

**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
CONSULTA DE DOCUMENTOS**

PAGINA SIN DIGITALIZAR

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO	
RAD: 11-165436- -7	FECHA: 2013-07-25 15:42:59
DEP: 2020 DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES	EVE: 378 FASE NACIONAL INCLUIDO CAPITULO I
TRA: 11 PCT-PATENTE DE INVENCION CAPITULOS I Y II	FOLIOS: 5
ACT: 519 PRESENTACION	

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá, D.C.,

Abogado(a)/Señor(a)
LUZ CLEMENCIA SUAREZ DE PAEZ

Asunto: Radicación: 11-165436- -7
 Trámite: 11
 Evento: 378
 Actuación: 519
 Oficio: 13431
 Folios: 5

Patente de Invención	X			Patente de Modelo de Utilidad	
Vía Nacional					
Vía PCT (Fase Nacional)	X	Capítulo I	X	Capítulo II	
No. Solicitud Internacional	PCT/EP2010/056824				
Fecha de Presentación Internacional	18/05/2010				

Como resultado del examen de fondo realizado, con fundamento en el Artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se comunica:

1. Documentos estudiados

Descripción:	Radicado 11165436-0000	01/Diciembre/2011
	Radicado 11165436-0000	01/Diciembre/2011
Reivindicaciones:	Radicado 11165436-0000	01/Diciembre/2011
	Radicado 11165436-0001	12/Diciembre/2011
Dibujos:	Radicado 11165436-0000	01/Diciembre/2011
Prioridad:	EP 093054567	19/Mayo/2009

2. Análisis de la Prioridad

Se acepta la reivindicación de prioridad porque ésta solicitud fue presentada dentro del plazo establecido (Art. 9 D 486) y su contenido técnico corresponde con el de la prioridad reivindicada.

3. Objeto de la invención

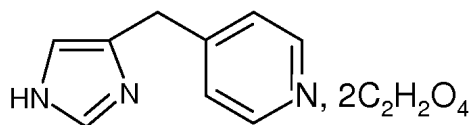
De acuerdo con lo establecido en el numeral 1.2.2.2 del Capítulo Primero del Título X de la Circular Única para efectos del examen de patentabilidad, se tendrá en cuenta la tasa pagada por el solicitante al momento de comenzar el examen para las

reivindicaciones adicionales; esto es que cuando la solicitud contenga más de diez (10) reivindicaciones y no se haya pagado la tasa complementaria, sólo se estudiarán las cubiertas por la tasa pagada. Con relación a la presente solicitud se realizó el pago de las reivindicaciones adicionales y se estudiarán las reivindicaciones 1 a 23.

Título de la solicitud: “Nuevas sales farmacéuticamente aceptables de 4-(1-H-imidazol-4-metil)piridina y sus usos terapéuticos”.

El problema planteado en esta solicitud está asociado con la inactivación del fármaco por efecto de primer paso, por la potente inhibición de las enzimas P450 del citocromo que da como resultado interacciones fármaco-fármaco y complican los tratamientos de una variedad de trastornos en el sistema nervioso central, como los asociados al sueño y a las enfermedades neuro- psiquiátricas.

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona formas hidratadas y solvatadas de immetridina, derivadas de un compuesto de la fórmula (I) y composiciones que lo contienen. Este compuesto se caracteriza por ser un derivado de imidazol.



El objeto de la presente solicitud se relaciona con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP): A61K 034/4439.

4. Excepción a la Patentabilidad (Art 20 D 486 literal (d))

El objeto de las reivindicaciones 15 a 20 no es patentable de acuerdo con el Art citado, puesto que las reivindicaciones se encabezan en términos de compuesto pero se definen en términos del método de tratamiento.

5. Reivindicaciones relativas a un uso o a un segundo uso (Art 14 y 21 D 486)

El uso de las reivindicaciones 21 - 22 no es patentable, de acuerdo con el Art 14, puesto que las reivindicaciones se encabezan en términos de compuesto pero se definen en términos de su uso.

6. De la solicitud de patente

Título

Se recomienda cambiar del título la expresión “y sus usos terapéuticos”

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

Las reivindicaciones 1 y 5 no son claras porque reclaman formas polimórficas de las sales y los solvatos. Es necesario indicar las características esenciales y estructurales de los mismos.

Las reivindicaciones 7 y 9 no son claras porque se refieren a una forma cristalina pero ésta no está definida por sus características técnicas esenciales como el patrón de difracción de rayos X en mono cristal, el patrón de difracción de rayos X en polvo (DRXP) con por lo menos los 20 picos correspondientes a las intensidades de los haces

difractados o a los espacios interplanares d_{hkl} según los índices de Miller (hkl) medidos de acuerdo con el ángulo de difracción de Bragg 2θ en el intervalo más representativo comprendido entre 5° hasta 90° , las espectroscopías Raman e IR, la espectroscopía RMN- C^{13} , o, los métodos de análisis térmico: TGA, DTA y DSC. Se solicita eliminar la reivindicación del pliego reivindicatorio o caracterizar la forma cristalina de acuerdo a lo que se encuentre debidamente soportado en la descripción.

La reivindicación 9 no es clara porque remite a la figura 1, la cual se encuentra dentro del capítulo descriptivo. Las reivindicaciones de acuerdo a la Decisión 486 de 2000 deben por si misma explicar el objeto de la materia a reclamar. Se sugiere eliminar la referencia e incluir dentro de la reivindicación la característica a reclamar.

La reivindicación 14 no es clara porque define al compuesto desde el proceso y sólo pueden ser definidas en términos de su proceso de fabricación si: el producto es nuevo e inventivo y no se puede definir por sus características estructurales. Se sugiere definirlo por sus características esenciales, estructurales o funcionales.

Las reivindicaciones 1-3, 5 y 8 no son concisas porque reclaman de forma general las sales de immetridina, se sugiere restringir la solicitud a una razonable generalización de las sales que han sido probadas, es decir que se encuentren sustentadas, de acuerdo a lo presentado en la tabla 1.

Tabla 1. Sales sustentadas

Sales	Diclorhidrato, dihidrogensulfonato, toluensulfonato, ditoluensulfonato, dialcanforsulfonato, dibencensulfonato, fosfato, dimetansulfonato, alfa-cetoglutarato, monooxalato, monosulfato y dioxalato
-------	---

Las reivindicaciones 4 y 6 no son concisas por repiten materia, se sugiere sólo dejar una de éstas.

Las reivindicaciones 10 y 11 no son concisas porque la definición de ácido, solvente orgánico, halógeno y protector son generales. Se sugiere restringir la solicitud a una razonable generalización del tipo de compuestos y elementos que han sido probados, es decir, que se encuentran debidamente sustentados, en el capítulo descriptivo, de acuerdo a lo presentado en tabla 2.

Tabla 2. Ejemplos de los ácidos y solventes sustentados en el capítulo descriptivo:

ÁCIDOS	SOLVENTES	HALOGENOS	PROTECTORES
Bromihídrico, clorhídrico, sulfúrico, p-toluensulfónico* monohidratado, alcanforsulfónico, bencensulfónico, fosfórico, metansulfónico, α -cetoglutárico, oxálico	Propanol, agua, acetona	Iodo	Trifenilmetil

La reivindicaciones 23 no está sustentada en la descripción porque reclama combinaciones entre las sales y polimorfos de la immetridina. Dicha combinación está en la reivindicación y no en la descripción. Se sugiere incorporarla a la descripción para dar soporte. Esta modificación no supone ampliación puesto que las reivindicaciones iniciales se presentaron con la descripción (Art. 26 D 486).

Se requiere al solicitante hacer las aclaraciones necesarias.

7. Determinación del Estado de la Técnica

El estado de la técnica se determinó con base en la fecha de presentación de la solicitud de prioridad: mayo 19 de 2009. Consultadas las fuentes de información con que se cuenta, se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación*
D1	WO 92/14453	“Compositions and Methods of treatment of sympathetically maintained pain”	03/Septiembre/1992
D2	US 6465486	“Pyridyl/QuinolinyI Imidazoles”	15/Octubre/2002
D3	J.Med.Chem. 2004, 47, 2414-2417.	Identification of 4-(1H-Imidazol-4(5)- ylmethyl) pyridine (Immethridine) as a novel potent and highly selective histamine H3 receptor agonist	Enero/2004.
D4	US 60124296	“Pyridyl/QuinolinyI Imidazoles”	03/Diciembre/1990

El Documento D1⁽¹⁾ divulga diagnóstico y tratamiento del dolor usando agentes simpatolíticos, (Pág. 1, Párr. 002).

El Documento D2⁽²⁾ divulga moduladores α2-adrenergicos para tratamiento de variedad de condiciones, incluyendo hipertensión, glaucoma, disfunción sexual, depresión, déficit de atención, entre otras (Pág. 2, Líneas 8 – 17).

El Documento D3⁽³⁾ divulga un estudio donde el anillo de piperina del Immepip y sus análogos fue remplazado por un anillo rígido de heterocíclico de piridina y la evaluación de su efecto agonista H3 (Resumen).

El Documento D4⁽⁴⁾ divulga compuestos de tipo imidazol, piridinas y quinolinas, que se unen y modulan a los receptores α2-adrenergicos (Pág. 1, línea 1 a 5).

8. Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

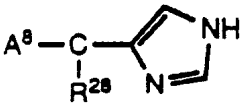
Novedad (Art 16 D486)

La reivindicación 1 consiste en una composición farmacéutica caracterizada porque comprende immetridina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D1
Composición Farmacéutica	Composición Farmacéutica (Pág. 43, Rv.2, líneas 10 a

1. http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?CC=WO&NR=9214453&KC=&FT=E&locale=en_EP
 2. http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=EPODOC&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=20021015&CC=US&NR=6465486B1&KC=B1
 3. <http://www.pha.nu.ac.th/ruengwit/Publications/Immethridine.pdf>
 4. <http://portal.uspto.gov/pair/PublicPair>

	14)
Principio activo Immetridina	 Donde, A8 es heteroaril y R28 es hidrogeno (Pág. 51, Rv. 23, líneas 9 a 14)
Sales farmacéuticamente aceptables	Sales farmacéuticamente aceptables (Pág 51 , líneas Rv. 23, línea 9 a 14)

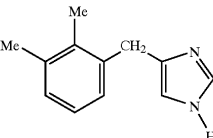
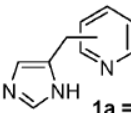
En consecuencia, la reivindicación 1 no es nueva o carece de novedad, según lo divulgado en el documento D1.

Las reivindicaciones dependientes 2 – 9 no mencionan alguna característica que haga nueva a la composición de la reivindicación 1, por lo cual se considera que no son nuevas.

Nivel inventivo (Art18 D486)

La reivindicación 1 consiste en consiste en una composición farmacéutica caracterizada porque comprende immetridina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D2	D3
Composición Farmacéutica	Composición Farmacéutica (Col. 8, líneas 15 a 35)	No describe
Principio activo Immetridina	 (Col. 2, línea 5).	 1a = 2-isomer b = 3-isomer c = 4-isomer (Pág. 2415, esquema 1)
Sales farmacéuticamente aceptables	Sales farmacéuticamente aceptables derivadas del ácidos como el oxálico, clorhídrico, sulfúrico, p-toluensulfónico, entre otros (Col 8 , líneas 46 a 55)	Sales farmacéuticamente aceptables, derivadas de ácidos como clorhídrico y bromihídrico (Pág. 2416, tabla 3)

Los documentos D2 y D3 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 1, porque divulgan el efecto de la immetridina y sus sales en el tratamiento de trastornos neuropsiquiátricos (Col. 2, líneas 15 a 16 y Pág. 2014, Col. 1, Párr. 002, respectivamente).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 1 y el compuesto definido en D2 consiste en que el compuesto reclamado corresponde a inmetridina mientras que

el compuesto enseñado en el documento D2 corresponde a detomidina.

El efecto que logra incluir dentro de una composición farmacéutica a la immetridina consiste mejorar la actividad agonista de los receptores H3R y por ende su aplicación en el tratamiento de trastornos neuropsiquiátricos.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: “como modificar composiciones farmacéuticas empleadas en el tratamiento de trastornos neuropsiquiátricos para mejorar la eficiencia biológica de las mismas”.

Sin embargo, la utilización de immetridina en composiciones farmacéuticas empleadas e el tratamiento de trastornos neuropsiquiátricos, ya se encuentra divulgada en el documento D3 que enseña el empleo de la immetridina en el tratamiento de trastornos neuropsiquiátricos (Pág. 2014, Col. 1, Párr. 002).

El documento D2 enseña que el compuesto Cp-9 presenta un Ki de 1,6 nM (Col. 10, Tabla 1). Por su lado la invención define que su compuesto BP1.5375-dioxalato muestra un Ki de 3,31 µM (Fl.40, línea 8). Por lo anterior, no se observa un efecto sorprendente por parte de la invención.

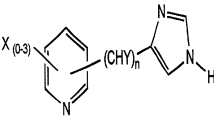
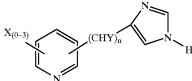
En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría a la immetridina definida en el documento D3 dentro de la composición divulgada en el documento D2, cambiando a la detomidina por ésta, para llegar así al objeto de la reivindicación 1 de la solicitud. Por lo cual se considera obvia.

Las reivindicaciones dependientes 2 a 9 no mencionan alguna característica que no sea obvia dentro de las composiciones en la reivindicación 1, por los cual se considera que no tienen nivel inventivo.

Nivel inventivo (Art18 D486)

La reivindicación 10 consiste en un procedimiento para la preparación del compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 5 o 9, caracterizado porque comprende el paso de hacer reaccionar immetridina con el ácido correspondiente, en un solvente orgánico.

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D4	D2
Procedimiento de preparación de una sal Immetridina por reacción con ácido oxálico en un solvente orgánico	Métodos de preparación de (Pág.5, líneas 9 a 10)  Donde, Y: Hidrógeno Pág. 8, línea 5 a 10 y Pág.6, Esquema 1) Reacción con el Ácido Fumárico en	Métodos de preparación (Col. 4, líneas 10 a 11).  Donde, Y= Hidrógeno Reacción con el ácido oxálico (Col.8, líneas 46 a 55)

	etil acetato (Pág. 16,Ej. 4)	
--	---------------------------------	--

Los documentos D4 y D2 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 10, porque divulgan la síntesis de sales de compuestos piridin imadizolicos, con acción α adrenérgico (Resumen).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 10 y el procedimiento definido en D4 consiste en que el procedimiento reclamado incluye la reacción de immetridina con ácido oxálico mientras que el procedimiento presentado en el documento D4 incluye la reacción de immetridina con el ácido fumárico.

El efecto que logra incluir dentro del procedimiento de preparación el ácido oxálico para que reacciones con la immetridina consiste en mejorar la actividad de la immetridina, ya que una sal oxálica presenta valores de K_i de 3,31 μ m, mientras que la sal sulfato y la forma base registran valores de K_i de 6,29 μ m y de 16,26 μ m, respectivamente (Fl. 40, líneas 5 a 10).

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se puede formular así: “como modificar un método de obtención de immetridina para aumentar sus eficiencia biológica”.

Sin embargo, la inclusión de ácido oxálico en el procedimiento de obtención de oxalato de immetridina para aumentar la eficiencia biológica del ingrediente activo, ya se encuentra divulgada en el documento D2, que enseña procedimientos de obtención de sales de immetridina entre ellas la oxálica (Col.8, líneas 46 a 55).

El documento D2 enseña que el compuesto Cp-9 presenta un K_i de 1,6 nM (Col. 10, Tabla 1). Por su lado la invención define que su compuesto BP1.5375-dioxalato muestra un K_i de 3,31 μ M (Fl.40, línea 8). Por lo anterior, no se observa un efecto sorprendente por parte de la invención.

En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría la reacción de immetridina con ácido oxálico de acuerdo a lo presentado en el documento D2 dentro del procedimiento descrito en el Documento D4, cambiando al ácido fumárico por el ácido oxálico, para llegar así al objeto de la reivindicación 10 de la solicitud. Por lo cual se considera obvia.

Las reivindicaciones dependientes 11 – 14 no mencionan alguna característica que no sea obvia dentro del proceso de obtención, de acuerdo a la reivindicación 10, por los cual se considera que no tienen nivel inventivo.

8. Conclusión

Los requisitos de Patentabilidad de la presente solicitud están afectados así:

Item	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	WO 92/14453	1 - 9 y 23	Novedad
D2	US 6465486	1 – 14 y 23	Nivel inventivo
D3	J.Med.Chem. 2004, 47, 2414-2417.	1 - 9	Nivel inventivo
D4	US 60124296	10 - 14	Nivel inventivo

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta (60) días contados a partir de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Se invita al solicitante se sirva indicar, si así lo considera, su renuncia al término faltante de sesenta (60) días para dar respuesta a este requerimiento y presentarla por escrito.

Finalmente, se le recuerda al solicitante que si como respuesta a este requerimiento llegara a modificar el capítulo reivindicatorio y éste contenga más de diez (10) reivindicaciones, no pagará la tasa de modificación voluntaria pero sí la correspondiente al pago por reivindicación adicional.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No. 10 de 2001.



JOSÉ LUIS SALAZAR LÓPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha 2013-07-30

Elaboró: German Antonio Clavijo Cohen
Revisó: Jeny Paola Villate Becerra

Identification of 4-(1*H*-Imidazol-4(5)-ylmethyl)pyridine (Immethridine) as a Novel, Potent, and Highly Selective Histamine H₃ Receptor Agonist

Ruengwit Kitbunnadaj,^{†,‡} Obbe P. Zuiderveld,[†] Bernard Christophe,[§] Saskia Hulscher,[†] Wiro M. P. B. Menge,[†] Edith Gelens,[†] Erwin Snip,[†] Remko A. Bakker,[†] Sylvain Celanire,[§] Michel Gillard,[§] Patrice Talaga,[§] Henk Timmerman,[†] and Rob Leurs^{*,†}

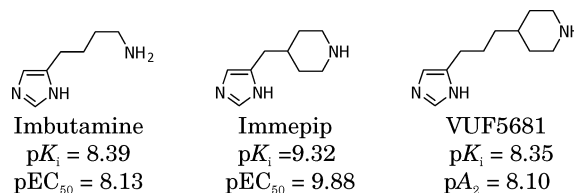
Leiden/Amsterdam Center of Drug Research (LACDR), Division of Medicinal Chemistry, Faculty of Sciences, Vrije Universiteit Amsterdam, The Netherlands, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand, and UCB Pharma, Chemin du Foriest, B-1420 Braine-l'Alleud, Belgium

Received January 23, 2004

Abstract: In this study, the piperidine ring of immapip and its analogues was replaced by a rigid heterocyclic pyridine ring. Many compounds in the series exhibit high affinity and agonist activity at the human histamine H₃ receptor. Particularly, the 4-pyridinyl analogue of immapip (**1c**, immethridine) is identified as a novel potent and highly selective histamine H₃ receptor agonist ($pK_i = 9.07$, $pEC_{50} = 9.74$) with a 300-fold selectivity over the closely related H₄ receptor.

Histamine is a biogenic amine with multiple physiological effects. It exerts its biological activities through four histamine receptors, i.e., H₁, H₂, H₃, and H₄ receptors, which all belong to the superfamily of heptahelical (7TM) G-protein-coupled receptors.^{1–4} The histamine H₁ and H₂ receptors have been identified by pharmacological means many years ago, and histamine H₁ and H₂ antagonists have been used clinically for the treatment of allergy and gastric ulcers, respectively.^{5–8} The histamine H₃ receptor, however, was discovered in 1983 by Arrang et al. and was identified as a presynaptic autoreceptor in the brain controlling the release of histamine.^{9,10} Subsequently, the histamine H₃ receptor was also shown to act as presynaptic heteroreceptor at nonhistaminergic neurons in the central and peripheral nervous system modulating the release of neurotransmitters such as acetylcholine,¹¹ dopamine,¹² serotonin,¹³ and noradrenaline.¹⁴ The therapeutic potential for histamine H₃ receptor antagonists and agonists has been suggested in a variety of disorders; antagonists have been proposed for several central nervous system disorders, e.g., epilepsy,¹⁵ attention-deficit hyperactivity disorder,¹⁶ Alzheimer's disease,¹⁷ schizophrenia,¹⁸ and obesity,¹⁹ while agonists could be of potential use in myocardial ischemia,²⁰ inflammatory,²¹ and gastric acid related diseases.²²

Chart 1. Binding Affinities and Functional Activities of Histamine H₃ Receptor Ligands



A previous study on conformationally constrained analogues of histamine and its homologues demonstrated that increased rigidity by incorporation of a piperidine ring into the side chain results in increased affinity and agonist efficacy at the human histamine H₃ receptor. Immapip, a conformationally constrained analogue of imbutamine, possesses improved affinity and functional activity at the human H₃ receptor (Chart 1).²³ Although the piperidine ring is more rigid than the aliphatic alkylamine, this ring system still shows some flexibility. We hypothesized that the histamine H₃ receptor affinity could be improved further by imparting a conformational constraint of the side chain via replacement of the piperidine ring with an aromatic pyridine ring. Our previous study also showed that extension of the spacer between the imidazole and the piperidine ring resulted in a potent neutral H₃ antagonist (VUF5681, Chart 1).²³ We therefore designed a new series of compounds with variation in the spacer length between the imidazole and pyridine ring and/or alteration of nitrogen position in the pyridine ring (Figure 1).

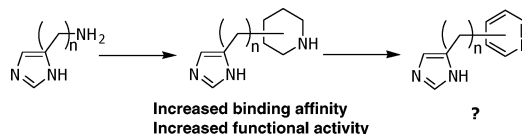


Figure 1. Design of novel histamine H₃ receptor agonists based on the hypothesis that increased rigidity leads to increased activity.

Some of the ligands have been described before²⁴ but were synthesized differently in this work. Compounds **1a–c** were synthesized from protected 4-iodoimidazole²⁵ (**4**) as shown in Scheme 1. The iodo compound was treated with EtMgBr, then with pyridinecarboxaldehydes to give the intermediate alcohols (**5**) in good yield (85–90%). The alcohol was acetylated by acetic anhydride using dimethylaminopyridine (DMAP) as a catalyst to obtain **6**, which was subsequently hydrogenated under 50 atm of H₂ to give **7** in moderate yield (70–75%). Deprotection of **7**, by heating in 30% HBr at reflux temperature, provided **1a–c**.

Compounds **2a–c** were synthesized according to Scheme 2. The intermediate aldehydes (**9**) were prepared from commercially available 3-pyridinepropan-1-ols via a Swern oxidation in moderate to good yield (75–85%).²⁶ By use of TosMIC-mediated imidazole synthesis,²⁷ **2a–c** were obtained in moderate yield (65–75%).

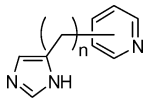
The synthesis of 3-(1*H*-imidazol-4(5)-yl)propylpyridines (**3a–c**) followed Scheme 3. The key inter-

* To whom correspondence should be addressed. Phone: (+31) 20 444-7600. Fax: (+31) 20 444-7610. E-mail: leurs@few.vu.nl.

[†] Vrije Universiteit Amsterdam.

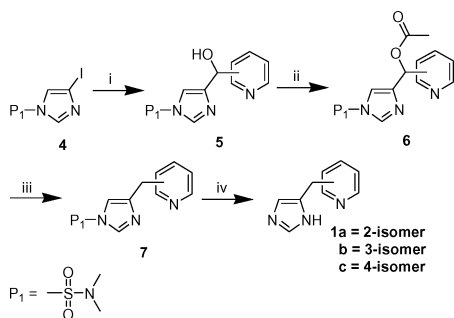
[‡] Naresuan University.

[§] UCB Pharma.

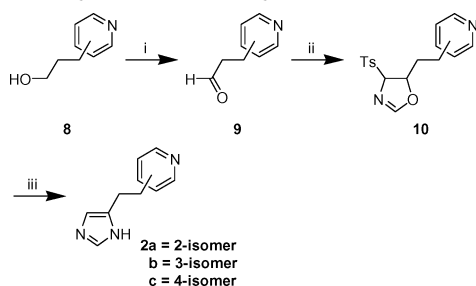
Table 1. Affinities and Functional Activities of Pyridine-Containing Ligands on the Human Histamine H₃ and H₄ Receptors


compd	VUF	n	isomer	human histamine H ₃ receptor			human histamine H ₄ receptor			selectivity ^d
				pK _i ± SEM ^a	pEC ₅₀ ± SEM ^b	α ^c	pK _i ± SEM ^a	pEC ₅₀ ± SEM ^b	α ^c	
1a	4886	1	2	6.23 ± 0.00	6.22 ± 0.05	0.9	5.34 ± 0.02	4.98 ± 0.05	1.0	8
1b	4857	1	3	7.28 ± 0.02	7.41 ± 0.12	1.0	6.16 ± 0.02	4.82 ± 0.23	0.5	5
1c	immethridine	1	4	9.07 ± 0.00	9.74 ± 0.14	0.9	6.61 ± 0.02	6.04 ± 0.07	0.8	288
2a	5912	2	2	5.93 ± 0.02	5.87 ± 0.09	0.6	4.91 ± 0.05	4.23 ± 0.19	0.6	10
2b	5913	2	3	6.85 ± 0.03	6.45 ± 0.10	1.0	5.29 ± 0.05	4.49 ± 0.07	0.3	36
2c	5889	2	4	8.16 ± 0.05	8.17 ± 0.02	0.9	5.88 ± 0.04	5.82 ± 0.34	0.4	191
3a	5914	3	2	5.98 ± 0.01	6.04 ± 0.02	0.5	5.90 ± 0.06	5.50 ± 0.10	0.6	1
3b	5915	3	3	7.48 ± 0.03	7.51 ± 0.03	1.0	6.32 ± 0.02	5.90 ± 0.13	0.4	14
3c	5916	3	4	7.81 ± 0.03	7.71 ± 0.09	1.0	6.00 ± 0.01	5.81 ± 0.11	0.4	65
imbutamine				8.39 ± 0.03	8.13 ± 0.08	0.9	7.84 ± 0.09	7.05 ± 0.04	1.0	4
imnepip				9.32 ± 0.04	9.88 ± 0.02	1.0	7.66 ± 0.04	7.25 ± 0.16	0.7	46

^a The pK_i values were measured by [³H]-N^α-methylhistamine or [³H]-histamine binding to membranes of SK-N-MC cells expressing the human H₃ or H₄ receptor, respectively. ^b The pEC₅₀ values were determined by the inhibition of the cAMP-stimulated β-galactosidase transcription in SK-N-MC cells expressing the human H₃ or H₄ receptor. The results were presented as the mean ± SEM of at least three independent experiments. ^c α = intrinsic activity as the ratio of the maximum response of each ligand to the maximum response of histamine. ^d Selectivity = K_i(H₄)/K_i(H₃).

Scheme 1. Synthetic Pathway for **1a–c**^a

^a Reagents and conditions: (i) EtMgBr, THF, pyridinecarboxaldehyde, room temp, 16 h; (ii) DMAP, DCM, acetic anhydride, room temp, 3 h; (iii) H₂ (50 atm), 10% Pd/C, MeOH, 24 h; (iv) 30% HBr, reflux 24 h.

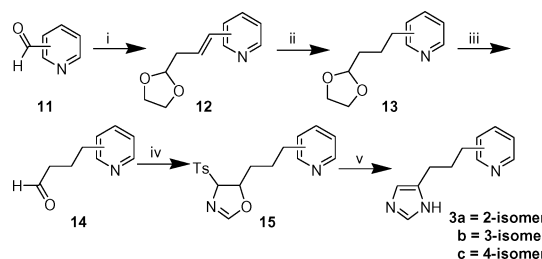
Scheme 2. Synthetic Pathway for **2a–c**^a

^a Reagents and conditions: (i) oxalyl chloride, DMSO, DCM, triethylamine, −65 °C to room temp, 5 h; (ii) TosMIC, NaCN, EtOH; (iii) saturated NH₃ in EtOH, 90–110 °C, 10–12 atm, 24 h.

mediate ω-pyridinebutanals (**14**) were prepared from corresponding pyridinecarboxaldehydes (**11**) following the procedure earlier described.²³ By use of the aforementioned TosMIC chemistry, the imidazole products **3a–c** were obtained in moderate yield (60–70%).

Characterization and physical properties of the target compounds are shown in Table 3.

Binding affinities and functional activities of all compounds were performed using SK-N-MC cells expressing the human histamine H₃ or H₄ receptor following procedure described in ref 23.

Scheme 3. Synthetic Pathway for **3a–c**^a

^a Reagents and conditions: (i) *n*-BuLi, THF, [2-(1,3-dioxolan-2-yl)ethyl]triphenylphosphonium bromide, −30 °C, 3 h; (ii) H₂, 5% Pd/C, 1 atm, 24 h; (iii) 1 N HCl, room temp, 10 min; (iv) TosMIC, NaCN, EtOH, room temp, 2 h; (v) saturated NH₃ in EtOH, 90–110 °C, 10–12 atm, 24 h.

Table 2. Activities of H₃ Agonists on the Twitch Contraction Induced on the Paced Myenteric Plexus Isolated from Guinea Pig Ileum^a

compd	pD ₂ ± SEM	E _{max} ± SEM (%)
immethridine	7.45 ± 0.08	38.5 ± 7.56
imnepip	7.97 ± 0.10	25.2 ± 4.24
imetit	7.88 ± 0.13	31.3 ± 6.00

^a The potency (pD₂) and maximum inhibitory effect of contraction amplitude (% E_{max}) values were determined from concentration–response curves of ligands elicited on the paced isolated guinea pig ileal myenteric plexus. The results were presented as the mean ± SEM of at least five independent experiments.

Many histamine analogues have been described as selective H₃ receptor agonists.^{28,29} For ligands with a basic nitrogen in the side chain, increased rigidity appears to result in an increase in binding affinity and agonist potency at the human H₃ receptor.²³ The piperidine side chain analogue, imnepip, is a typical example of such a ligand that exhibits a 10-fold higher affinity for the human H₃ receptor than its flexible ligand (imbutamine) as seen in Table 1. Imnepip is currently one of the most potent H₃ agonist known (pK_i = 9.32 and pEC₅₀ = 9.88) but also shows reasonable potency for the recently discovered histamine H₄ receptor (pK_i = 7.66 and pEC₅₀ = 7.25). In our search for potent and selective histamine H₃ and H₄ ligands, a further conformational constraint in the side chain

Table 3. Characterization and Physical Properties of Ligands

compd	salt	yield ^a (%)	mp ^b (°C)	MS ^c [M + 1] ⁺	NMR (D ₂ O) ^d	formula
1a	HBr	55	225.1–226.3 (dec)	160.3	δ 8.6 (d, 1H, <i>J</i> = 7 Hz), 8.5 (s, 1H), 8.4 (t, 1H, <i>J</i> = 7 Hz), 7.9 (t, 1H, <i>J</i> = 7 Hz), 7.8 (d, 1H, <i>J</i> = 7 Hz), 7.4 (s, 1H), 4.6 (s, 2H)	C ₉ H ₁₁ N ₃ Br ₂
1b	HBr	42	262.4–264.2	160.4	δ 8.7 (m, 2H), 8.6 (s, 1H), 8.5 (d, 1H, <i>J</i> = 7 Hz), 8.0 (t, 1H, <i>J</i> = 7 Hz), 7.3 (s, 1H), 4.4 (s, 2H)	C ₉ H ₁₁ N ₃ Br ₂
immethridine	HBr	47	>300	160.4	δ 8.6 (d, 2H, <i>J</i> = 7 Hz), 8.5 (s, 1H), 7.9 (d, 2H, <i>J</i> = 7 Hz), 7.4 (s, 1H), 4.5 (s, 2H)	C ₉ H ₁₁ N ₃ Br ₂
2a	HBr	63	213.5–215.4 (dec)	174.3	δ 8.5 (d, 1H, <i>J</i> = 7 Hz), 7.5 (m, 2H), 7.1 (m, 2H), 6.7 (s, 1H), 3.0 (m, 4H)	C ₁₀ H ₁₃ N ₃ Br ₂ ·0.3H ₂ O
2b	HBr	58	225.8–226.5	174.5	δ 8.3 (m, 2H), 7.5 (s, 1H), 7.4 (d, 1H, <i>J</i> = 8 Hz), 7.1 (m, 1H), 6.6 (s, 1H), 2.9 (m, 4H)	C ₁₀ H ₁₃ N ₃ Br ₂
2c	HBr	68	264.8–265.6 (dec)	174.6	δ 8.4 (d, 2H, <i>J</i> = 7 Hz), 7.5 (s, 1H), 7.1 (d, 2H, <i>J</i> = 7 Hz), 2.9 (m, 4H)	C ₁₀ H ₁₃ N ₃ Br ₂
3a	HCl	53	174.3–175.6	188.4	δ 8.5 (d, 1H, <i>J</i> = 7 Hz), 7.6 (m, 2H), 7.2 (m, 2H), 6.8 (s, 1H), 2.8 (t, 2H, <i>J</i> = 7 Hz), 2.6 (t, 2H, <i>J</i> = 7 Hz), 2.0 (quint, 2H, <i>J</i> = 7 Hz)	C ₁₁ H ₁₅ N ₃ Cl ₂ ·0.3H ₂ O
3b	HCl	57	190.4–191.1	188.3	δ 8.5 (m, 2H), 7.6 (s, 1H), 7.5 (d, 1H, <i>J</i> = 8 Hz), 7.2 (m, 1H), 6.8 (s, 1H), 2.6 (m, 4H), 2.0 (quint, 2H, <i>J</i> = 7 Hz)	C ₁₁ H ₁₅ N ₃ Cl ₂ ·0.3H ₂ O
3c	HBr	55	220.4–221.1 (dec)	188.6	δ 8.5 (d, 2H, <i>J</i> = 7 Hz), 7.6 (s, 1H), 7.1 (d, 2H, <i>J</i> = 7 Hz), 6.8 (s, 1H), 2.6 (m, 4H), 1.9 (m, 2H)	C ₁₁ H ₁₅ N ₃ Br ₂

^a Yields after recrystallization from EtOH/ether. ^b Melting points were determined on an Electrothermal IA9200 apparatus. ^c Mass spectrometry were performed on Finnigan LCQDECA ion-trap mass spectrometer using APCI technique. ^d ¹H NMR spectra were recorded on Bruker AC-200 spectrometer with the residual undeuterated solvent peak as reference.

was achieved by a replacement of the piperidine ring with a pyridine ring. Although none of the new compounds exhibits greater affinity or agonist efficacy than imepip, some do demonstrate greater selectivity for the human H₃ receptor (Table 1). At the human H₃ receptor, the 4-pyridinyl analogue of imepip, immethridine (**1c**), also acts as a full agonist with high affinity and potency (*pK_i* = 9.07 and *pEC*₅₀ = 9.74). Although the affinity of immethridine at the human H₃ receptor equals the affinity of imepip, immethridine displays a 10-fold lower binding affinity at the human H₄ receptor (*pK_i* = 6.61 and *pEC*₅₀ = 6.04, Table 1). This decreased binding affinity leads to a 300-fold selectivity at the human H₃ receptor over the H₄ receptor. Further evaluation of immethridine at the human H₁ and H₂ receptors indicated no binding affinity even at 10 μM (data not shown). Therefore, immethridine is one of the most potent and selective agonist for the human H₃ receptor.

Consistent with observations in the piperidine-containing series,²³ the optimal spacer length within the pyridine series is one methylene unit. Extension of the spacer length between the imidazole ring and the pyridine ring leads to reduced affinity and less agonist activity at the human histamine H₃ and H₄ receptors. Compounds **2c** and **3c** respectively exhibit *pK_i* values of 8.16 and 7.81 at the human H₃ receptor and 5.88 and 6.00 at the human H₄ receptor (Table 1).

We previously observed that extension of the spacer length in the 4-piperidine-containing series also resulted in a decreased agonist efficacy at the human H₃ receptor, eventually resulting in a neutral antagonist (propylene spacer).²³ In contrast, in the 4-pyridine-containing series, the longer homologues of immethridine (**2c** and **3c**) still behave as full agonists at the human H₃ receptor. At the human H₄ receptor, most of the compounds in this series behave as partial agonists (Table 1).

The 2- and 3-pyridinyl analogues exhibited decreased affinity and agonist potency at the human H₃ receptor, but this change did not significantly affect the human

H₄ receptor activity. At the human histamine H₃ receptor, the full agonists **1a** and **1b** exhibit a significantly reduced affinity (*pK_i* = 6.23 and 7.28, respectively) compared to immethridine, whereas only a small decrease was observed at the human H₄ receptor (*pK_i* = 5.34 and 6.16, respectively; Table 1). This isomer preference was also observed for the longer immethridine homologues (**2c** → **b** → **a** and **3c** → **b** → **a**). On the basis of these findings, we conclude that the pyridine nitrogen plays a role in the binding to the human H₃ receptor. Moreover, the position of the pyridine nitrogen is crucial for H₃ receptor binding affinity but is less important for H₄ receptor affinity.

Histamine and other H₃ agonists inhibit the twitch contraction of the paced myenteric plexus isolated from guinea pig ileum through the activation of the histaminergic H₃ presynaptic receptor.^{30–32} Immethridine was therefore evaluated in this model. Similar to the potent H₃ agonists, i.e., imetit and imepip, immethridine induces a concentration-dependent decrease of the electrically induced twitch contraction of the guinea pig ileal myenteric plexus. Immethridine again acts as a full agonist and is slightly less effective (*pD*₂ = 7.45) than imepip and imetit in this model (Table 2).

In this study, the replacement of the piperidine ring of imepip with a 4-pyridine ring resulted in the discovery of a potent and highly selective histamine H₃ receptor agonist (immethridine). Although immethridine possesses no improved affinity or functional activity at the human H₃ receptor (*pK_i* = 9.07, *pEC*₅₀ = 9.74, *α* = 0.9) compared to imepip, a strongly reduced affinity at the human H₄ receptor was observed. With about 300-fold H₃ receptor selectivity over the human H₄ receptor and lack of binding affinity at the human histamine H₁ and H₂ receptors, immethridine is currently one of the most potent and selective H₃ receptor agonists. Previously, the nitrogen of histamine and other histamine H₃ receptor agonists such as imbutamine and (*R*)-*α*-methylhistamine has been suggested to form an ionic interaction with a conserved aspartate residue (D114) in transmembrane domain 3.³³

Because of the weakly basic property of the pyridine nitrogen, we hypothesize that immethridine may not interact with the human H₃ receptor via an ionic interaction with the aforementioned aspartate residue. Therefore, immethridine might serve future molecular modeling studies by helping to distinguish between different models of the binding site of the human histamine H₃ receptor.

Acknowledgment. The authors thank Dr. T. Lovenberg, Johnson & Johnson Pharmaceutical Research and Development, San Diego, CA, for the cells stably expressing the human histamine H₃ and H₄ receptors, and Ms. Christel Delaunoy (UCB) for her technical support.

Supporting Information Available: Experimental procedures. This material is available free of charge via the Internet at <http://pubs.acs.org>.

References

- (1) Leurs, R.; Smit, M. J.; Timmerman, H. Molecular pharmacological aspects of histamine receptors. *Pharmacol. Ther.* **1995**, *66*, 413–463.
- (2) Hill, S. J.; Ganellin, C. R.; Timmerman, H.; Schwartz, J. C.; Shankley, N. P.; Young, J. M.; Schunack, W.; Levi, R.; Haas, H. L. International union of pharmacology. XIII. classification of histamine receptors. *Pharmacol. Rev.* **1997**, *49*, 253–278.
- (3) Lovenberg, T. W.; Roland, B. L.; Wilson, S. J.; Jiang, X.; Pyati, J.; Huvar, A.; Jackson, M. R.; Erlander, M. G. Cloning and functional expression of the human histamine H₃ receptor. *Mol. Pharmacol.* **1999**, *55*, 1101–1107.
- (4) Oda, T.; Morikawa, N.; Saito, Y.; Masuho, Y.; Matsumoto, S. Molecular cloning and characterization of a novel type of histamine receptor preferentially expressed in leukocytes. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 36781–36786.
- (5) Leid, R. W. Chemical mediators of immediate hypersensitivity reactions. *Vet. Clin. North Am. Large Anim. Pract.* **1979**, *1*, 35–42.
- (6) Ciprandi, G.; Buscaglia, S.; Cerqueti, P. M.; Canonica, G. W. Drug treatment of allergic conjunctivitis. A review of the evidence. *Drugs* **1992**, *43*, 154–176.
- (7) Badley, B. W. Some aspects of medical management of gastrointestinal disease. I. *Can. Med. Assoc. J.* **1975**, *112*, 200–204, 206.
- (8) Ares, J. J.; Outt, P. E. Gastroprotective agents for the prevention of NSAID-induced gastropathy. *Curr. Pharm. Des.* **1998**, *4*, 17–36.
- (9) Arrang, J. M.; Garbarg, M.; Schwartz, J. C. Auto-inhibition of brain histamine release mediated by a novel class (H₃) of histamine receptor. *Nature* **1983**, *302*, 832–837.
- (10) Bertaccini, G.; Coruzzi, G.; Adami, M.; Pozzoli, C.; Gambarelli, E. Histamine H₃ receptors: an overview. *Ital. J. Gastroenterol.* **1991**, *23*, 378–385.
- (11) Blandina, P.; Giorgetti, M.; Bartolini, L.; Cecchi, M.; Timmerman, H.; Leurs, R.; Pepeu, G.; Giovannini, M. G. Inhibition of cortical acetylcholine release and cognitive performance by histamine H₃ receptor activation in rats. *Br. J. Pharmacol.* **1996**, *119*, 1656–1664.
- (12) Garcia, M.; Floran, B.; Arias-Montano, J. A.; Young, J. M.; Aceves, J. Histamine H₃ receptor activation selectively inhibits dopamine D₁ receptor-dependent [³H]GABA release from depolarization-stimulated slices of rat substantia nigra pars reticulata. *Neuroscience* **1997**, *80*, 241–249.
- (13) Fink, K.; Schlicker, E.; Neise, A.; Gothert, M. Involvement of presynaptic H₃ receptors in the inhibitory effect of histamine on serotonin release in the rat brain cortex. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* **1990**, *342*, 513–519.
- (14) Celuch, S. M. Possible participation of histamine H₃ receptors in the modulation of noradrenaline release from rat spinal cord slices. *Eur. J. Pharmacol.* **1995**, *287*, 127–133.
- (15) Leurs, R.; Blandina, P.; Tedford, C.; Timmerman, H. Therapeutic potential of histamine H₃ receptor agonists and antagonists. *Trends Pharmacol. Sci.* **1998**, *19*, 177–183.
- (16) Chazot, P. L.; Hann, V. Overview: H₃ histamine receptor isoforms: new therapeutic targets in the CNS? *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2001**, *2*, 1428–1431.
- (17) Morisset, S.; Traiffort, E.; Schwartz, J. C. Inhibition of histamine versus acetylcholine metabolism as a mechanism of tacrine activity. *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, *315*, R1–R2.
- (18) Schwartz, J. C.; Morisset, S.; Rouleau, A.; Tardivel-Lacombe, J.; Gbahou, F.; Ligneau, X.; Heron, A.; Sasse, A.; Stark, H.; Schunack, W.; Ganellin, R. C.; Arrang, J. M. Application of genomics to drug design: the example of the histamine H₃ receptor. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2001**, *11*, 441–448.
- (19) Takahashi, K.; Suwa, H.; Ishikawa, T.; Kotani, H. Targeted disruption of H₃ receptors results in changes in brain histamine tone leading to an obese phenotype. *J. Clin. Invest.* **2002**, *110*, 1791–1799.
- (20) Levi, R.; Smith, N. C. Histamine H₃ receptors: a new frontier in myocardial ischemia. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2000**, *292*, 825–830.
- (21) McLeod, R. L.; Aslanian, R.; del Prado, M.; Duffy, R.; Egan, R. W.; Kreutner, W.; McQuade, R.; Hey, J. A. Sch 50971, an orally active histamine H₃ receptor agonist, inhibits central neurogenic vascular inflammation and produces sedation in the guinea pig. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1998**, *287*, 43–50.
- (22) Bertaccini, G.; Coruzzi, G.; Poli, E. Review article: the histamine H₃ receptor: a novel prejunctional receptor regulating gastrointestinal function. *Aliment Pharmacol. Ther.* **1991**, *5*, 585–591.
- (23) Kitbunnadaj, R.; Zuiderveld, O. P.; Esch, I. J. P. D.; Vollinga, R. C.; Bakker, R.; Lutz, M.; Spek, A. L.; Cavoy, E.; Deltent, M. F.; Menge, W. M. P. B.; Timmerman, H.; Leurs, R. Synthesis and structure–activity relationships of conformationally constrained histamine H₃ receptor agonists. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5445–5457.
- (24) Baxter, E. W.; Boyd, R. E.; Carson, J. R.; Jetter, M. C.; Reitz, A. B. Pyridyl/Quinoliny Imidazoles. U.S. Patent 6,465,486 B1, 2002.
- (25) De Esch, I. J.; Vollinga, R. C.; Goubitz, K.; Schenk, H.; Appelberg, U. Hacksell, U.; Lemstra, S.; Zuiderveld, O. P.; Hoffmann, M.; Leurs, R.; Menge, W. M.; Timmerman, H. Characterization of the binding site of the histamine H₃ receptor. 1. Various approaches to the synthesis of 2-(1H-imidazol-4-yl)cyclopropylamine and histaminergic activity of (1R,2R)- and (1S,2S)-2-(1H-imidazole-4-yl)cyclopropylamine. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 1115–1122.
- (26) Omura, K.; Swern, D. Oxidation of alcohols by “activated” dimethyl sulfoxide. A preparative, steric and mechanistic study. *Tetrahedron* **1978**, *34*, 1651–1660.
- (27) Horne, D. A.; Yakushijin, K.; Buchi, G. A two-step synthesis of imidazoles from aldehydes via 4-tosyloxazolines. *Heterocycles* **1994**, *39*, 139–153.
- (28) Vollinga, R. C.; de Koning, J. P.; Jansen, F. P.; Leurs, R.; Menge, W. M.; Timmerman, H. A new potent and selective histamine H₃ receptor agonist, 4-(1H-imidazol-4-ylmethyl)piperidine. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 332–333.
- (29) Vollinga, R. C.; Menge, W. M.; Leurs, R.; Timmerman, H. Homologs of histamine as histamine H₃ receptor antagonists: a new potent and selective H₃ antagonist, 4(5)-(5-aminopentyl)-1H-imidazole. *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 266–271.
- (30) Trzeciakowski, J. P. Inhibition of guinea pig ileum contractions mediated by a class of histamine receptor resembling the H₃ subtype. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1987**, *243*, 874–880.
- (31) Hew, R. W.; Hodgkinson, C. R.; Hill, S. J. Characterization of histamine H₃ receptors in guinea-pig ileum with H₃ selective ligands. *Br. J. Pharmacol.* **1990**, *101*, 621–624.
- (32) Poli, E.; Coruzzi, G.; Bertaccini, G. Histamine H₃ receptors regulate acetylcholine release from the guinea pig ileum myenteric plexus. *Life Sci.* **1991**, *48*, PL63–PL68.
- (33) Uveges, A. J.; Kowal, D.; Zhang, Y.; Spangler, T. B.; Dunlop, J.; Semus, S.; Jones, P. G. The role of transmembrane helix 5 in agonist binding to the human H₃ receptor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2002**, *301*, 451–458.

JM049932U