(10.3mg, 0.08mmol) 和乙腈(0.4mL) 中的 DMC(13.5mg, 0.08mmol)。将混合物在 50°C 下加热 5 小时。将混合物冷却至室温, 在乙酸乙酯(1mL) 和 1N NaOH(1mL) 之间分配。萃取有机层, 真空浓缩(约 1mL), 以除去过量的 TEA。将残留物再溶解于乙酸乙酯中, 直接置于 SCX 离子交换树脂上, 首先用乙酸乙酯/甲醇(95:5) 洗脱(作为废物弃去), 然后用乙酸乙酯/甲醇/TEA(90:10:10) 洗脱, 对其进行收集并蒸发得到标题化合物。

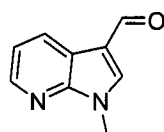
[0408] ^1H NMR(300MHz, CDCl_3) δ 8.07(1H, br, 不包含 s), 7.47(1H, d), 7.30(1H, d), 7.10(2H, m), 3.78(2H, s), 3.65(4H, m), 3.45(2H, s), 2.94(2H, t), 2.82(2H, t), 2.69(1H, m), 2.49(4H, m), 1.02(6H, d); MS(+VE)m/z 341.11 (M^+ 1)。

[0409] 9.7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-甲基-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-b]吡啶(方案7)



[0411] 步骤 1. 1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-甲醛

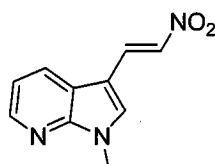
[0412]



[0413] 将 POCl_3 (1.48mL, 9.65mmol) 逐滴添加到 0°C 的 DMF 溶液 (5mL) 中。在 0°C 下搅拌所述混合物 0.5 小时。在另一个瓶中, 将 1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶 (Journal of the American Chemical Society (2005) 127 (22): 8050-57; 1.04g, 7.87mmol) 溶解于 DMF (10mL) 中, 并在 0°C 下逐滴加入到第一溶液中。使混合物升至室温, 并搅拌过夜。用水 (100mL) 稀释混合物, 用 10N NaOH 碱化。用 DCM ($3 \times 50\text{mL}$) 萃取所述混合物。用水 ($3 \times 100\text{mL}$) 和盐水 (100mL) 洗合并的有机萃取物, 用 Na_2SO_4 干燥, 蒸发以得到标题化合物。MS(+VE)m/z 161.12 (M^+ 1)。

[0414] 步骤 2. 1-甲基-3-[(E)-2-硝基乙烯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶

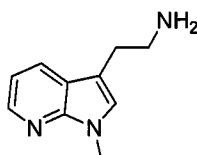
[0415]



[0416] 向 1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-甲醛 (1.18g, 7.34mmol) 的硝基甲烷 (20mL) 溶液中添加 NH_4OAc (200mg, 2.59mmol)。在 70°C 下搅拌所述混合物过夜。使所述溶液冷却至室温, 减压浓缩。将残留物溶于乙酸乙酯 (50mL), 用饱和的 NaHCO_3 水溶液 ($2 \times 50\text{mL}$) 萃取。用 Na_2SO_4 干燥有机萃取物, 蒸发得到标题化合物。MS(+VE)m/z 204.18 (M^+ 1)。

[0417] 步骤 3. 2-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)乙胺

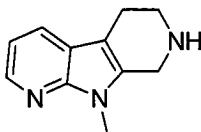
[0418]



[0419] 向 0°C 的 1-甲基-3-[(E)-2-硝基乙烯基]-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶 (1.31g, 7.00mmol) 的 THF (50mL) 溶液中添加 LiAlH_4 (1.06mg, 28mmol)。使混合物升至室温, 并搅拌过夜。将溶液冷却到 0°C , 依次加入水 (1.06mL)、20% KOH (1.06mL) 和水 (3.18mL)。搅拌所述混合物 0.5 小时。添加 Na_2SO_4 , 通过硅藻土过滤混合物。压缩滤饼, 用 DCM ($2 \times 100\text{mL}$)

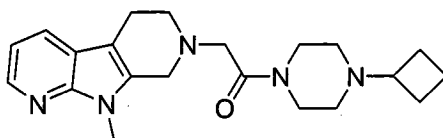
洗。蒸发滤液,在硅胶上对粗产物进行色谱,其用乙酸乙酯/甲醇/TEA(95:5:5)洗脱得到标题化合物。MS(+VE)m/z 176.21(M^+ +1)。

[0420] 步骤 4. 9-甲基-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-b]吡啶
[0421]



[0422] 向 2-(1-甲基-1H-吡咯并[2,3-b]吡啶-3-基)乙胺(210mg, 1.20mmol)的甲酸(5mL)溶液中添加多聚甲醛(36mg, 1.20mmol)。在 65°C 下加热所述混合物 0.5 小时。使混合物冷却,减压蒸发去除溶剂。在 DCM(25ml)和 1N NaOH(25ml)之间分配残留物。用 DCM(2×25ml)萃取所述混合物。用 Na₂SO₄ 干燥合并的有机萃取物,减压蒸发得到标题化合物。MS(+VE)m/z 188.22(M^+ +1)。

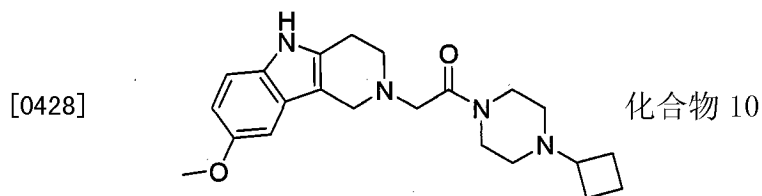
[0423] 步骤 5. 7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-甲基-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-b]吡啶
[0424]



[0425] 向 9-甲基-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-b]吡啶(205mg, 1.09mmol)的乙腈(5mL)溶液中添加 NaI(50mg, 0.333mmol)、K₂CO₃(451mg, 3.27mmol)和 1-(氯乙酰基)-4-环丁基哌嗪(283mg, 1.31mmol)。室温下搅拌所述混合物过夜。用 DCM(25ml)稀释混合物,通过硅藻土过滤。浓缩滤液,用 PTLC 纯化残留物,其用乙酸乙酯/甲醇/TEA(90:10:5)洗脱得到标题化合物。

[0426] ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ 8.24(1H, dd), 7.74(3H, d), 7.24(1H, dd), 7.01(1H, dd), 3.81(2H, s), 3.71(3H, s), 3.67(4H, m), 3.5(2H, s), 2.93(2H, t), 2.81(2H, t), 2.69(1H, m), 2.32-2.28(4H, m), 2.03-1.99(2H, m), 1.88-1.82(2H, m); 1.74-1.68(2H, m); MS(+VE)m/z 368.14(M^+ +1)。

[0427] 10. 2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-7-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1H-吡啶并[4,3-b]吡啶(方案 8)

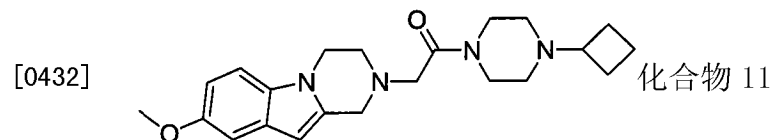


[0429] 向 8-甲氧基-2,3,4,5-四氢-1H-吡啶并[4,3-b]吡啶(AKos Consulting and Solutions GmbH; 300mg, 1.48mmol)的乙腈(10mL)溶液中添加 NaI(60mg, 0.40mmol)、K₂CO₃(300mg, 2.17mmol)和 1-(氯乙酰基)-4-环丁基哌嗪(321mg, 1.48mmol)。室温下搅拌所述混合物过夜。用 DCM(25ml)稀释混合物,通过硅藻土过滤。浓缩滤液,用 PTLC 纯化残留物,其用乙酸乙酯/甲醇/TEA(90:10:5)洗脱得到标题化合物。

[0430] ¹H NMR(300MHz, CDCl₃) δ 7.66(1H, br, 不包含 s), 7.20(1H, d), 6.93(1H, d),

6.80 (1H, dd), 3.85 (3H, s), 3.76 (2H, s), 3.71 (4H, m), 3.45 (2H, s), 2.93 (2H, t), 2.79 (2H, t), 2.69 (1H, m), 2.36 (4H, m), 2.03-1.99 (2H, m), 1.88-1.82 (2H, m); 1.74-1.68 (2H, m); MS(+VE)m/z 383.24 (M^+ +1)。

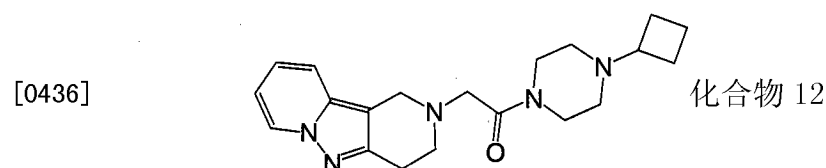
[0431] 11. 2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-8-甲氧基-1,2,3,4-四氢吡嗪并[1,2-a]喹 (方案9)



[0433] 向 8-甲氧基-1,2,3,4-四氢吡嗪并[1,2-a]喹啉 (ARKIVOC 2004(v):286-300; 127mg, 0.628mmol) 的乙腈溶液 (4mL) 中添加 NaI (50mg, 0.33mmol)、 K_2CO_3 (300mg, 2.17mmol) 和 1-(氯乙酰基)-4-环丁基哌嗪 (150mg, 0.69mmol)。室温下搅拌所述混合物过夜。用 DCM (25mL) 稀释混合物, 通过硅藻土过滤。浓缩滤液, 用 PTLC 纯化残留物, 其用乙酸乙酯/甲醇/TEA (95:5:5) 洗脱得到标题化合物。

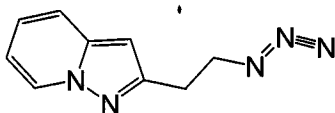
[0434] ^1H NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ 7.16 (1H, d), 7.03 (1H, d), 6.82 (1H, dd), 6.13 (1H, s), 4.05 (2H, t), 3.87 (2H, s), 3.84 (3H, s), 3.66 (4H, m), 3.41 (2H, s), 3.04 (2H, t), 2.69 (1H, m), 2.30 (4H, m), 2.03-1.99 (2H, m), 1.88-1.82 (2H, m); 1.74-1.64 (2H, m); MS(+VE)m/z 383.13 (M^+ +1)。

[0435] 12. 1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(1,2-二氢-4H-3,8A,9-三氮杂-芴-3-基)-乙酮 (方案10)



[0437] 步骤 1. 2-(2-叠氮基-乙基)-吡啶并[1,5-a]吡啶

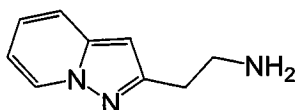
[0438]



[0439] 向冷却至 0℃ 的含有 TEA (1.25g, 12.4mmol, 2.0eq.) 的 2-吡啶并[1,5-a]吡啶-2-基-乙醇 (1.0g, 6.2mmol) 的 DCM (30mL) 溶液中添加甲基磺酰氯 (850mg, 7.4mmol, 1.2eq.)。在 0℃ 下搅拌再混合物 1 小时, 然后升至室温, 再搅拌 3 小时。蒸发 DCM, 将残留物溶于 DMF (10mL)。向所述溶液中添加叠氮化钠 (1.20g, 18.6mmol, 3.0eq.)。在 50℃ 下将反应混合物再搅拌 24 小时。将反应混合物冷却至室温, 倒入冰冷却的水 (20mL) 中, 用乙酸乙酯 (15mL $\times$ 3) 萃取。用水和盐水洗合并的有机萃取物, 并用硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 得到残留物, 其通过色谱进行纯化, 用己烷/乙酸乙酯 (80:20) 洗脱得到叠氮化合物。MS(+VE)m/z 189.10 (M^+ +1)。

[0440] 步骤 2. 2-吡啶并[1,5-a]吡啶-2-基-乙胺

[0441]

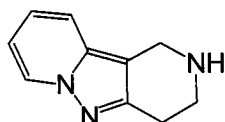


[0442] 向冷却至 0℃的 2-(2-叠氨基-乙基)-吡唑并[1,5-a]吡啶(470g, 2.5mmol) 的 THF(10mL) 溶液中添加三苯基膦(1.96g, 7.5mmol, 3eq.)。在 0℃下再搅拌混合物 1 小时, 然后升至室温, 再搅拌 3 小时。蒸发 THF, 通过色谱纯化残留物, 其用 DCM/ 甲醇(90 : 10) 洗脱得到标题化合物。

[0443] MS(+VE)m/z 162.10 ($M^+ + 1$)。

[0444] 步骤 3. 1,2,3,4-四氢-3,8a,9-三氮杂-芴

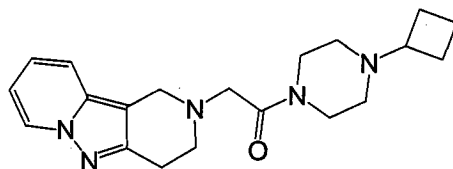
[0445]



[0446] 在室温下向 2-吡唑并[1,5-a]吡啶-2-基-乙胺(400g, 2.47mmol) 的甲酸(3mL) 溶液中添加多聚甲醛(83mg, 2.59mmol, 1.05eq.)。室温下搅拌混合物过夜。蒸发甲酸, 将残留物溶于 DCM(10mL), 用 2.0N NaOH 水溶液洗。用 DCM(2×5mL) 萃取所述水层两次。用硫酸钠干燥合并的有机相。减压除去溶剂, 得到残留物, 其通过硅胶色谱进行纯化, 用 DCM/ 甲醇(90 : 10) 洗脱得到标题化合物。MS(+VE)m/z 174.2 ($M^+ + 1$)。

[0447] 步骤 4. 1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(1,2-二氢-4H-3,8a,9-三氮杂-芴-3-基)-乙酮

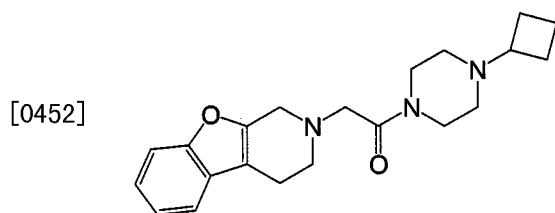
[0448]



[0449] 向搅拌的 1,2,3,4-四氢-3,8a,9-三氮杂-芴(210mg, 1.21mmol) 的乙腈(10.0mL) 溶液中添加 1-(氯乙酰基)-4-环丁基哌嗪(288mg, 1.33mmol, 1.1eq.)、 K_2CO_3 (332mg, 2.4mmol, 2.0eq.) 和 NaI(50mg)。室温下搅拌所得混合物过夜。加入水(10.0mL) 淬灭反应, 然后蒸发溶剂。用 DCM(3×10mL) 萃取所述残留物。用硫酸钠干燥合并的有机相, 减压除去溶剂得到残留物, 其通过 PTLC 纯化, 使用乙酸乙酯/TEA(96 : 4) 洗脱得到标题化合物。

[0450] ^1H NMR(300MHz, $CDCl_3$) δ 8.34(1H, d), 7.25(1H, d), 7.02(1H, dd), 6.40(1H, dt), 3.76(2H, s), 3.64(4H, m), 3.44(2H, s), 2.84 ~ 3.02(4H, M), 2.65(1H, m), 2.26(4H, m), 1.60 ~ 2.10(6H, m); MS(+VE)m/z 354.2 ($M^+ + 1$)。

[0451] 13. 1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(3,4-二氢-1H-苯并[4,5]呋喃并[2,3-c]吡啶-2-基)-乙酮(方案 11)

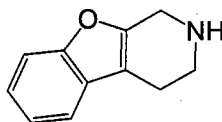


[0452]

化合物 13

[0453] 步骤 1. 1,2,3,4- 四氢 - 苯并 [4,5] 呋喃并 [2,3-c] 吡啶

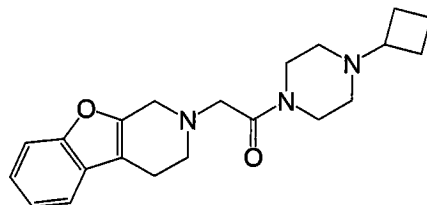
[0454]



[0455] 向室温下的 2- 苯并呋喃 -3- 基 - 乙胺 (510g, 23.16mmol) 的甲酸 (3mL) 溶液中添加多聚甲醛 (104mg, 3.17mmol, 1.1eq.)。在 50℃ 下搅拌所述混合物 3 小时。蒸发甲酸。将残留物溶于 DCM (10mL), 用 2.0N NaOH 水溶液洗。用 DCM (2×5mL) 萃取所述水层两次。用硫酸钠干燥合并的有机相。减压除去溶剂, 得到残留物, 其通过色谱进行纯化, 用 DCM/ 甲醇 (90 : 10) 洗脱得到标题化合物。MS (+VE) m/z 174.1 (M⁺+1)。

[0456] 步骤 2. 1-(4- 环丁基 - 哌嗪 -1- 基) -2-(3,4- 二氢 -1H- 苯并 [4,5] 呋喃并 [2,3-c] 吡啶 -2- 基) - 乙酮

[0457]

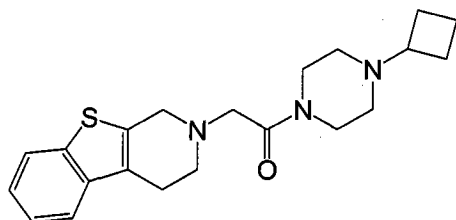


[0458] 向 1,2,3,4- 四氢 - 苯并 [4,5] 呋喃并 [2,3-c] 吡啶 (210mg, 1.21mmol) 的乙腈 (10.0mL) 溶液中添加 1-(氯乙酰基) -4- 环丁基哌嗪 (288mg, 1.33mmol, 1.1eq.)、K₂CO₃ (332mg, 2.4mmol, 2.0eq.) 和 NaI (50mg)。室温下搅拌所得混合物过夜。加入水 (10.0mL) 淬灭反应, 然后蒸发乙腈。用 DCM (3×10mL) 萃取所述残留物。用硫酸钠干燥合并的有机萃取物, 减压除去溶剂得到残留物, 其通过 PTLC 纯化, 使用乙酸乙酯 / TEA (96 : 4) 洗脱得到标题化合物。

[0459] ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) δ 7.40 ~ 7.45 (2H, m), 7.18 ~ 7.24 (2H, dd, m), 3.76 (2H, s), 3.63 (4H, m), 3.46 (2H, s), 2.92 (2H, t), 2.74 (2H, t), 2.32 (5H, m), 1.60 ~ 2.10 (6H, m); MS (+VE) m/z 354.2 (M⁺+1)。

[0460] 14. 1-(4- 环丁基 - 哌嗪 -1- 基) -2-(3,4- 二氢 -1H- 苯并 [4,5] 噻吩并 [2,3-c] 吡啶 -2- 基) - 乙酮 (方案 11)

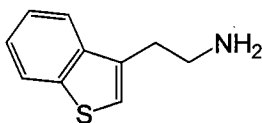
[0461]



化合物 14

[0462] 步骤 1. 2- 苯并 [b] 噻吩 -3- 基 - 乙胺

[0463]

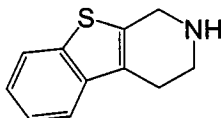


[0464] 向苯并 [b] 噻吩 -3- 基 - 乙腈 (1.03g, 5.95mmol) 的 THF (20mL) 溶液中添加 BH₃ 的

THF 溶液 (1.0N, 3mL, 13mmol, 2.2eq.)。在 50℃ 下搅拌所得溶液 16 小时。加入水 (10mL) 淬灭反应, 用盐酸 (37%, 1.0mL) 破坏所剩的 BH_3 。用 NaOH 水溶液将溶液碱化, 直至 $\text{pH} > 10$ 。蒸发 THF, 用 DCM (3×10mL) 萃取残留物。用硫酸钠干燥合并的有机萃取物。减压除去溶剂, 得到残留物, 其通过色谱进行纯化, 用 DCM/ 甲醇 (90 : 10) 洗脱得到胺化合物。MS(+VE)m/z 178.2 ($\text{M}^+ + 1$)。

[0465] 步骤 2. 1,2,3,4- 四氢 - 苯并 [4,5] 噻吩并 [2,3-c] 吡啶

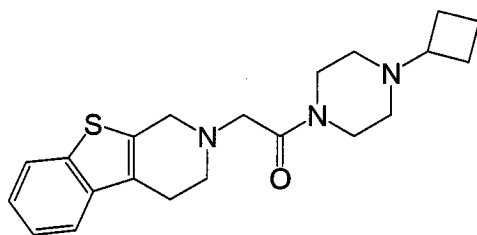
[0466]



[0467] 向室温的 2- 苯并 [b] 噻吩 -3- 基 - 乙胺 (596mg, 3.36mmol) 的甲酸 (4mL) 溶液中添加多聚甲醛 (101mg, 3.17mmol, 1.0eq.)。在 50℃ 下搅拌所述混合物 2 小时。蒸发甲酸, 将残留物溶于 DCM (10mL), 用 2.0N NaOH 水溶液洗。用 DCM (2×5mL) 萃取所述水层两次。用硫酸钠干燥合并的有机相。减压除去溶剂, 得到残留物, 其通过色谱进行纯化, 用 DCM/ 甲醇 (90 : 10) 洗脱得到标题化合物。MS(+VE)m/z 190.2 ($\text{M}^+ + 1$)。

[0468] 步骤 3. 1-(4- 环丁基 - 哌嗪 -1- 基) -2-(3,4- 二氢 -1H- 苯并 [4,5] 噻吩并 [2,3-c] 吡啶 -2- 基) - 乙酮

[0469]

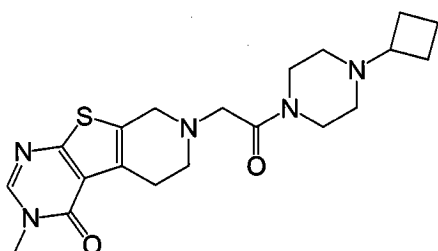


[0470] 向 1,2,3,4- 四氢 - 苯并 [4,5] 噻吩并 [2,3-c] 吡啶 (190mg, 1.0mmol) 的乙腈 (10.0mL) 溶液中添加 1-(氯乙酰基)-4- 环丁基哌嗪 (238mg, 1.10mmol, 1.1eq.)、 K_2CO_3 (332mg, 2.4mmol, 2.4eq.) 和 NaI (50mg)。室温下搅拌所得混合物过夜。加入水 (10.0mL) 淬灭反应, 然后蒸发乙腈。用 DCM (10mL×3) 萃取所述残留物。用硫酸钠干燥合并的有机相, 减压除去溶剂得到残留物, 其通过 PTLC 纯化, 使用乙酸乙酯 / TEA (96 : 4) 洗脱得到标题化合物。

[0471] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 7.78 (1H, d), 7.59 (1H, d), 7.25 ~ 7.40 (2H, m), 3.85 (2H, s), 3.66 (4H, m), 3.45 (2H, s), 2.97 (2H, t), 2.87 (2H, t), 2.69 (1H, m), 2.31 (4H, m), 1.60 ~ 2.10 (6H, m); MS(+VE)m/z 370.1 ($\text{M}^+ + 1$)。

[0472] 15. 7-[2-(4- 环丁基 - 哌嗪 -1- 基) -2- 氧代 - 乙基] -3- 甲基 -5,6,7,8- 四氢 -3H- 吡啶并 [4',3':4,5] 噻吩并 [2,3-d] 嘧啶 -4- 酮 (方案 12)

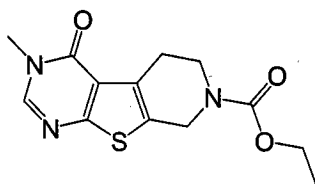
[0473]



化合物 15

[0474] 步骤 1. 3-甲基-4-氧代-3,5,6,8-四氢-4H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-羧酸乙酯

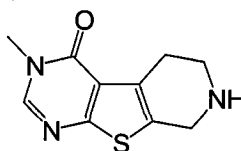
[0475]



[0476] 向 0℃ 的 4-氧代-3,5,6,8-四氢-4H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-羧酸乙酯 (1.40g, 5.0mmol) 的乙腈 (30mL) 溶液中添加 K_2CO_3 (1.38g, 10mmol, 2.0eq.), 然后添加碘代甲烷 (851mg, 6.0mmol, 1.2eq.). 在 50℃ 下搅拌所述混合物 5 小时。蒸发乙腈, 用 DCM (2×10mL) 萃取残留物两次。用盐水洗合并的有机相, 然后用硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 得到残留物, 其通过色谱进行纯化, 用己烷/乙酸乙酯 (70 : 30) 洗脱得到标题化合物。MS (+VE) m/z 294.2 (M^+ +1)。

[0477] 步骤 2. 3-甲基-5,6,7,8-四氢-3H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-4-酮

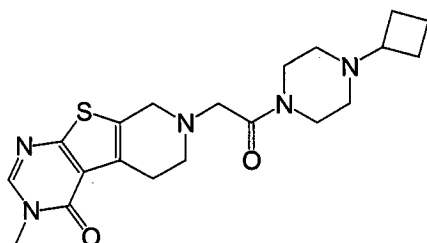
[0478]



[0479] 向 3-甲基-4-氧代-3,5,6,8-四氢-4H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-羧酸乙酯 (1.18g, 4.0mmol) 的乙醇 (15mL) 溶液中添加水 (10mL), 然后添加 NaOH (800mg, 20mmol, 5eq.). 回流所得混合物 24 小时。使所述反应混合物冷却至室温, 减压蒸发乙醇。用 DCM (20mL×2) 萃取所述残留物。用盐水洗合并的有机相, 然后用硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 得到残留物, 其通过色谱进行纯化, 用 DCM/ 甲醇 (90 : 10) 洗脱得到标题化合物。MS (+VE) m/z 222.1 (M^+ +1)。

[0480] 步骤 3. 7-[2-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-3-甲基-5,6,7,8-四氢-3H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-4-酮

[0481]

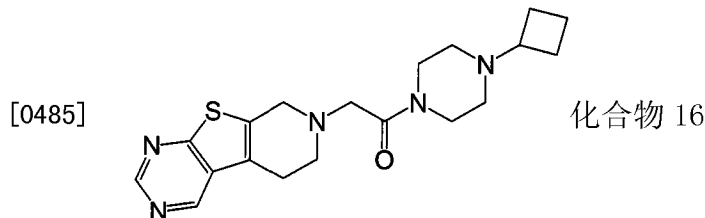


[0482] 向 3-甲基-5,6,7,8-四氢-3H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-4-酮 (221mg, 1.0mmol) 的乙腈 (10.0mL) 溶液中添加 1-(氯乙酰基)-4-环丁基哌嗪 (238mg, 1.10mmol, 1.1eq.), K_2CO_3 (332mg, 2.4mmol, 2.4eq.) 和 NaI (50mg)。在 45℃ 下搅拌所得混合物过夜。加入水 (10.0mL) 淬灭反应, 然后蒸发乙腈。用 DCM (10mL×3) 萃取所述残留物。用硫酸钠干燥合并的有机萃取物, 减压除去溶剂得到残留物, 其通过 PTLC 纯化, 使用乙酸乙

酯 / 乙醇 / TEA (96 : 4 : 4) 洗脱得到标题化合物。

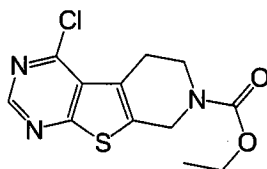
[0483] ^1H NMR (300MHz, CDCl_3) δ 7.92 (1H, s), 3.77 (2H, s), 3.60 (4H, m), 3.56 (3H, s), 3.41 (2H, s), 2.93 (2H, t), 2.88 (2H, t), 2.68 (1H, m), 2.28 (4H, m), 1.60 ~ 2.10 (6H, m); MS (+VE) m/z 402.1 (M^+ + 1)。

[0484] 16. 1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]-噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮 (方案12)



[0486] 步骤 1. 4-氯-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-羧酸乙酯

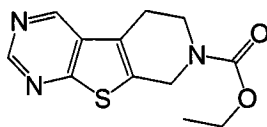
[0487]



[0488] 向 4-氧代-3,5,6,8-四氢-4H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-羧酸乙酯 (1.40g, 5.0mmol) 和吡啶 (791mg) 的混合物中添加 POCl_3 (3.06g, 4.0eq.)。在 100°C 下搅拌所述混合物 3 小时。蒸发 POCl_3 , 用乙酸乙酯 (30ml) 吸收残留物, 用 NaHCO_3 水溶液碱化。收集有机层, 用盐水洗, 用硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 得到残留物, 其通过色谱进行纯化, 用己烷 / 乙酸乙酯 (70 : 30) 洗脱得到标题化合物。MS (+VE) m/z 298.2 (M^+ + 1)。

[0489] 步骤 2. 5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-羧酸乙酯

[0490]

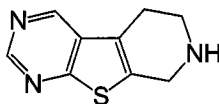


[0491] 向 100ml 圆底烧瓶中的 4-氯-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-羧酸乙酯 (1.00g, 3.34mmol) 和甲醇 (10mL) 的混合物中添加钯炭 (10%, 100mg)。在室温下用氢气球将混合物氢化 3 小时。通过硅藻土滤去钯炭, 用甲醇 (5mL $\times$ 2) 洗滤饼。减压浓缩合并的有机洗出液, 用乙酸乙酯 (30ml) 吸收残留物。用 NaHCO_3 水溶液碱化该溶液。收集有机层, 用盐水洗, 用硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 得到残留物, 其通过色谱进行纯化, 用己烷 / 乙酸乙酯 (70 : 30) 洗脱得到所期望的化合物。

[0492] MS (+VE) m/z 264.1 (M^+ + 1)。

[0493] 步骤 3. 5,6,7,8-四氢-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶

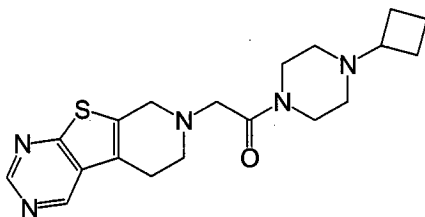
[0494]



[0495] 向 5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-羧酸乙酯(800g, 3.0mmol) 的乙醇(15mL) 溶液中添加水(10mL), 然后添加 NaOH(600mg, 15mmol, 5eq.)。回流所得混合物 24 小时。使所述反应混合物冷却至室温, 减压蒸发乙醇。用 DCM(2×20mL) 萃取所述残留物, 用盐水洗。用硫酸钠干燥合并的有机相。减压除去溶剂, 得到残留物, 其通过色谱进行纯化, 用 DCM/ 甲醇(90 : 10) 洗脱得到标题化合物。MS(+VE)m/z 192.2 (M^+ +1)。

[0496] 步骤 4. 1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮

[0497]

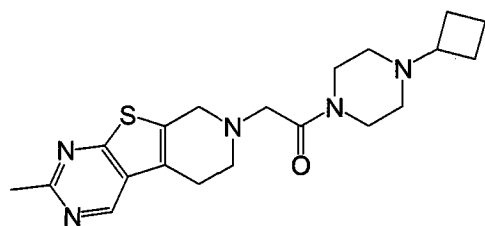


[0498] 向搅拌的 5,6,7,8-四氢-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶(191mg, 1.0mmol) 的乙腈(10.0mL) 溶液中添加 1-(氯乙酰基)-4-环丁基哌嗪(238mg, 1.10mmol, 1.1eq.)、 K_2CO_3 (332mg, 2.4mmol, 2.4eq.) 和 NaI(50mg)。在 45℃ 下搅拌所得混合物过夜。加入水(10.0mL) 淬灭反应, 然后蒸发乙腈。用 DCM(3×10mL) 萃取所述残留物。用硫酸钠干燥合并的有机萃取物, 减压除去溶剂得到残留物, 其通过 PTLC 纯化, 使用乙酸乙酯/ 乙醇/ TEA(96 : 4 : 4) 洗脱得到标题化合物。

[0499] ^1H NMR(300MHz, $CDCl_3$) δ 9.03(1H, s), 8.91(1H, s), 3.90(2H, s), 3.62(4H, m), 3.48(2H, s), 3.01(2H, t), 2.92(2H, m), 2.69(1H, m), 2.30(4H, m), 1.60 ~ 2.10(6H, m); MS(+VE)m/z 372.2 (M^+ +1)。

[0500] 17. 1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并-[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮(方案 12)

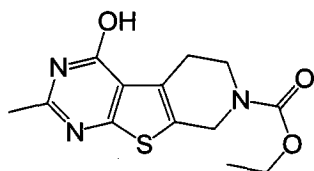
[0501]



化合物 17

[0502] 步骤 1. 4-羟基-2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-羧酸乙酯

[0503]

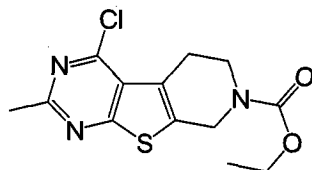


[0504] 向 2-氨基-4,7-二氢-5H-噻吩并[2,3-c]吡啶-3,6-二羧酸二乙酯(2.98g, 10.0mmol) 的 HCl-二噁烷(4.0N, 20mL) 溶液中添加 CH_3CN (2.0mL)。在室温下搅拌混合物 8 小时, 然后升至 100℃, 再在 100℃ 下搅拌 8 小时。蒸发二噁烷, 将残留物置于水中(30mL)。用 $NaHCO_3$ 水溶液碱化该溶液。过滤收集所得固体, 用水洗, 高真空干燥, 得到标题化合物。

MS(+VE)m/z293.1 ($M^{+}+1$)。

[0505] 步骤 2. 4-氯-2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-羧酸乙酯

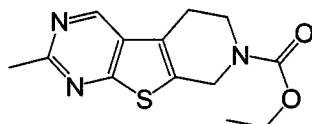
[0506]



[0507] 向 4-羟基-2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-羧酸乙酯 (1.47g, 5.0mmol) 和吡啶 (791mg) 的混合物中添加 POCl_3 (3.06g, 4.0eq.)。在 100°C 下搅拌所述混合物 3 小时。蒸发 POCl_3 , 将残留物置于乙酸乙酯 (30ml) 中。用 NaHCO_3 水溶液碱化该溶液。收集有机层, 用盐水洗, 用硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 得到残留物, 其通过色谱进行纯化, 用己烷/乙酸乙酯 (80 : 20) 洗脱得到标题化合物。MS(+VE)m/z312.0 ($M^{+}+1$)。

[0508] 步骤 3. 2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-羧酸乙酯

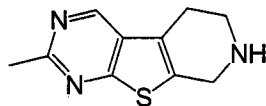
[0509]



[0510] 向 100ml 圆底烧瓶中的 4-氯-2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-羧酸乙酯 (1.00g, 3.21mmol) 和甲醇 (10ml) 的混合物中添加钯炭 (10%, 100mg)。用填充氢气的气球在室温下氢化所述混合物 3 小时。通过硅藻土滤去钯炭, 用甲醇 (5ml $\times$ 2) 洗滤饼。减压浓缩合并的有机清洗液, 用乙酸乙酯 (30ml) 吸收残留物。用 NaHCO_3 水溶液碱化该溶液。收集有机层, 用盐水洗, 用硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 得到残留物, 其通过色谱进行纯化, 用己烷/乙酸乙酯 (70 : 30) 洗脱得到标题化合物。MS(+VE)m/z 278.10 ($M^{+}+1$)。

[0511] 步骤 4. 2-甲基-5,6,7,8-四氢-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶

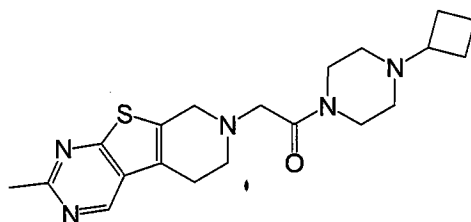
[0512]



[0513] 向 2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-羧酸乙酯 (800g, 2.88mmol) 的乙醇 (15ml) 溶液中添加水 (10ml), 然后添加 NaOH (600mg, 15mmol, 5.2eq.)。回流所得混合物 24 小时。使所述反应混合物冷却至室温, 减压蒸发乙醇。用 DCM (2 $\times$ 20ml) 萃取所述残留物。用盐水洗合并的有机相, 然后用硫酸钠干燥。减压除去溶剂, 得到残留物, 其通过色谱进行纯化, 用 DCM/甲醇 (90 : 10) 洗脱得到标题化合物。MS(+VE)m/z 206.1 ($M^{+}+1$)。

[0514] 步骤 5. 1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮

[0515]



[0516] 向搅拌的 2-甲基-5,6,7,8-四氢-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶 (205mg, 1.0mmol) 的乙腈 (10.0mL) 溶液中添加 1-(氯乙酰基)-4-环丁基哌嗪 (238mg, 1.10mmol, 1.1eq.)、 K_2CO_3 (332mg, 2.4mmol, 2.4eq.) 和 NaI (50mg)。在 45℃ 下搅拌所得混合物过夜。加入水 (10.0ml) 淬灭反应, 然后蒸发乙腈。用 DCM (3×10ml) 萃取所述残留物。用硫酸钠干燥合并的有机萃取物, 减压除去溶剂得到残留物, 其通过 PTLC 纯化, 使用乙酸乙酯 / 乙醇 / TEA (96 : 4 : 4) 洗脱得到标题化合物。

[0517] ^1H NMR (300MHz, $CDCl_3$) δ 8.81 (1H, s), 3.87 (2H, s), 3.62 (4H, m), 3.47 (2H, s), 3.00 (2H, t), 2.91 (2H, m), 2.82 (3H, s), 2.70 (1H, m), 2.30 (4H, m), 1.60 ~ 2.10 (6H, m); MS (+ve) m/z 386.20 (M^+ 1)。

[0518] 实施例 2

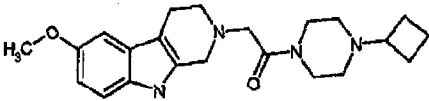
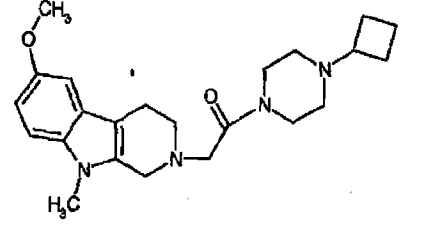
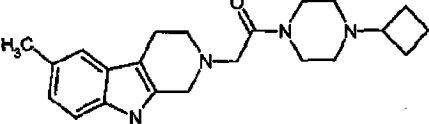
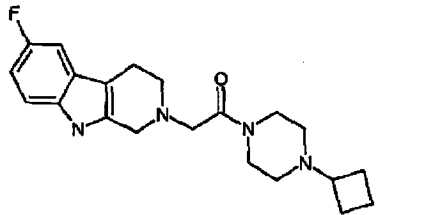
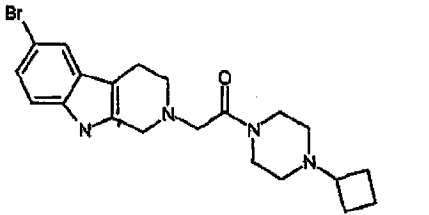
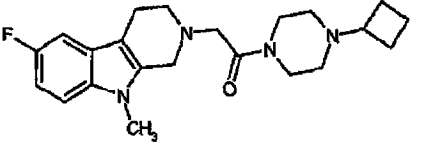
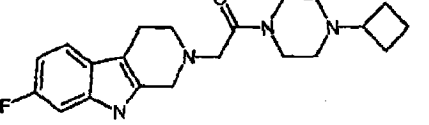
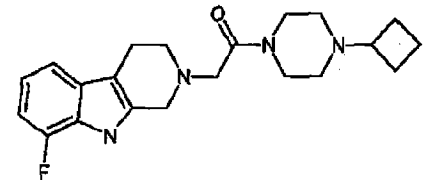
[0519] 其它代表性化合物的制备

[0520] 使用常规的调整, 起始材料可以有所不同, 可使用另外的步骤来产生本文提供的其它化合物。使用这样的方法制备表 I 和 II 所列的化合物。表 I 中“ K_i ”栏中“*”表示在实施例 7 的测定中该化合物具有小于 1 微摩尔 / 升的 K_i 。表 II 中“%”栏中“*”表示在实施例 8 中所述的 4 μ M 筛选测定中激动剂诱导的与 H3 的 GTP- γ S 结合的抑制百分率是至少 90%。

[0521] 使用上文所述方法获得的分子量 (以 $M+1$ 表示) 在“MS”栏中显示。

[0522] 表 I

[0523]

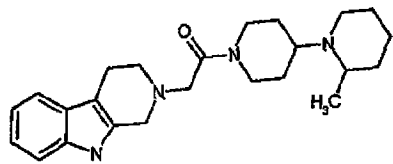
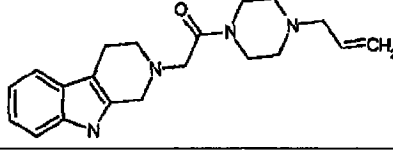
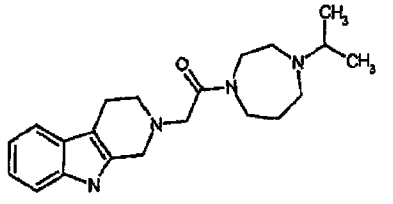
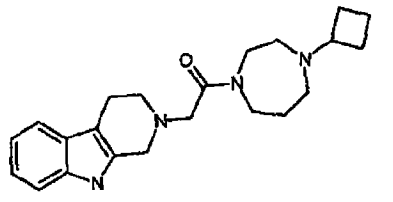
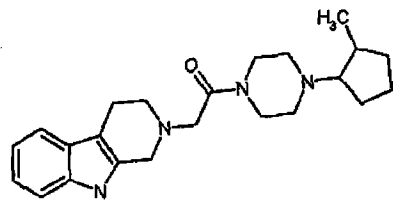
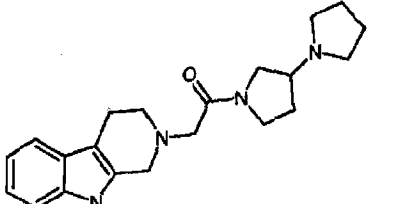
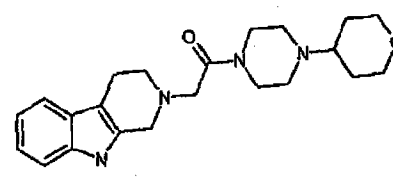
	化合物	名称	MS	K _i
18		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6-甲氧基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	383.21	*
19		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6-甲氧基-9-甲基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	397.22	*
20		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6-甲基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	367.29	*
21		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6-氟-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	371.32	*
22		6-溴-2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	433.23	*
23		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6-氟-9-甲基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	385.33	*
24		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-7-氟-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	371.35	*
25		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-8-氟-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	371.30	*

[0524]

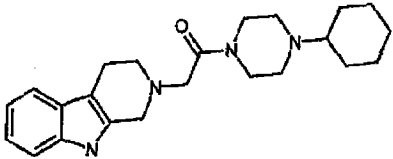
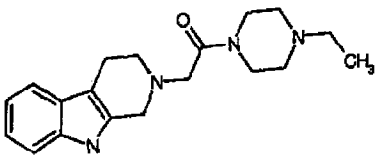
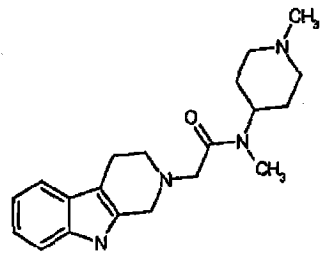
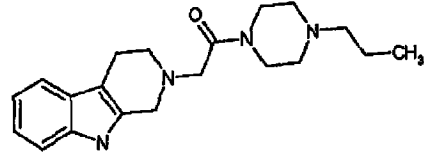
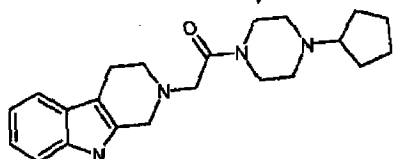
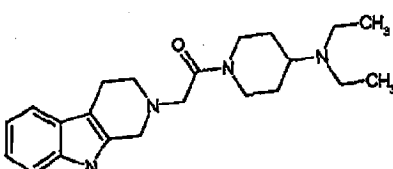
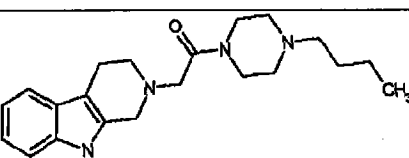
	化合物	名称	MS	K _i
26		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-5-氟-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	371.30	*
27		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-7-嘧啶-5-基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	431.35	*
28		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-乙基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	425.31	*
29		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-丙基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	395.38	*
30		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-异丙基-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	395.38	*
31		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-(2,2,2-三氟乙基)-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	435.33	*
32		2-[2-(8-氢-2H-吡啶并[1,2-a]吡嗪-2-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	353.35	*
33		2-[2-(6-甲基-8-氢-2H-吡啶并[1,2-a]吡嗪-2-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	367.35	*

[0525] 表 II

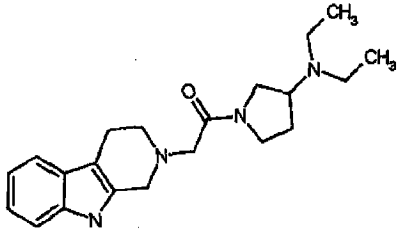
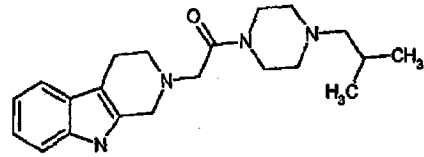
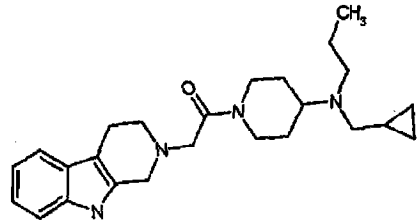
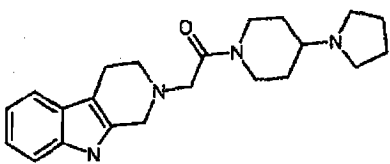
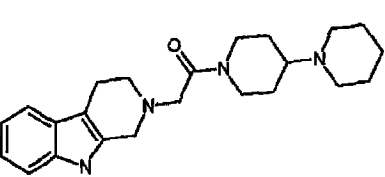
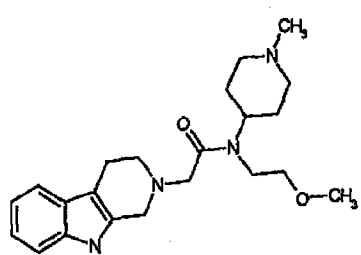
[0526]

	化合物	名称	MS	K _i
34		2-[2-(2-甲基-1,4'-联吡啶-1'-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	395.28	*
35		2-[2-(4-烯丙基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	339.23	*
36		2-[2-(4-异丙基-1,4-二氮革-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	355.26	*
37		2-[2-(4-环丁基-1,4-二氮革-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	367.26	*
38		2-[2-[4-(2-甲基环戊基)哌嗪-1-基]-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	381.29	*
39		2-[2-(1,3'-联吡咯烷-1'-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	353.26	*
40		2-[2-氧代-2-[4-(四氢-2H-吡喃-4-基)哌嗪-1-基]乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	383.27	*

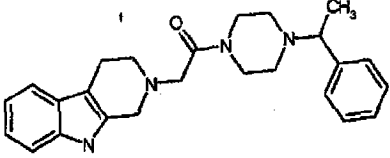
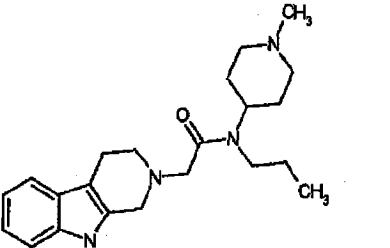
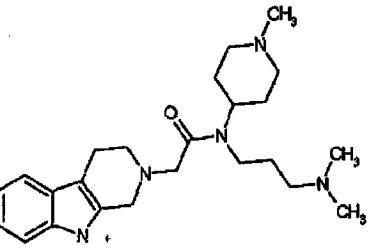
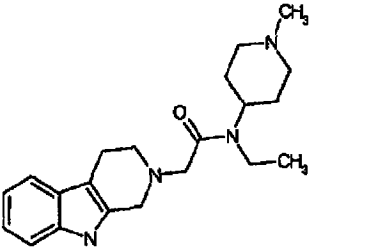
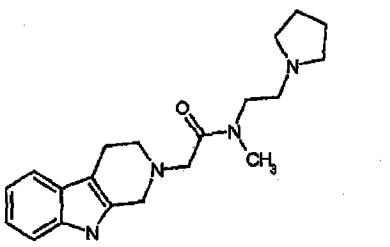
[0527]

	化合物	名称	MS	K _i
41		2-[2-(4-环己基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	381.29	*
42		2-[2-(4-乙基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	327.23	*
43		N-甲基-N-(1-乙基哌啶-4-基)-2-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咔啉-2-基)乙酰胺	341.25	*
44		2-[2-(4-丙基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	341.25	*
45		2-[2-(4-环戊基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	367.28	*
46		N,N-二乙基-1-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咔啉-2-基乙酰基)哌啶-4-胺	369.2783	*
47		2-[2-(4-丁基-1,4-二氮草-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	369.29	*
48		2-[2-(4-丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	355.27	*

[0528]

	化合物	名称	MS	K _i
49		N,N-二乙基-1-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咔啉-2-基)吡咯烷-3-胺	355.27	*
50		2-[2-(4-异丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	355.28	*
51		N-(环丙基甲基)-N-丙基-1-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咔啉-2-基)吡咯烷-4-胺	409.31	*
52		2-[2-氧代-2-(4-吡咯烷-1-基)哌啶-1-基]乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	367.27	*
53		2-[2-(1,4'-联吡啶-1'-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	381.29	*
54		N-(2-甲氧基乙基)-N-(1-甲基哌啶-4-基)-2-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咔啉-2-基)乙酰胺	385.28	*
55		2-[2-氧代-2-[4-(3-吡咯烷-1-基)哌嗪-1-基]乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	410.30	*
56		2-[2-氧代-2-[4-(2-哌啶-1-基)哌嗪-1-基]乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	410.30	*

[0529]

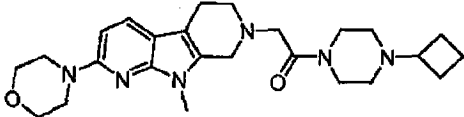
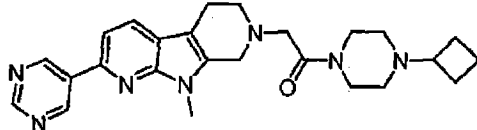
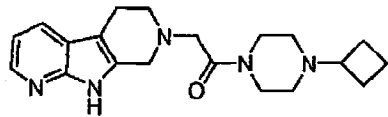
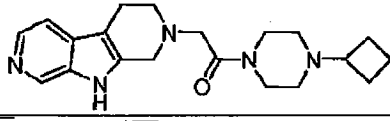
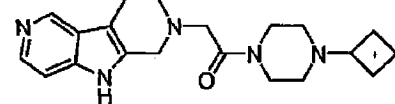
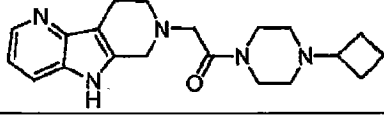
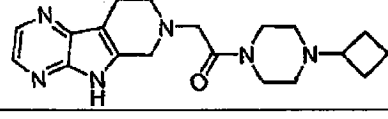
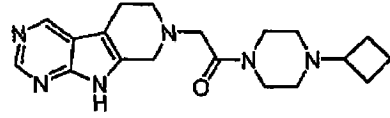
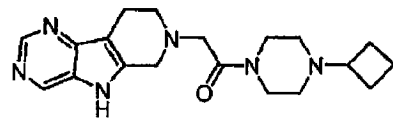
	化合物	名称	MS	K _i
57		2-{2-氧代-2-[4-(3-哌啶-1-基丙基)哌嗪-1-基]乙基}-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	424.31	*
58		2-{2-氧代-2-[4-(2-吡咯烷-1-基乙基)哌嗪-1-基]乙基}-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	396.29	*
59		2-{2-氧代-2-[4-(1-苯基乙基)哌嗪-1-基]乙基}-2,3,4,9-四氢-1H-β-咔啉	403.31	*
60		N-(1-甲基哌啶-4-基)-N-丙基-2-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咔啉-2-基)乙酰胺	369.34	*
61		N-[3-(二甲基氨基)丙基]-N-(1-甲基哌啶-4-基)-2-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咔啉-2-基)乙酰胺	412.40	*
62		N-(1-甲基哌啶-4-基)-N-乙基-2-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咔啉-2-基)乙酰胺	355.34	*
63		N-[2-(二甲基氨基)乙基]-N-甲基-2-(1,3,4,9-四氢-2H-β-咔啉-2-基)乙酰胺	341.34	*

[0530] 实施例 3 其它代表性化合物的制备

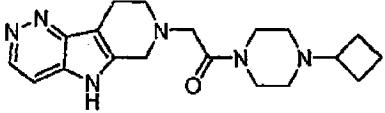
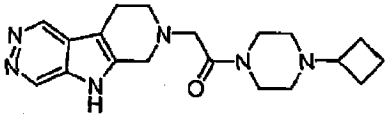
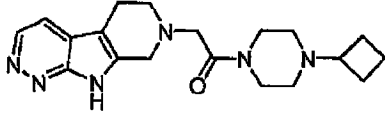
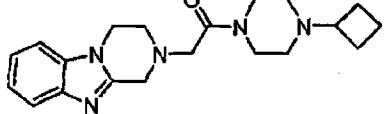
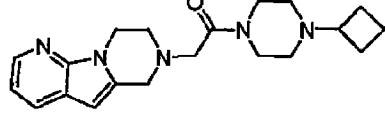
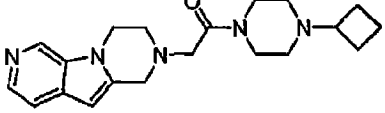
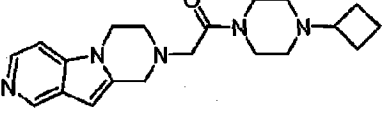
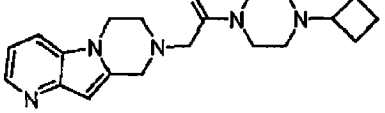
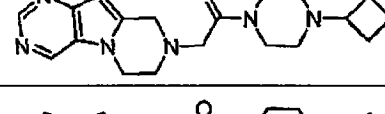
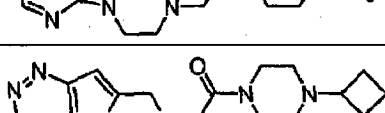
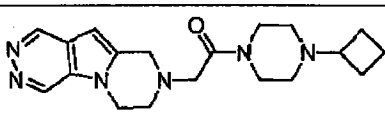
[0531] 使用常规的改变,起始材料可以有所不同,可使用另外的步骤来产生本文提供的其它化合物。

[0532] 表 III

[0533]

化合物	名称
64	 7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-甲基-2-吗啉-4-基-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-b]吡啶
65	 7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-9-甲基-2-嘧啶-5-基-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-b]吡啶
66	 7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-b]吡啶
67	 2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-c]吡啶
68	 7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[3',4':4,5]吡咯并[2,3-c]吡啶
69	 7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[3,2-b]吡啶
70	 7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-b]吡嗪
71	 7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-d]嘧啶
72	 7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[3,2-d]嘧啶

[0534]

73		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[3,2-c]哒嗪
74		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-d]哒嗪
75		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-c]哒嗪
76		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-1,2,3,4-四氢吡嗪并[1,2-a]苯并咪唑
77		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢吡啶并[3',2':4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪
78		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-1,2,3,4-四氢吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪
79		8-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢吡啶并[3',4':4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪
80		8-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢吡啶并[2',3':4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪
81		8-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢吡嗪并[1',2':1,5]吡咯并[3,2-d]嘧啶
82		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢吡嗪并[1',2':1,5]吡咯并[2,3-d]嘧啶
83		8-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢吡嗪并[1',2':1,5]吡咯并[3,2-c]哒嗪
84		8-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢吡嗪并[1',2':1,5]吡咯并[2,3-d]哒嗪

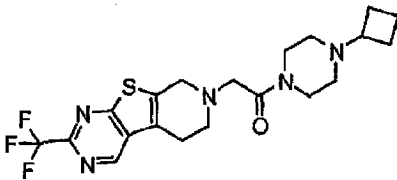
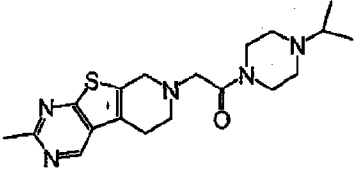
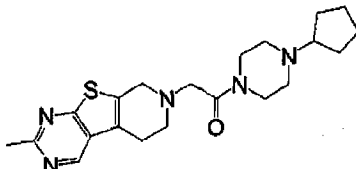
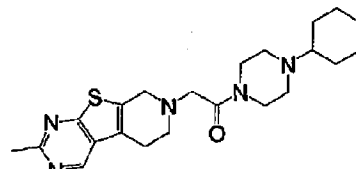
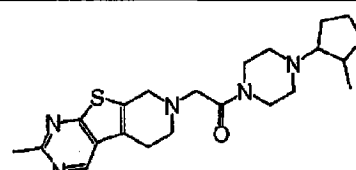
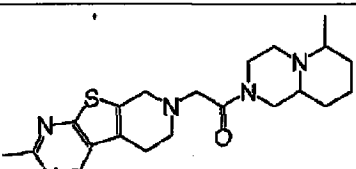
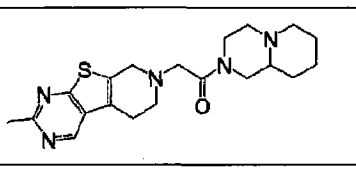
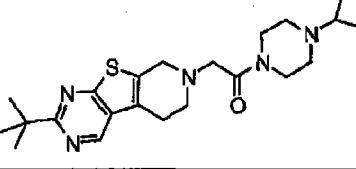
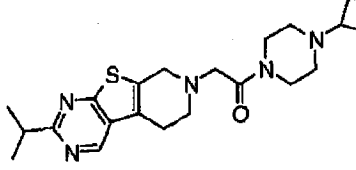
[0535]

85		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢吡嗪并[1',2':1,5]吡咯并[2,3-c]吡嗪
86		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-3-氟-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-b]吡啶
87		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-3-嘧啶-5-基-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-b]吡啶
88		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-b]吡啶-3-腈
89		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2-甲基-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-b]吡啶
90		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-3-甲氧基-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-b]吡啶
91		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6-甲氧基-2,3,4,9-四氢-1H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-c]吡啶
92		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2,3,4,9-四氢-1H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-c]吡啶-6-腈
93		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-3-嘧啶-5-基-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[3,2-b]吡啶
94		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-3-氟-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[3,2-b]吡啶
95		7-[2-(4-环丁基-3-甲基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-4-氟-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[3',4':4,5]吡咯并[2,3-c]吡啶
96		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-3-甲氧基-8-甲基-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[3',4':4,5]吡咯并[2,3-c]吡啶

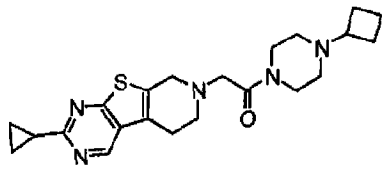
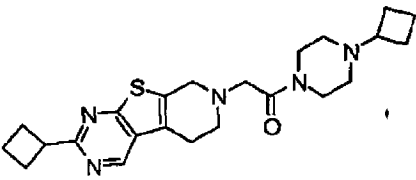
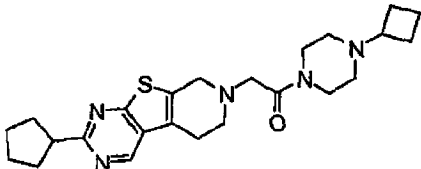
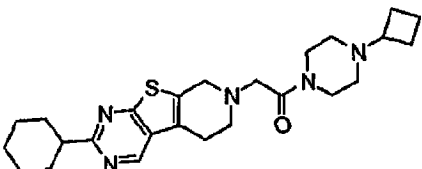
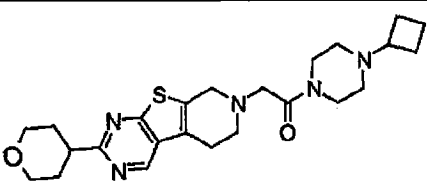
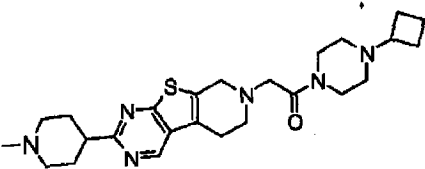
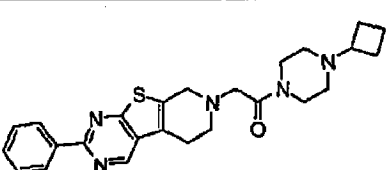
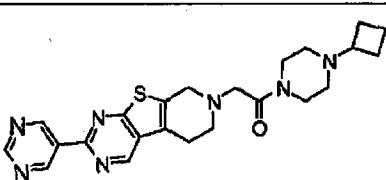
[0536]

97		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6-甲基-3-吗啉-4-基-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[3',4':4,5]吡咯并[2,3-c]吡啶
98		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-3-吗啉-4-基-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-b]吡嗪
99		2-环丁基-7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-d]嘧啶
100		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2-甲氧基-6,7,8,9-四氢-5H-吡啶并[4',3':4,5]吡咯并[2,3-d]嘧啶
101		2-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-8-吡嗪-3-基-1,2,3,4-四氢吡嗪并[1,2-a]苯并咪唑
102		2-{7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢吡啶并[3',2':4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪-3-基}吡嗪-3(2H)-酮
103		8-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-2-吗啉-4-基-6,7,8,9-四氢吡嗪并[1',2':1,5]吡咯并[3,2-d]嘧啶
104		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-3-氟-6,7,8,9-四氢吡啶并[3',2':4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪
105		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-6,7,8,9-四氢吡啶并[3',2':4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪-3-腈
106		7-[2-(4-环丁基哌嗪-1-基)-2-氧代乙基]-3-嘧啶-5-基-6,7,8,9-四氢吡啶并[3',2':4,5]吡咯并[1,2-a]吡嗪

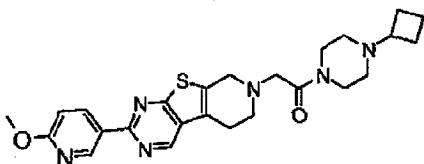
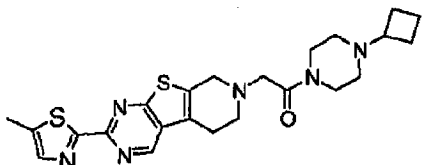
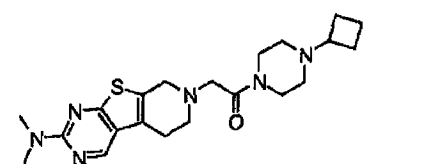
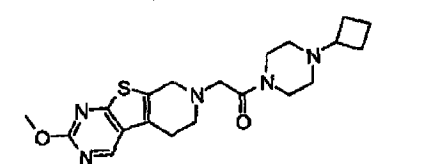
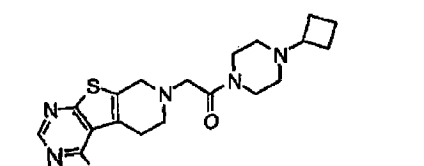
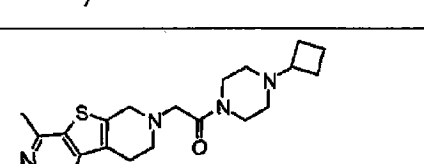
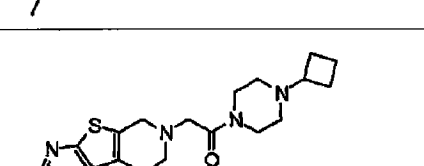
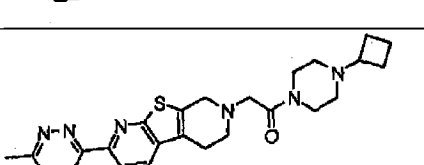
[0537]

107		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-三氟甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
108		1-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-2-(2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
109		1-(4-环戊基-哌嗪-1-基)-2-(2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
110		1-(4-环己基-哌嗪-1-基)-2-(2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
111		1-[4-(2-甲基-环戊基)-哌嗪-1-基]-2-(2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
112		2-(2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-1-(6-甲基-八氢-吡啶并[1,2-a]吡嗪-2-基)-乙酮
113		2-(2-甲基-5,8-二氢-6H-嘧啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-1-(八氢-吡啶并[1,2-a]吡嗪-2-基)-乙酮
114		2-(2-叔丁基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-乙酮
115		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-异丙基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮

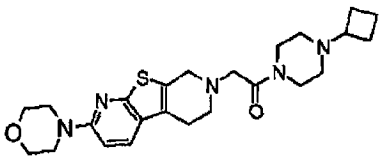
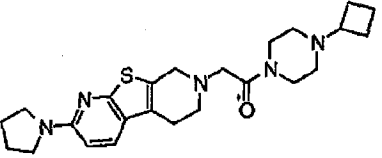
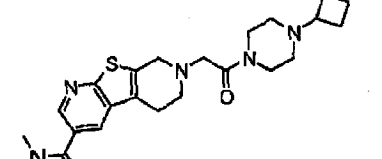
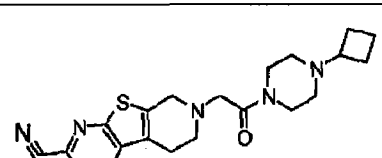
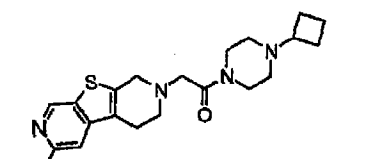
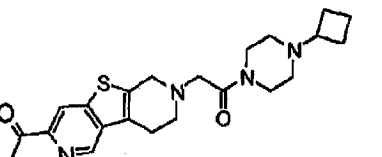
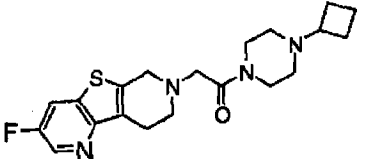
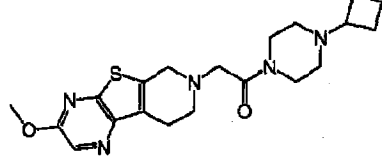
[0538]

116		1-(4-环丁基-咪嗪-1-基)-2-(2-环丙基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
117		2-(2-环丁基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-1-(4-环丁基-咪嗪-1-基)-乙酮
118		1-(4-环丁基-咪嗪-1-基)-2-(2-环戊基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
119		1-(4-环丁基-咪嗪-1-基)-2-(2-环己基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
120		1-(4-环丁基-咪嗪-1-基)-2-[2-(四氢-吡喃-4-基)-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基]-乙酮
121		1-(4-环丁基-咪嗪-1-基)-2-[2-(1-甲基-咪啉-4-基)-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基]-乙酮
122		1-(4-环丁基-咪嗪-1-基)-2-(2-苯基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
123		1-(4-环丁基-咪嗪-1-基)-2-(2-嘧啶-5-基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮

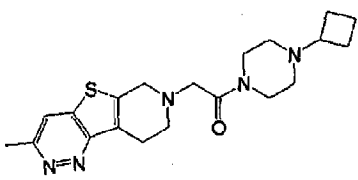
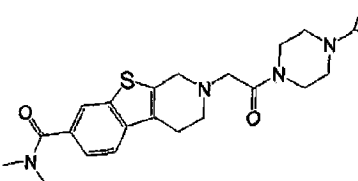
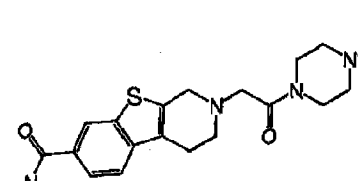
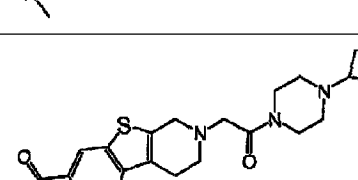
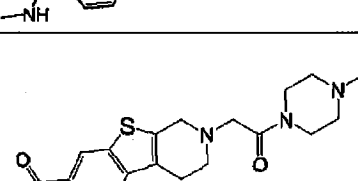
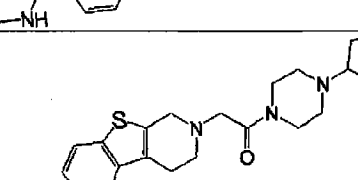
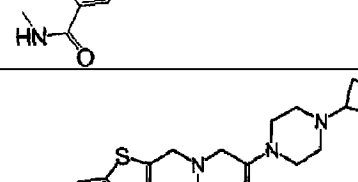
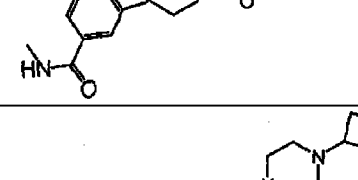
[0539]

124		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-[2-(6-甲氧基-吡啶-3-基)-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基]-乙酮
125		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-[2-(5-甲基-噻唑-2-基)-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基]-乙酮
126		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-二甲基氨基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
127		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-甲氧基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
128		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(4-甲氧基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
129		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2,4-二甲基-8,9-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]噻吩并[3,2-d]嘧啶-7-基)-乙酮
130		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-甲基-5,8-二氢-6H-9-硫杂-1,7-二氮杂-茛-7-基)-乙酮
131		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-[2-(6-甲基-吡嗪-3-基)-5,8-二氢-6H-9-硫杂-1,7-二氮杂-茛-7-基]-乙酮

[0540]

132		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-吗啉-4-基-5,8-二氢-6H-9-硫杂-1,7-二氮杂-茚-7-基)-乙酮
133		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-吡咯烷-1-基-5,8-二氢-6H-9-硫杂-1,7-二氮杂-茚-7-基)-乙酮
134		7-[2-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-5,6,7,8-四氢-9-硫杂-1,7-二氮杂-茚-3-羧酸二甲基酰胺
135		7-[2-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-5,6,7,8-四氢-9-硫杂-1,7-二氮杂-茚-2-腈
136		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(6-甲氧基-3,4-二氢-1H-噻吩并[2,3-c;5,4-c']二吡啶-2-基)-乙酮
137		2-(7-乙酰基-3,4-二氢-1H-9-硫杂-2,6-二氮杂-茚-2-基)-1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-乙酮
138		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(7-氟-3,4-二氢-1H-9-硫杂-2,5-二氮杂-茚-2-基)-乙酮
139		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-甲氧基-5,8-二氢-6H-9-硫杂-1,4,7-三氮杂-茚-7-基)-乙酮

[0541]

140		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(7-甲基-3,4-二氢-1H-9-硫杂-2,5,6-三氮杂-苊-2-基)-乙酮
141		2-[2-(4-异丙基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-1,2,3,4-四氢-苯并[4,5]噻吩并[2,3-c]吡啶-7-羧酸二甲酰胺
142		2-[2-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-1,2,3,4-四氢-苯并[4,5]噻吩并[2,3-c]吡啶-7-羧酸二甲酰胺
143		2-[2-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-1,2,3,4-四氢-苯并[4,5]噻吩并[2,3-c]吡啶-7-羧酸甲基酰胺
144		2-[2-(4-环戊基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-1,2,3,4-四氢-苯并[4,5]噻吩并[2,3-c]吡啶-7-羧酸甲基酰胺
145		2-[2-(4-环戊基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-1,2,3,4-四氢-苯并[4,5]噻吩并[2,3-c]吡啶-6-羧酸甲基酰胺
146		2-[2-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-1,2,3,4-四氢-苯并[4,5]噻吩并[2,3-c]吡啶-6-羧酸甲基酰胺
147		2-[2-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-1,2,3,4-四氢-苯并[4,5]噻吩并[2,3-c]吡啶-6-羧酸二甲酰胺

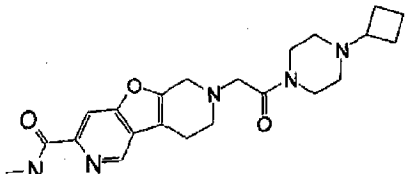
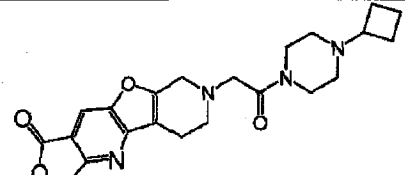
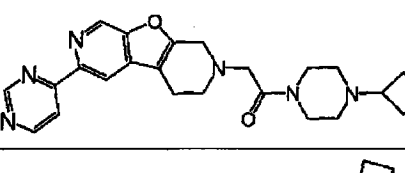
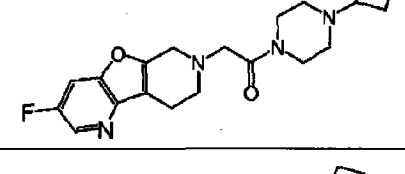
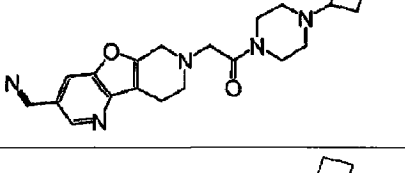
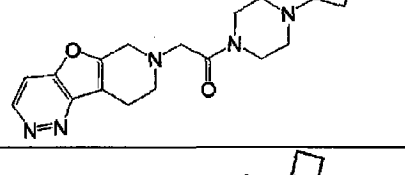
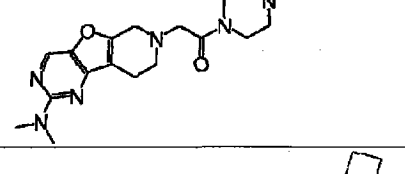
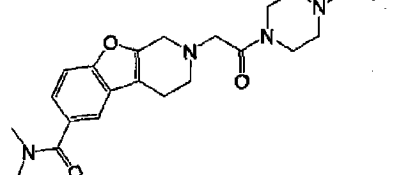
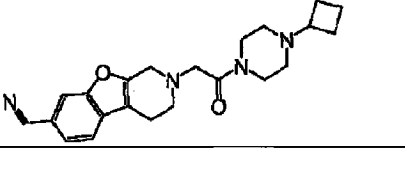
[0542]

148		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-[6-(吗啉-4-羰基)-3,4-二氢-1H-苯并[4,5]噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基]-乙酮
149		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(6-氟-7-甲氧基-3,4-二氢-1H-苯并[4,5]噻吩并[2,3-c]吡啶-2-基)-乙酮
150		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]呋喃并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
151		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-三氟甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]呋喃并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
152		2-(2-叔丁基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]呋喃并[2,3-d]嘧啶-7-基)-1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-乙酮
153		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-异丙基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]呋喃并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
154		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-环丙基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]呋喃并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
155		2-(2-环丁基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]呋喃并[2,3-d]嘧啶-7-基)-1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-乙酮

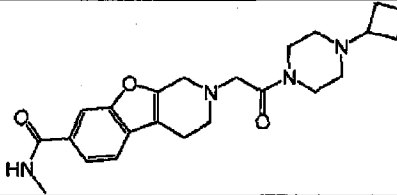
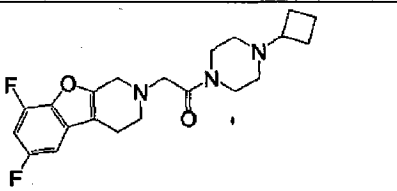
[0543]

156		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-甲氧基甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]呋喃并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
157		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-二甲基氨基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]呋喃并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
158		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-吗啉-4-基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]呋喃并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
159		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(4-甲氧基-2-甲基-5,8-二氢-6H-吡啶并[4',3':4,5]呋喃并[2,3-d]嘧啶-7-基)-乙酮
160		7-[2-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-2,3,5,6,7,8-六氢-1H-9-氧杂-3a,7,10-三氮杂-环戊烷[b]茚-4-酮
161		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-甲基-5,8-二氢-6H-9-氧杂-1,7-二氮杂-茚-7-基)-乙酮
162		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-环丙基-5,8-二氢-6H-9-氧杂-1,7-二氮杂-茚-7-基)-乙酮
163		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(2-嘧啶-5-基-5,8-二氢-6H-9-氧杂-1,7-二氮杂-茚-7-基)-乙酮

[0544]

164		7-[2-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-6,7,8,9-四氢-呋喃并[2,3-c;4,5-c']二吡啶-3-羧酸甲基酰胺
165		7-[2-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-5,6,7,8-四氢-3H-2,9-二氧杂-4,7-二氮杂-环戊烷[b]茚-1-酮
166		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(6-嘧啶-4-基-3,4-二氢-1H-呋喃并[2,3-c;5,4-c']二吡啶-2-基)-乙酮
167		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(7-氟-3,4-二氢-1H-9-氧杂-2,5-二氮杂-茚-2-基)-乙酮
168		2-[2-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-1,2,3,4-四氢-9-氧杂-2,5-二氮杂-茚-7-腈
169		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(3,4-二氢-1H-9-氧杂-2,5,6-三氮杂-茚-2-基)-乙酮
170		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(3-二甲基氨基-5,8-二氢-6H-9-氧杂-2,4,7-三氮杂-茚-7-基)-乙酮
171		2-[2-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-1,2,3,4-四氢-苯并[4,5]呋喃并[2,3-c]吡啶-6-羧酸二甲基酰胺
172		2-[2-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-1,2,3,4-四氢-苯并[4,5]呋喃并[2,3-c]吡啶-7-腈

[0545]

173		2-[2-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-氧代-乙基]-1,2,3,4-四氢-苯并[4,5]咪唑并[2,3-c]吡啶-7-羧酸甲基酰胺
174		1-(4-环丁基-哌嗪-1-基)-2-(6,8-二氟-3,4-二氢-1H-苯并[4,5]咪唑并[2,3-c]吡啶-2-基)-乙酮

[0546] 实施例 4

[0547] 嵌合人 H3 受体的制备

[0548] 来自人 H3 受体的嵌合 H3 受体 cDNA 由三个 cDNA 片段产生：(1) 人 H3 受体 cDNA 5' 片段；(2) 人 H3 受体 cDNA 3' 片段；以及 (3) 大鼠 $G\alpha_{i2}$ cDNA 片段，每个片段含有合适的重叠接头序列，如美国专利申请序列号 11/355,711（其以 US 2006/0188960 公开）的实施例 1 所述，其关于嵌合人 H3 受体 - 大鼠 $G\alpha_{i2}$ 杆状病毒表达构建体的制备的教导在此通过引用并入本文，所述构建体的序列提供于 US 2006/0188960 的 SEQ ID NO:7，其编码具有 US 2006/0188960 的 SEQ ID NO:8 所提供的序列的多肽。

[0549] 实施例 5

[0550] 嵌合人 H3 受体杆状病毒的制备和感染

[0551] 将嵌合人 H3 受体 - 大鼠 $G\alpha_{i2}$ 杆状病毒表达载体与 BACULOGOLDDNA (BD PHARMINGEN, San Diego, CA) 共转染进 Sf9 细胞中。转染后三天时，收获 Sf9 细胞培养物上清。然后，在添加了 Grace 盐和 4.1mM-Gln、3.3g/L LAH、3.3g/L 超滤酵母自溶物和 10% 热失活胎牛血清的 Hink's TNM-FH 昆虫培养基 (JRH Biosciences, Kansas City, KS)（下文称其为“昆虫培养基”）中依次稀释含重组病毒的上清，测定重组噬斑。四天后，选择重组噬斑，将其收获到 1ml 的昆虫培养基中，进行扩增。使用各 1ml 体积的重组杆状病毒（第 0 代）感染含有在 5ml 昆虫培养基中的 2×10^6 个 Sf9 细胞的独立 T25 培养瓶。在 27°C 下孵育 5 天之后，从每个 T25 感染物中收获上清，用作第 1 代接种物。

[0552] 选择 7 个重组杆状病毒克隆体中的两个进行第二轮扩增，使用 1ml 第 1 代储液感染在 100ml 昆虫培养基中的 1×10^8 个细胞，其分为两个 T175 培养瓶。感染后 48 小时，收获来自各个 100ml 制备物的第 2 代培养基，测定噬斑以确定病毒滴度。通过如下所述亲和结合测定来自第二轮扩增的细胞团块，以验证重组受体表达。然后使用 0.1 的感染复数感染一升的 Sf9 细胞开始第三轮扩增。感染后四十小时，收获上清，得到第 3 代杆状病毒储液。

[0553] 使用 DeMartino et al. (1994) J. Biol. Chem. 269(20):14446-50（其在第 14447 页的结合测定的教导通过引用并入本文）的方案并进行如下修改来测定所剩细胞团块的亲和结合。放射性配体范围为 0.40-40nM [^{3} H]-N-(a) 甲基组胺 (Perkin Elmer, Boston, MA)，测定缓冲液含有 50mM Tris、1mM $CaCl_2$ 、5mM $MgCl_2$ 、0.1% BSA、0.1mM 杆菌肽和 100KIU/ml 抑肽酶，pH 7.4。使用 GF/C WHATMAN 滤器（使用前于 1.0% 聚乙烯亚胺中预先浸泡 2 小时）进行过滤。用 5ml 不含 BSA、杆菌肽或抑肽酶的冷测定缓冲液洗涤滤器三次，空气干燥 12-16 小时。在 β 闪烁计数器上测定滤器上保留的放射性。

[0554] 通过噬斑测定来确定第 3 代杆状病毒储液的滴度,进行复数感染、孵育时程、结合测定实验来确定最佳受体表达条件。对于高达 1 升 Sf9 细胞感染培养物中的嵌合人 H3 受体 - 大鼠 $G\alpha_{i2}$ 表达来说,0.5 的感染复数和 72 小时的孵育期是优选的感染参数。

[0555] 用一份或多份重组杆状病毒储液感染对数期的 Sf9 细胞 (INVITROGEN),然后在昆虫培养基中于 27°C 下培养。用指导人 H3 受体 - 大鼠 $G\alpha_{i2}$ 表达的病毒联合三种 G 蛋白亚基 - 表达病毒储液进行感染,所述三种 G 蛋白亚基 - 表达病毒储液为:1) 大鼠 $G\alpha_{i2}$ -G-蛋白 - 编码病毒储液 (BIOSIGNAL#V5J008),2) 牛 β 1G-蛋白 - 编码病毒储液 (BIOSIGNAL#V5H012),和 3) 人 γ 2G-蛋白 - 编码病毒储液 (BIOSIGNAL#V6B003),其可获自 BIOSIGNAL Inc., Montreal。

[0556] 以 0.5 : 1.0 : 0.5 : 0.5 的感染复数方便地进行感染。感染后 72 小时,通过台盼蓝染色排除法分析细胞悬液等分试样的活力。如果肉眼观察不到蓝色,则通过离心收获 Sf9 细胞 (3000rpm/10 分钟 /4°C)。

[0557] 实施例 6

[0558] 嵌合人 H3 受体细胞膜制备物

[0559] 将如实施例 5 中所述获得的 Sf9 细胞团块重新混悬于匀浆缓冲液 (10mM HEPES、250mM 蔗糖、0.5 μ g/ml 亮抑肽酶、2 μ g/ml 抑肽酶、200 μ M PMSF 以及 2.5mM EDTA, pH 7.4) 中,并使用 POLYTRONPT10-35 匀浆器 (KINEMATICA AG, Lucerne, Switzerland; 第 5 档, 30 秒) 进行匀浆。将匀浆离心 (536 $\times$ g/10 分, 4°C), 使得细胞核和未破裂细胞聚成团块。将含有膜的上清倾析进干净的离心管中, 离心 (48,000 $\times$ g/30 分钟, 4°C), 在 30ml 匀浆缓冲液中重新混悬所得团块。重复此离心和重新混悬步骤两次。将最终的团块重新混悬于含有 5mM EDTA 的冰冷 Dulbecco PBS 中, 保存于 -80°C 的冷冻等分试样中直到用于放射性配体结合或者功能性反应测定。使用 Bradford 蛋白质测定 (BIO-RADLABORATORIES, Hercules, CA) 方便地测定所得膜制备物 (下文称之为 P2 膜) 的蛋白质浓度。通过该测定, 1 升的细胞培养物通常得到 100-150mg 的总膜蛋白。

[0560] 实施例 7

[0561] 嵌合人 H3 受体 GTP 结合测定

[0562] 本实施例举例说明了用于评价激动剂刺激的 GTP- γ ³⁵S 结合 ("GTP 结合") 活性的代表性测定。此 GTP 结合活性可用于鉴定 H3 拮抗剂以及区分中性拮抗剂化合物和具有反向激动剂活性的化合物。此激动剂刺激的 GTP 结合活性还可用于测定由拮抗剂化合物介导的部分激动作用。在本测定中分析的化合物在本文中称为 "测试化合物"。

[0563] 使用 4 种独立的杆状病毒储液 (一种指导嵌合人 H3 受体表达的储液, 三种指导异源 G 蛋白三种亚基之一表达的储液) 感染如上所述的 Sf9 细胞培养物。如上所述制备 P2 膜, 使用组胺 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) 作为激动剂评估 P2 膜上的激动剂刺激 GTP 结合, 以确定受体 /G-蛋白 - α - β - γ 组合产生如 GTP 结合所测得的功能性反应。通过 Dounce 匀浆 (紧槌 (tight pestle)) 将 P2 膜重新混悬在 GTP 结合测定缓冲液 (50mM Tris pH 7.4, 120mM NaCl, 5mM MgCl₂, 2mM EGTA, 1mg/ml BSA, 0.2mg/ml 杆菌肽、0.02mg/ml 抑肽酶、0.01mg/ml 皂角苷、10 μ M GDP) 中, 以 35 微克蛋白 / 反应管的浓度添加到测定管中。在以 10⁻¹²M 至 10⁻⁵M 的浓度范围添加递增剂量的组胺后, 通过加入 125pM GTP- γ ³⁵S (PERKINELMER; Boston, MA) 起始反应, 最终测定体积是 0.20ml。在竞争实验中, 以

10^{-10}M 至 10^{-6}M 的浓度范围向独立的反应中添加未进行放射性标记的测试化合物以及 $1\text{ }\mu\text{M}$ 组胺,得到终体积 0.20ml 。

[0564] 中性拮抗剂是基本上没有固有激动剂活性的拮抗剂,其包括降低组胺刺激的 GTP 结合活性但不低于基线水平的那些测试化合物。相反,在不加入组胺时,反向激动剂使受体的膜的 GTP 结合活性降低至基线以下。在本测定中,在不加入组胺时使 GTP 结合活性升高至基线以上的化合物被证明具有激动剂活性。

[0565] 在室温下孵育 60 分钟后,通过用 WHATMAN GF/C 滤器(在清洗缓冲液中预先浸泡, 0.1% BSA) 真空过滤然后用冰冷的清洗缓冲液 (50mM Tris pH 7.4, 120mM NaCl) 清洗来终止反应。通过测定滤器结合的放射性来测定结合 GTP- γ ^{35}S 的受体(因此是膜结合的)的量,优选通过对已清洗滤器的液体闪烁光度法进行。在包含 $10\text{ }\mu\text{M}$ 未标记 GTP- γ S 的平行测定中测定非特异性结合,通常为小于总结合的 5% 。数据表示为高于基础(基线)的百分率。使用 SIGMAPLOT 软件(SPSS Inc., Chicago, IL) 分析 GTP 结合实验的结果。通过使用 Kaleidograph(Synergy Software, Reading, PA) 对剂量-反应曲线进行非线性回归分析来计算 IC_{50} 值。

[0566] 或者,如下所述分析数据:首先,从每个其它实验孔测得的结合放射性减去阴性对照孔(无激动剂)的平均结合放射性。其次,计算阳性对照孔(激动剂孔)的平均结合放射性。然后,使用下式计算所测试的每个化合物的抑制百分率:

[0567] 抑制百分率 = $100 - 100 \times [\text{测试孔的结合放射性} / \text{激动剂孔的结合放射性}]$ 将抑制%数据绘制为测试化合物浓度的函数,使用线性回归确定测试化合物的 IC_{50} ,其中 x 是 $\ln(\text{测试化合物浓度})$ 和 y 是 $\ln(\text{抑制百分率} / (100 - \text{抑制百分率}))$ 。排除大于 90% 或者小于 15% 的抑制百分率数据,不用于回归。 IC_{50} 是 $e^{(-\text{截距} / \text{斜率})}$ 。

[0568] 通过 Cheng-Prusoff 修正(Cheng and Prusoff(1973) Biochem. Pharmacol. 22(23):3099-3108) 将计算得到的 IC_{50} 值转化为 K_i 值。因此,使用下式: $K_i = \text{IC}_{50} / (1 + [L] / \text{EC}_{50})$,其中 $[L]$ 是 GTP 结合测定中的组胺浓度, EC_{50} 是产生 50% 反应的组胺浓度,如使用 10^{-10}M 至 10^{-6}M 范围的组胺浓度的剂量-反应分析所测定的。

[0569] 为了评估测试化合物的激动剂或反向激动剂活性,在不添加组胺的情况下进行本测定,通过类似计算确定 EC_{50} 值,其中 EC_{50} 是测试化合物产生 50% 反应的浓度。

[0570] 实施例 8

[0571] 嵌合人 H3 受体筛选:GTP 结合测定

[0572] 此实施例举例说明了用于评价对组胺刺激之 GTP- γ ^{35}S 结合的抑制的代表性筛选测定。此 GTP 结合活性可用于鉴定 H3 拮抗剂和反向激动剂。本测定中分析的化合物在本文中称为“测试化合物”,使用 $4\text{ }\mu\text{M}$ 浓度的测试化合物进行最初的拮抗剂和反向激动剂的鉴定。

[0573] 使用 4 种独立的杆状病毒储液(一种指导嵌合人 H3 受体表达的储液,三种指导异源 G 蛋白三种亚基之一表达的储液)感染如上所述的 Sf9 细胞培养物。如上所述制备 P2 膜,通过 Dounce 匀浆(紧槌)重新混悬在 GTP 结合测定缓冲液 (50mM Tris pH 7.4, 120mM NaCl, 5mM MgCl_2 , 2mM MEGTA, 1mg/ml BSA, 0.2mg/ml 杆菌肽, 0.02mg/ml 抑肽酶, 0.01mg/ml 皂角苷, $10\text{ }\mu\text{M}$ GDP) 中,以 $35\text{ }\mu\text{g}$ 蛋白/反应管的浓度添加到测定管中。向各个反应中添加 $4\text{ }\mu\text{M}$ 浓度的非放射性标记的测试化合物和 $1\text{ }\mu\text{M}$ 组胺(激动剂)。通过加入 125pM GTP- γ ^{35}S

引发反应,最终测定体积是 0.20ml。

[0574] 在室温下孵育 60 分钟后,通过用 GF/C 滤器(预先浸泡于 50mM Tris pH 7.4, 120mM NaCl 加 0.1% BSA) 真空过滤终止反应,然后用冰冷缓冲液(50mM Tris pH 7.4, 120mM NaCl) 清洗。通过测定结合的放射性来测定结合 GTP- γ - ^{35}S 的受体(因此是膜结合的)的量,优选通过对已清洗滤器的液体闪烁光度法进行。使用 10 μM GTP- γ -S 确定非特异性结合,通常为小于总结合的 5%。减去非特异性结合之后,数据表示为 1 μM 组胺信号的抑制百分率。

[0575] 中性拮抗剂是降低组胺-刺激的 GTP 结合活性但不低于基线水平的测试化合物。相反,在不加入组胺时,反向激动剂使含受体的膜的 GTP 结合活性降低至基线以下。在本测定中,在不加入组胺时使 GTP 结合活性升高至基线以上的任何测试化合物被定义为具有激动剂活性。