

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 043973

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

- | | | |
|---------------------------------------|---------------|------------------------------|
| (45) Дата публикации и выдачи патента | (51) Int. Cl. | <i>C07D 205/02</i> (2006.01) |
| 2023.07.11 | | <i>C07C 13/06</i> (2006.01) |
| (21) Номер заявки | | <i>C07C 25/06</i> (2006.01) |
| 202190485 | | <i>C07C 39/235</i> (2006.01) |
| (22) Дата подачи заявки | | <i>C07C 39/28</i> (2006.01) |
| 2017.06.09 | | |

(54) СОЕДИНЕНИЯ, МОДУЛИРУЮЩИЕ FXR (NR1H4)

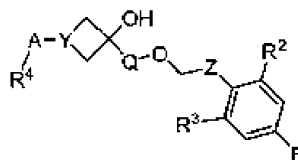
- | | |
|----------------------------|-----------------------|
| (31) 62/349,490 | (56) WO-A1-2012076063 |
| (32) 2016.06.13 | WO-A1-2010052253 |
| (33) US | WO-A2-2007140200 |
| (43) 2021.09.30 | WO-A1-2013001030 |
| (62) 201892482; 2017.06.09 | |

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ДЖИЛИД САЙЭНС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Бломгрэн Питер А., Карри Кевин С.
(US), Геге Кристиан (DE), Кропф
Джеффри И., Сюй Цзяньцзюнь (US)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) Изобретение относится к соединениям (I), которые связываются с рецептором NR1H4 (FXR) и действуют как агонисты FXR. Настоящее изобретение также относится к применению соединений для получения лекарственного средства для лечения заболеваний и/или состояний посредством связывания указанного ядерного рецептора указанными соединениями и к способу получения указанных соединений.



(I)

B1

043973

043973

B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США № 62/349490, поданной 13 июня 2016, содержание которой включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки.

Перечень последовательностей

Перечень последовательностей, связанных с настоящей заявкой, представлен в текстовом формате вместо бумажной копии и, таким образом, включается в настоящее описание посредством ссылки. Название текстового файла, содержащего перечень последовательностей, представляет собой 1165_PF_ST25.txt. Текстовый файл, созданный 16 мая 2017, имеет размер примерно 550 байт и представляется в электронном виде при помощи EFS-Web.

Область техники

Настоящее изобретение относится к соединениям, которые связываются с рецептором NR1H4 (FXR) и действуют как агонисты или модуляторы FXR. Настоящее изобретение также относится к применению соединений для лечения и/или профилактики заболеваний и/или состояний посредством связывания указанного ядерного рецептора указанными соединениями.

Уровень техники

Многочелюстные организмы зависят от сложных механизмов передачи информации между клетками и компартментами организма. Передаваемая информация может быть очень сложной и может приводить к изменению генетических программ, задействованных в клеточной дифференцировке, пролиферации или репродукции. Сигналы, или гормоны, часто представляют собой низкомолекулярные молекулы, такие как пептиды, жирные кислоты или производные холестерина.

Многие из указанных сигналов оказывают свое влияние, по существу изменяя транскрипцию определенных генов. Одной из хорошо изученных групп белков, которые опосредуют клеточный ответ на различные сигналы, является семейство транскрипционных факторов, известных как ядерные рецепторы, далее называемые в настоящем документе "NR". Члены указанной группы включают рецепторы для стероидных гормонов, витамина D, эрдизона, цис- и транс-ретиноевой кислоты, гормона щитовидной железы, желчных кислот, производных холестерина, жирных кислот (и других пероксисомальных пролифераторов), а также так называемые орфанные рецепторы, белки, которые структурно схожи с другими членами указанной группы, но для которых не известны лиганды. Орфанные рецепторы могут указывать на неизвестные сигнальные пути в клетке или могут являться ядерными рецепторами, которые функционируют без активации лигандом. Активация транскрипции некоторыми из указанных орфанных рецепторов может происходить при отсутствии экзогенного лиганда и/или через пути передачи сигнала, начинающиеся от поверхности клетки.

В целом, в NR были определены три функциональных домена. Полагают, что аминоконцевой домен имеет некоторую регуляторную функцию. За ним следует ДНК-связывающий домен (далее называемый в настоящем документе "DBD"), который обычно содержит два элемента с цинковыми пальцами и распознает специфический элемент гормонального ответа (далее называемый в настоящем документе "HRE") в промоторах чувствительных генов. Было показано, что конкретные аминокислотные остатки в "DBD" придают специфичность связывания с последовательностью ДНК. Лиганд-связывающий домен (далее называемый в настоящем документе "LBD") находится в карбоксиконцевом участке известных NR.

При отсутствии гормона LBD, по-видимому, препятствует взаимодействию DBD с его HRE. Связывание гормона вероятно приводит к конформационному изменению в NR и, таким образом, устраняет указанное препятствование. NR без LBD конститутивно активирует транскрипцию, но на низком уровне.

Полагают, что коактиваторы или активаторы транскрипции являются связующим звеном между специфичными к последовательности факторами транскрипции, основным аппаратом транскрипции, а также влияют на структуру хроматина клетки-мишени. Некоторые белки, такие как SRC-1, ACTR и Grip1, взаимодействуют с NR усиливаемым лигандами образом.

Модуляторы ядерных рецепторов, такие как стероидные гормоны, влияют на рост и функционирование конкретных клеток путем связывания с внутриклеточными рецепторами и образования комплексов ядерный рецептор-лиганд. Затем комплексы ядерный рецептор-гормон взаимодействуют с HRE в контрольном участке конкретных генов и изменяют специфическую экспрессию генов.

Фарнезоидный X-рецептор альфа (далее также часто называемый в настоящем документе "NR1H4" в контексте рецептора человека) представляет собой прототипный ядерный рецептор типа 2, который активирует гены при связывании с промоторным участком генов-мишеней гетеродимерным образом с ретиноидным X-рецептором. Соответствующими физиологическими лигандами NR1H4 являются желчные кислоты. Наиболее сильным лигандом является хенодезоксихолевая кислота (ХДХК), которая регулирует экспрессию нескольких генов, участвующих в гомеостазе желчных кислот. Фарнезол и производные, вместе называемые фарнезоидами, первоначально описаны для активации крестного ортолога в высокой концентрации, но они не активируют рецептор человека или мыши. FXR экспрессируется в печени, во всем желудочно-кишечном тракте, включая пищевод, желудок, двенадцатиперстную кишку, тонкую кишку, толстую кишку, в яичниках, надпочечниках и почках. Помимо контролирования внутри-

клеточной экспрессии генов FXR, по-видимому, также участвует в паракринной и эндокринной передаче сигналов посредством повышающей регуляции экспрессии цитокина, фактора роста фибробластов 15 (грызуны) или 19 (обезьяны, люди).

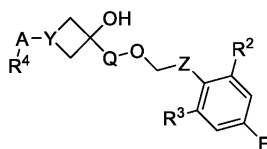
Хотя известно множество агонистов FXR, существует потребность в получении улучшенных агонистов FXR.

Краткое описание изобретения

В настоящем изобретении предложены соединения, связывающиеся с рецептором NR1H4 (FXR) и действующим, как агонисты или модуляторы FXR. Настоящее изобретение

также относится к применению соединений для лечения и/или профилактики заболеваний и/или состояний посредством связывания указанного ядерного рецептора указанными соединениями.

В настоящем изобретении предложены соединения в соответствии с формулой (I)



(I)

где Q представляет собой фенилен или пиридилен, каждый из которых необязательно замещен одним или двумя заместителями, независимо выбранными из галогена, метила, C₁₋₄-алкокси, галоген-C₁₋₄-алкокси, -CH₂F, -CHF₂ и -CF₃,

Y представляет собой N или CH;

A представляет собой пиридилен или фенилен, каждый из которых необязательно замещен одной или двумя группами, независимо выбранными из галогена, C₁₋₄-алкокси, галоген-C₁₋₄-алкокси, C₁₋₄-алкила и галоген-C₁₋₄-алкила;

Z представляет собой изоксазол, замещенный R¹, или пиразол, замещенный R¹;

R¹ представляет собой C₁₋₄-алкил или C₃₋₆-циклоалкил, где

указанный C₁₋₄-алкил необязательно замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из фтора, гидроксила, C₁₋₃-алкокси и фтор-C₁₋₃-алкокси, и

указанный C₃₋₆-циклоалкил необязательно замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из фтора, гидроксила, C₁₋₃-алкила, фтор-C₁₋₃-алкила, C₁₋₃-алкокси и фтор-C₁₋₃-алкокси;

R² и R³ независимо выбраны из водорода, галогена, метокси, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -OCH₂F, -OCHF₂, -OCF₃ и метила;

R⁴ представляет собой -CO₂R⁵ или -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ представляет собой водород, C₁₋₆-алкил или галоген-C₁₋₆-алкил; и

R⁶ представляет собой водород или C₁₋₆-алкил, где указанный C₁₋₆-алкил необязательно замещен 1-6 заместителями, независимо выбранными из галогена, -SO₃H и -CO₂H;

или их фармацевтически приемлемая соль, стереоизомер, смесь стереоизомеров или таутомер.

В некоторых вариантах реализации предложены фармацевтические композиции, содержащие соединение формулы (I) и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

В настоящем документе также предложены способы лечения пациентов с FXR-опосредованным состоянием, включающие введение соединения формулы (I) пациенту, нуждающемуся в этом.

Описание фигур

Фиг. 1 - содержание вещества в плазме в примере 3 и примере сравнения 2 в зависимости от уровня FGF19 в плазме у макак-крабоедов;

фиг. 2 - уровни FGF19, полученные у макак-крабоедов при увеличении пероральных доз примера 3 и примера сравнения 2.

Подробное описание изобретения

Определения.

В следующем описании представлены приведенные в качестве примера варианты реализации настоящей технологии. Тем не менее, следует признать, что указанное описание не предназначено для ограничения объема настоящего изобретения и предназначено для описания приведенных в качестве примера вариантов реализации.

Следующие слова, фразы и символы, применяемые в настоящем описании, обычно имеют значения, изложенные ниже, за исключением случаев, когда контекст, в котором они применяются, указывает на иное.

Изобретение, иллюстративно описанное в настоящем документе, можно подходящим образом применять на практике при отсутствии любого элемента или элементов, ограничения или ограничений, конкретно не раскрытых в настоящем документе. Таким образом, например, термины "содержащий", "включающий" и т.п. следует читать в широком смысле и без ограничений. Кроме того, термины и выражения, применяемые в настоящем документе, применяют в качестве терминов описания, а не ограничения, и

применение таких терминов и выражений не подразумевает исключение любых эквивалентов представленных и описанных отличительных признаков или их фрагментов и подразумевает, что возможны различные модификации в пределах объема заявленного изобретения.

Штрих ("-"), который не находится между двумя буквами или символами, применяют для указания места присоединения заместителя. Например, $-C(O)NH_2$ присоединен через атом углерода. Штрих в начале или конце химической группы, используют для удобства; химические группы могут быть изображены с одним или более штрихами или без них без потери своего обычного значения. Волнистая линия, проведенная через структуру, указывает место присоединения группы. Если химически или структурно не требуется, направленность не указывается и не подразумевается порядком, в котором написана или названа химическая группа.

Приставка " C_{u-v} " указывает, что следующая группа содержит от u до v атомов углерода. Например, " C_{1-6} алкил" указывает, что алкильная группа содержит от 1 до 6 атомов углерода.

В настоящем документе ссылка на "примерное" значение или параметр включает (и описывает) варианты реализации, которые направлены на указанное значение или параметр, как таковые. В некоторых вариантах реализации термин "примерно" включает указанное значение $\pm 10\%$. В других вариантах реализации термин "примерно" включает указанное значение $\pm 5\%$. В некоторых других вариантах реализации термин "примерно" включает указанное значение $\pm 1\%$. Также термин "примерно X" включает описание "X". Кроме того, формы единственного числа включают формы множественного числа, если контекст явно не указывает на иное. Таким образом, например, ссылка на "соединение" включает множество таких соединений, и ссылка на "исследование" включает ссылку на одно или более исследований и их эквивалентов, известных специалистам в данной области техники.

В контексте настоящего изобретения "алкил" обозначает насыщенную углеводородную цепь, которая может являться прямой или разветвленной. В контексте настоящего изобретения " C_{1-6} -алкил" обозначает насыщенную алкильную цепь, содержащую от 1 до 6 атомов углерода, которая может являться прямой или разветвленной. Их примеры включают метил, этил, пропил, изопропил, *n*-бутил, изобутил, трет-бутил, *n*-пентил, изопентил, неопентил и *n*-гексил.

Термин "галогеналкил" означает, что один или более атомов водорода в алкильной цепи заменены на галоген. Неограничивающим примером является CF_3 .

"Циклоалкильная" группа обозначает насыщенную или частично ненасыщенную моно-, би- или спироциклическую углеводородную кольцевую систему.

"Алкоксигруппа" относится к *O*-алкилу, где алкил является таким, как определено в настоящем документе. Примеры алкоксигрупп включают метокси, этокси, *n*-пропокси, изопропокси, *n*-бутокси, трет-бутокси, втор-бутокси, *n*-пентокси, *n*-гексокси и 1,2-диметилбутокси.

"Галоген" или "галоген-" относится к атому F, Cl, Br или I. "Гидроксил" или "гидрокси" относится к $-OH$.

"Галогеналкокси" относится к алкоксигруппе, как определено в настоящем документе, где один или более атомов водорода в алкильной цепи заменены на галоген.

"Фторалкил" относится к алкильной группе, как определено в настоящем документе, где один или более атомов водорода в алкильной цепи заменены на атом фтора.

"Фторалкокси" относится к алкоксигруппе, как определено в настоящем документе, где один или более атомов водорода в алкильной цепи заменены на атом фтора.

Термины "необязательный" или "необязательно" означают, что описанное далее событие или обстоятельство может происходить или не происходить, и что описание включает случаи, когда указанное событие или обстоятельство происходит, и случаи, когда не происходит. Кроме того, термин "необязательно замещенный" относится к любому одному или более атомам водорода при указанном атоме или группе, которые могут быть заменены или могут быть не заменены на фрагмент, отличный от водорода.

Кроме того, соединения согласно настоящему изобретению могут быть подвержены таутомерии. Когда может происходить таутомерия, например, кето-енольная таутомерия, соединений согласно настоящему изобретению или их пролекарств, отдельные формы, такие как, например, кето- и енольная формы, а также их смеси в любых отношениях, включены в объем настоящего изобретения. То же самое относится к стереоизомерам, таким как, например, энантиомеры, цис/транс-изомеры, конформеры и т.п.

Термин "защитная группа" относится к фрагменту соединения, который маскирует или изменяет свойства функциональной группы или свойства соединения в целом. Химические защитные группы и способы введения/снятия защиты хорошо известны в данной области техники. См., например, *Protective Groups in Organic Chemistry*, Theodora W. Greene, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1991. Защитные группы обычно применяют для маскировки реакционной способности определенных функциональных групп для содействия эффективности желаемых химических реакций, например, образования или разрыва химических связей упорядоченным и запланированным образом. Термин "снятие защиты" относится к удалению защитной группы.

"Уходящая группа" включает молекулярный фрагмент, который может отщепляться с парой электронов от ковалентной связи с участвующим в реакции атомом углерода в процессе химической реакции.

Специалисту понятно, что, если список альтернативных заместителей включает членов, которые из-за требований к их валентности или по другим причинам не могут быть использованы для замены конкретной группы, список следует читать с учетом знаний специалиста, включая только тех членов списка, которые подходят для замены конкретной группы.

В некоторых вариантах реализации соединения согласно настоящему изобретению могут находиться в форме "пролекарства". Термин "пролекарство" определяется в области фармацевтики, как биологически неактивное производное лекарственного средства, которое при введении в организм человека превращается в биологически активное исходное лекарственное средство в соответствии с каким-либо химическим или ферментативным путем. Примеры пролекарств включают этерифицированные карбоновые кислоты.

В печени человека УДФ-глюкуронозилтрансферазы действуют на некоторые соединения, содержащие amino-, карбамильные, тио- (сульфгидрильные) или гидроксильные группы, для конъюгирования уридиндифосфат- α -D-глюкуроновой кислоты через гликозидные связи или для этерификации соединений с карбоксильными или гидроксильными группами в процессе фазы II метаболизма. Соединения согласно настоящему изобретению могут быть глюкуронидованы, т.е. конъюгированы с глюкуроновой кислотой, с получением глюкуронидов, в частности, (β -D)-глюкуронидов.

Одной из стадий образования желчи является конъюгирование отдельных желчных кислот с аминокислотой, в частности, глицином или таурином. Соединения согласно настоящему изобретению могут быть конъюгированы с глицином или таурином в замещаемом положении.

Соединения согласно настоящему изобретению могут находиться в форме фармацевтически приемлемой соли. Термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к солям, полученным из фармацевтически приемлемых нетоксичных оснований или кислот, включая неорганические основания или кислоты и органические основания или кислоты. Если соединения согласно настоящему изобретению содержат одну или более кислотных или основных групп, настоящее изобретение также включает их соответствующие фармацевтически или токсикологически приемлемые соли, в частности, их фармацевтически применяемые соли. Таким образом, соединения согласно настоящему изобретению, которые содержат кислотные группы, могут быть представлены с указанными группами и могут быть использованы в соответствии с настоящим изобретением, например, в виде солей щелочных металлов, солей щелочноземельных металлов или солей аммония. Более точные примеры таких солей включают соли натрия, соли калия, соли кальция, соли магния или соли с аммиаком или органическими аминами, такими как, например, этиламин, этаноламин, триэтиламин или аминокислоты. Соединения согласно настоящему изобретению, которые содержат одну или более основных групп, т.е. групп, которые могут быть протонированы, могут быть представлены и могут быть использованы в соответствии с настоящим изобретением в форме их солей присоединения с неорганическими или органическими кислотами. Примеры подходящих кислот включают хлористый водород, бромистый водород, фосфорную кислоту, серную кислоту, азотную кислоту, метансульфовую кислоту, *p*-толуолсульфовую кислоту, нафталиндисульфоновые кислоты, шавелевую кислоту, уксусную кислоту, винную кислоту, молочную кислоту, салициловую кислоту, бензойную кислоту, муравьиную кислоту, пропионовую кислоту, пивалевую кислоту, диэтилуксусную кислоту, малоновую кислоту, янтарную кислоту, пимелиновую кислоту, фумаровую кислоту, малеиновую кислоту, яблочную кислоту, сульфаминовую кислоту, фенилпропионовую кислоту, глюконовую кислоту, аскорбиновую кислоту, изоникотиновую кислоту, лимонную кислоту, адипиновую кислоту и другие кислоты, известные специалисту в данной области техники. Если соединения согласно настоящему изобретению одновременно содержат в молекуле кислотные и основные группы, настоящее изобретение, в дополнение к упомянутым солевым формам, также включает внутренние соли или бетаины (цвиттер-ионы). Соответствующие соли могут быть получены обычными способами, которые известны специалисту в данной области техники, такими как, например, путем приведения их в контакт с органической или неорганической кислотой или основанием в растворителе или диспергаторе или путем анионного обмена или катионного обмена с другими солями. Настоящее изобретение также включает все соли соединений согласно настоящему изобретению, которые из-за низкой физиологической совместимости не являются непосредственно подходящими для применения в фармацевтических препаратах, но которые могут быть использованы, например, в качестве промежуточных соединений для химических реакций или для получения фармацевтически приемлемых солей.

Кроме того, соединения согласно настоящему изобретению могут быть представлены в форме сольватов, таких как сольваты, которые содержат в качестве растворителя воду, или фармацевтически приемлемых сольватов, таких как сольваты, которые содержат в качестве растворителя спирты, в частности, этанол. "Сольват" образуется при взаимодействии растворителя и соединения.

В некоторых вариантах реализации предложены оптические изомеры, рацематы или другие смеси соединений, описанных в настоящем документе, или их фармацевтически приемлемых солей или смесей. При желании, изомеры можно разделять при помощи способов, известных в данной области техники, например, путем жидкостной хроматографии. В указанных ситуациях отдельный энантиомер или диастереомер, т.е. оптически активную форму, можно получать путем асимметричного синтеза или путем

разделения. Разделение можно проводить, например, обычными способами, такими как кристаллизация в присутствии разделяющего агента или хроматография, например, с применением колонки для хиральной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

"Стереизомер" относится к соединениям, состоящим из одинаковых атомов, связанных одинаковыми связями, но имеющих разные трехмерные структуры, которые не являются взаимозаменяемыми. Настоящее изобретение предусматривает различные стереоизомеры и их смеси и включает "энантиомеры", которые относятся к двум различным стереоизомерам, молекулы которых представляют собой несовместимые зеркальные отражения друг друга. "Диастереомеры" представляют собой стереоизомеры, которые содержат по меньшей мере два асимметричных атома, но при этом не являются зеркальными отражениями друг друга.

Соединения, описанные в настоящем документе, и их фармацевтически приемлемые соли могут содержать центр асимметрии и, следовательно, могут иметь энантиомерные, диастереомерные и другие стереоизомерные формы, которые могут быть определены в терминах абсолютной стереохимии, как (R)- или (S)- или как (D)- или (L)- для аминокислот. Полагают, что настоящее изобретение включает все такие возможные изомеры, а также их рацемические и оптически чистые формы. Оптически активные (+) и (-), (R)- и (S)- или (D)- и (L)-изомеры можно получать с применением хиральных синтонов или хиральных реагентов или можно разделять с применением обычных способов, например хроматографии и фракционной кристаллизации. Обычные способы получения/выделения отдельных энантиомеров включают хиральный синтез из подходящего оптически чистого предшественника или разделение рацемата (или рацемата соли или производного) с применением, например, хиральной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Если соединения, описанные в настоящем документе, содержат двойные олефиновые связи или другие центры геометрической асимметрии, и, если не указано иное, подразумевают, что соединения включают как E, так и Z геометрические изомеры.

Композиции, предложенные в настоящем документе, которые содержат соединение, описанное в настоящем документе, или фармацевтически приемлемые соли, изомер или их смесь, могут включать рацемические смеси или смеси, содержащие энантиомерный избыток одного энантиомера, или отдельные диастереомеры, или диастереомерные смеси. Все такие изомерные формы указанных соединений явным образом включены в настоящий документ так же, как если бы каждая из изомерных форм была перечислена конкретно и отдельно.

Любая форма или структура, приведенная в настоящем документе, также предназначена для представления немеченных форм, а также изотопно-меченных форм соединений. Изотопно-меченные соединения имеют структуры, изображенные формулами, приведенными в настоящем документе, за исключением того, что один или более атомов заменены на атом, имеющий выбранную атомную массу или массовое число. Примеры изотопов, которые могут быть включены в соединения согласно настоящему изобретению, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, фтора и хлора, такие как, но не ограничиваясь ими, ^2H (дейтерий, D), ^3H (третий), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl и ^{125}I . Различные изотопно-меченные соединения согласно настоящему изобретению, например, соединения, в которые включены радиоактивные изотопы, такие как ^3H , ^{13}C и ^{14}C . Такие изотопно-меченные соединения могут подходить для применения для метаболических исследований, исследований кинетики реакций, способов детектирования и визуализации, таких как позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) или однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ), включая исследования распределения лекарственного средства или субстрата в ткани, или для радиоактивного лечения пациентов. Изотопно-меченные соединения согласно настоящему изобретению и их пролекарства обычно можно получать путем проведения процедур, описанных в схемах или в примерах и способах получения, описанных ниже, путем замены неизотопно-меченного реагента на легко доступный изотопно-меченный реагент.

Настоящее изобретение также включает "дейтерированные аналоги" соединений формулы (I), в которых от 1 до n атомов водорода, присоединенных к атому углерода, заменены на атомы дейтерия, где n представляет собой количество атомов водорода в молекуле. Такие соединения могут проявлять повышенную устойчивость к метаболизму и, следовательно, могут подходить для увеличения периода полувыведения любого соединения формулы I при введении млекопитающему, например человеку. См., например, Foster, "Deuterium Isotope Effects in Studies of Drug Metabolism," *Trends Pharmacol. Sci.* 5(12):524-527 (1984). Такие соединения синтезируют при помощи способов, хорошо известных в данной области техники, например, путем применения исходных материалов, в которых один или более атомов водорода заменены на дейтерий.

Меченные или замеченные дейтерием терапевтические соединения согласно настоящему изобретению могут иметь улучшенные свойства DMPK (метаболизм и фармакокинетика лекарственного средства), связанные с распределением, метаболизмом и выделением (ADME). Замена более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий, может обеспечивать определенные терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, например, увеличение периода полувыведения *in vivo*, снижение требований к дозировке и/или улучшение терапевтического индекса. Соединение, меченное ^{18}F , может подходить для применения для ПЭТ или ОФЭКТ исследований.

Концентрацию такого более тяжелого изотопа, в частности дейтерия, можно определять при помо-

щи коэффициента изотопного обогащения. В соединениях согласно настоящему изобретению любой атом, специально не обозначенный, как конкретный изотоп, может представлять собой любой стабильный изотоп указанного атома. Если не указано иное, когда положение конкретно обозначено, как "H" или "водород", подразумевают, что положение содержит водород в его природном изотопном составе. Соответственно, в соединениях согласно настоящему изобретению любой атом, конкретно обозначенный, как дейтерий (D), представляет собой дейтерий.

Кроме того, в настоящем изобретении предложены фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение согласно настоящему изобретению, или его пролекарство, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват в качестве активного ингредиента вместе с фармацевтически приемлемым веществом-носителем.

"Фармацевтическая композиция" обозначает один или более активных ингредиентов и один или более инертных ингредиентов, которые составляют вещество-носитель, а также любой продукт, который прямо или косвенно образуется в результате комбинирования, комплексообразования или агрегации любых двух или более ингредиентов, или в результате диссоциации одного или более ингредиентов, или в результате других типов реакций или взаимодействий одного или более ингредиентов. Соответственно, фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению охватывают любую композицию, полученную путем смешивания по меньшей мере одного соединения согласно настоящему изобретению и фармацевтически приемлемого вещества-носителя.

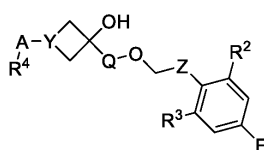
Список аббревиатур и акронимов

Аббревиатура	Значение
(±)-BINAP	(±)-2,2'-Бис(дифенилфосфино)-1,1'-бинафталин
2-Ме-ТГФ	2-Метилтетрагидрофуран
АЦН или MeCN	Ацетонитрил
вод.	Водный
Bn	Бензил
ВОС или Vos	трет-Бутилоксикарбонил
БСА	Бычий сывороточный альбумин
ССР	Сбалансированный солевой раствор
calcd	Вычислено
ДАСТ	(Диэтиламино)серы трифторид
ДХМ	Дихлорметан
DIBAL-H	Диизобутилалюминийгидрид
ДМФ	Диметилформамид
ДМСО	Диметилсульфоксид
ЭА	Этилацетат
ЭДТА	Этилендиаминтетрауксусная кислота
ИЭР	Ионизация электрораспылением
Et	Этил
Et ₂ O	Диэтиловый эфир
EtOAc	Этилацетат
ФБС	Фетальная бычья сыворотка
ч	Час(ы)
НАТУ	1-[Бис(диметиламино)метиле]-1 <i>H</i> -1,2,3-триазоло[4,5- <i>b</i>]пиридиний-3-оксида гексафторфосфат
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
ИПС	Изопропиловый спирт
ИПТГ	Изопропил-β-D-1-тиогактопиранозид

ЖХМС или ЖХ/МС	Жидкостная хроматография/масс-спектрометрия
Me	Метил
МЕМ	Минимальная питательная среда
MeOH	Метанол
мин	Минута(ы)
МС	Масс-спектрометрия
m/z	Отношение массы к заряду
НАДФ	Дигидроникотинамидадениндинуклеотидфосфат
NMP	N-метилпирролидон
ЯМР	Спектроскопия ядерного магнитного резонанса
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Бутиллитий
об/мин	Обороты в минуту
ПЭ	Петролейный эфир
КТ	Комнатная температура
нас.	Насыщенный
ТБАФ	Тетрабутиламмония фторид
TBDMS	<i>трет</i> -Бутилдиметилсилил
TBS	<i>трет</i> -Бутилдиметилсилил
ТЕМПО	2,2,6,6-Тетраметилпиперидин-1-оксил
ТФК	Трифторуксусная кислота
ТГФ	Тetraгидрофуран
TMS	Триметилсилил
СВЭЖХ	Сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография

Соединения.

В настоящем изобретении предложены соединения в соответствии с формулой (I)



(I)

где Q представляет собой фенилен или пиридилен, каждый из которых необязательно замещен одним или двумя заместителями, независимо выбранными из галогена, метила, C₁₋₄-алкокси, галоген-C₁₋₄-алкокси, -CH₂F, -CHF₂ и -CF₃,

Y представляет собой N или CH;

A представляет собой пиридилен или фенилен, каждый из которых необязательно замещен одной или двумя группами, независимо выбранными из галогена, C₁₋₄-алкокси, галоген-C₁₋₄-алкокси, C₁₋₄-алкила и галоген-C₁₋₄-алкила;

Z представляет собой изоксазол, замещенный R¹, или пиразол, замещенный R¹;

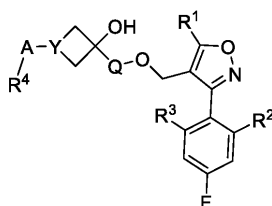
R¹ представляет собой C₁₋₄-алкил или C₃₋₆-циклоалкил, где указанный C₁₋₄-алкил необязательно замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из фтора, гидроксила, C₁₋₃-алкокси и фтор-C₁₋₃-алкокси, и

указанный C₃₋₆-циклоалкил необязательно замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из фтора, гидроксила, C₁₋₃-алкила, фтор-C₁₋₃-алкила, C₁₋₃-алкокси и фтор-C₁₋₃-алкокси;

R² и R³ независимо выбраны из водорода, галогена, метокси, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -OCH₂F, -OCHF₂, -OCF₃ и метила;

R⁴ представляет собой -CO₂R⁵ или -C(O)NR⁵R⁶;

R^5 представляет собой водород, C_{1-6} -алкил или галоген- C_{1-6} -алкил; и
 R^6 представляет собой водород или C_{1-6} -алкил, где указанный C_{1-6} -алкил необязательно замещен 1-6 заместителями, независимо выбранными из галогена, $-SO_3H$ и $-CO_2H$;
или их фармацевтически приемлемая соль, стереоизомер, смесь стереоизомеров или таутомер.
В одном из вариантов реализации предложены соединения формулы (Ia)



(Ia)

где Q представляет собой фенилен или пиридилен, каждый из которых необязательно замещен одним или двумя заместителями, независимо выбранными из галогена, метила, C_{1-4} -алкокси, галоген- C_{1-4} -алкокси, $-CH_2F$, $-CHF_2$ и $-CF_3$,

Y представляет собой N или CH;

A представляет собой пиридилен или фенилен, каждый из которых необязательно замещен одной или двумя группами, независимо выбранными из галогена, C_{1-4} -алкокси, галоген- C_{1-4} -алкокси, C_{1-4} -алкила и галоген- C_{1-4} -алкила;

R^1 представляет собой C_{1-4} -алкил или C_{3-6} -циклоалкил, где

указанный C_{1-4} -алкил необязательно замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из фтора, гидроксила, C_{1-3} -алкокси и фтор- C_{1-3} -алкокси, и

указанный C_{3-6} -циклоалкил необязательно замещен 1-3 заместителями, независимо выбранными из фтора, гидроксила, C_{1-3} -алкила, фтор- C_{1-3} -алкила, C_{1-3} -алкокси и фтор- C_{1-3} -алкокси;

R^2 и R^3 независимо выбраны из водорода, галогена, метокси, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, $-OCH_2F$, $-OCHF_2$, $-OCF_3$ и метила;

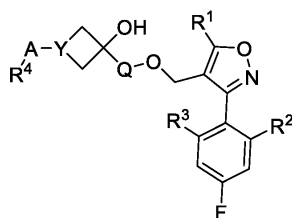
R^4 представляет собой $-CO_2R^5$ или $-C(O)NR^5R^6$;

R^5 представляет собой водород, C_{1-6} -алкил или галоген- C_{1-6} -алкил;

R^6 представляет собой водород или C_{1-6} -алкил, где указанный C_{1-6} -алкил необязательно замещен 1-6 заместителями, независимо выбранными из галогена, $-SO_3H$ и $-CO_2H$;

или их фармацевтически приемлемая соль, стереоизомер, смесь стереоизомеров или таутомер.

В одном из вариантов реализации предложены соединения формулы (Ia)



(Ia)

где Q представляет собой фенилен, необязательно замещенный одним или двумя галогенами;

Y представляет собой N или CH;

A представляет собой пиридилен, необязательно замещенный одной или двумя группами, независимо выбранными из галогена и C_{1-4} -алкокси;

R^1 представляет собой C_{1-4} -алкил или C_{3-6} -циклоалкил;

R^2 и R^3 независимо выбраны из водорода и галогена;

R^4 представляет собой $-CO_2R^5$ или $-C(O)NR^5R^6$;

R^5 представляет собой водород; и

R^6 представляет собой C_{1-2} -алкил, необязательно замещенный $-CO_2H$ или $-SO_3H$;

или их фармацевтически приемлемая соль, стереоизомер, смесь стереоизомеров или таутомер.

В одном из вариантов реализации Q представляет собой фенилен или пиридилен, каждый из которых необязательно замещен одним или двумя заместителями, независимо выбранными из галогена, метила, $-CHF_2$ и $-CF_3$. В некоторых вариантах реализации Q представляет собой фенилен, необязательно замещенный одним или двумя заместителями, независимо выбранными из галогена, метила и $-CF_3$. В некоторых вариантах реализации Q представляет собой пиридилен, необязательно замещенный одним или двумя заместителями, независимо выбранными из галогена, метила и $-CF_3$.

В одном из вариантов реализации Q представляет собой фенилен, необязательно замещенный од-

ним или двумя галогенами. В некоторых вариантах реализации Q представляет собой пиридилен, необязательно замещенный одним или двумя галогенами. В некоторых вариантах реализации Q представляет собой фенилен, необязательно замещенный одним или двумя атомами хлора. В некоторых вариантах реализации Q представляет собой пиридилен, необязательно замещенный одним или двумя атомами хлора.

В одном из вариантов реализации Q представляет собой фенилен, замещенный одним атомом хлора. В некоторых вариантах реализации Q представляет собой пиридилен, замещенный одним атомом хлора.

В одном из вариантов реализации R¹ представляет собой C₁₋₄-алкил. В некоторых вариантах реализации R¹ представляет собой C₃₋₆-циклоалкил. В некоторых вариантах реализации R¹ представляет собой циклопропил или метил. В некоторых вариантах реализации R¹ представляет собой циклопропил.

В одном из вариантов реализации оба из R² и R³ не являются атомами водорода. В некоторых вариантах реализации R² и R³ независимо выбраны из водорода, галогена, метокси, -OCHF₂, -OCF₃ и метила. В некоторых вариантах реализации R² и R³ независимо выбраны из галогена, метокси, -OCHF₂, -OCF₃ и метила.

В одном из вариантов реализации R² и R³ представляют собой галоген. В некоторых вариантах реализации R² и R³ представляют собой хлор.

В одном из вариантов реализации один из R² и R³ представляет собой галоген, а другой представляет собой водород. В одном из вариантов реализации один из R² и R³ представляет собой хлор, а другой представляет собой водород. В некоторых вариантах реализации один из R² и R³ представляет собой фтор, а другой представляет собой водород.

В одном из вариантов реализации Y представляет собой N. В некоторых вариантах реализации Y представляет собой CH.

В одном из вариантов реализации A представляет собой пиридилен, необязательно замещенный одним или двумя галогенами. В некоторых вариантах реализации A представляет собой пиридилен, необязательно замещенный одним или двумя C₁₋₄-алкокси.

В одном из вариантов реализации A представляет собой пиридилен, замещенный одним атомом фтора. В некоторых вариантах реализации A представляет собой пиридилен, замещенный одним метокси. В одном из вариантов реализации A представляет собой незамещенный пиридилен.

В одном из вариантов реализации A представляет собой фенилен, необязательно замещенный одним или двумя галогенами. В одном из вариантов реализации A представляет собой фенилен, необязательно замещенный одним или двумя C₁₋₄-алкокси.

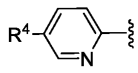
В одном из вариантов реализации A представляет собой фенилен, замещенный одним атомом фтора. В одном из вариантов реализации A представляет собой фенилен, замещенный одним метокси. В одном из вариантов реализации A представляет собой незамещенный фенилен.

В одном из вариантов реализации R⁴ представляет собой -CO₂R⁵, и R⁵ представляет собой водород. В одном из вариантов реализации R⁴ представляет собой -CO₂R⁵, и R⁵ представляет собой C₁₋₆-алкил или галоген-C₁₋₆-алкил.

В одном из вариантов реализации R⁴ представляет собой -C(O)NR⁵R⁶, R⁵ представляет собой C₁₋₆-алкил или галоген-C₁₋₆-алкил, и R⁶ представляет собой C₁₋₂-алкил, где указанный C₁₋₂-алкил замещен -SO₃H или -CO₂H.

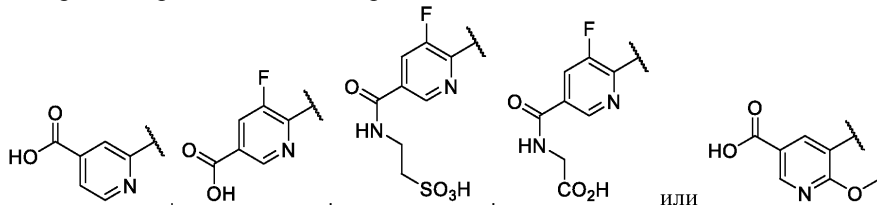
В одном из вариантов реализации R⁴ представляет собой -C(O)NR⁵R⁶, R⁵ представляет собой водород, и R⁶ представляет собой C₁₋₂-алкил, где указанный C₁₋₂-алкил замещен -SO₃H или -CO₂H.

В одном из вариантов реализации R⁴-A представляет собой

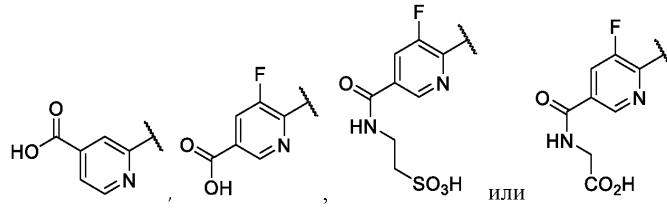


где пиридилен необязательно замещен одной или двумя группами, независимо выбранными из галогена, C₁₋₄-алкокси, галоген-C₁₋₄-алкокси, C₁₋₄-алкила и галоген-C₁₋₄-алкила.

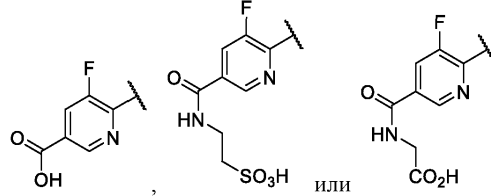
В одном из вариантов реализации R⁴-A представляет собой



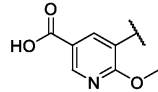
В одном из вариантов реализации R⁴-A представляет собой



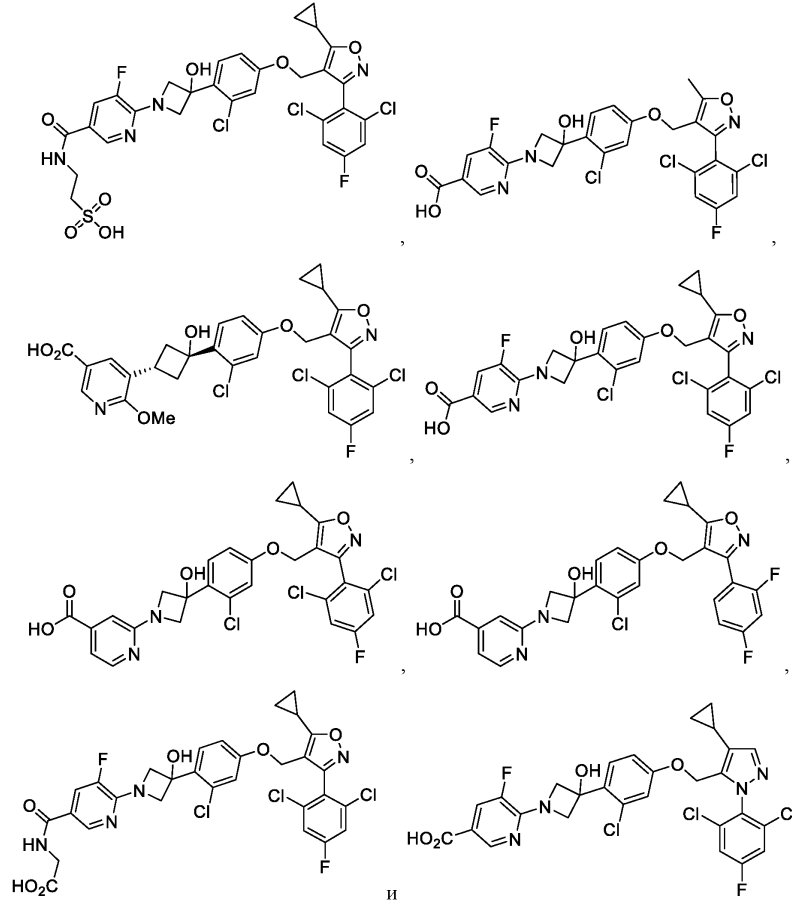
В одном из вариантов реализации R^4 -А представляет собой



В одном из вариантов реализации R^4 -А представляет собой

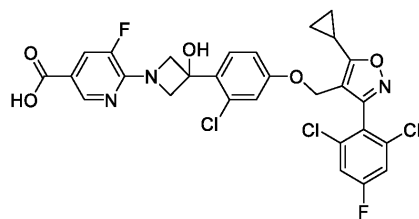


В одном из вариантов реализации предложено соединение, выбранное из группы, состоящей из



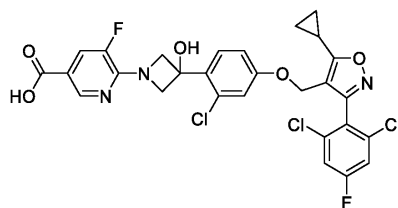
или его фармацевтически приемлемая соль, стереоизомер, смесь стереоизомеров или таутомер.

В одном из вариантов реализации настоящего изобретения предложено соединение, имеющее следующую формулу:



или его фармацевтически приемлемая соль.

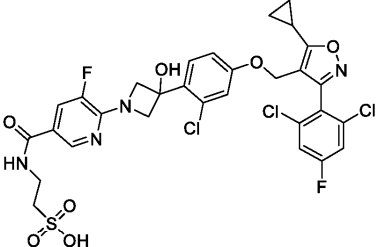
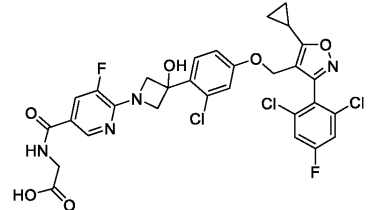
В одном из вариантов реализации настоящего изобретения предложено соединение, имеющее следующую формулу:



Химические названия каждого из указанных соединений представлены ниже в табл. 1.

Таблица 1

Пример	Структура	Наименование по ИЮПАК
1		2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,4-дифторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотиновая кислота
2		2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотиновая кислота
3		6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота
4		6-(3-(2-хлор-4-((3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-5-метил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота
5		6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-1H-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота
6		5-((1S,3S)-3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксициклобутил)-6-метоксиникотиновая кислота

7		2-(6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинамидо)этан-1-сульфоная кислота
8		(6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиноил)глицин

Фармацевтические композиции и способы введения.

В настоящем изобретении также предложены фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение согласно настоящему изобретению или его пролекарство, фармацевтически приемлемую соль или сольват в качестве активного ингредиента вместе с фармацевтически приемлемым веществом-носителем.

Фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать одно или более других соединений в качестве активных ингредиентов, таких как пролекарство или другие модуляторы ядерных рецепторов.

Композиции подходят для перорального, ректального, местного, парентерального (включая подкожное, внутримышечное и внутривенное), глазного (офтальмологического), легочного (носовая или ротовая ингаляция) или назального введения, хотя наиболее подходящий способ в любом конкретном случае зависит от природы и тяжести состояний, подлежащих лечению, и от природы активного ингредиента. Они могут быть удобно представлены в стандартной лекарственной форме и получены при помощи любого из способов, хорошо известных в области фармацевтики.

При практическом применении соединения согласно настоящему изобретению можно комбинировать в качестве активного ингредиента в однородной смеси с фармацевтическим веществом-носителем в соответствии со стандартными способами получения фармацевтических препаратов. Вещество-носитель может принимать разные формы в зависимости от формы препарата, желаемой для введения, например, перорального или парентерального (включая внутривенное). При получении композиций для пероральной лекарственной формы можно использовать любые обычные фармацевтические среды, такие как, например, вода, гликоли, масла, спирты, ароматизаторы, консерванты, окрашивающие агенты и т.п., в случае жидких препаратов для перорального применения, таких как, например, суспензии, эликсиры и растворы; или вещества-носители, такие как крахмалы, сахара, микрокристаллическая целлюлоза, разбавители, гранулирующие агенты, смазывающие вещества, связующие вещества, разрыхлители и т.п., в случае твердых препаратов для перорального применения, таких как, например, порошки, твердые и мягкие капсулы и таблетки, причем твердые препараты для перорального применения являются более предпочтительными по сравнению с жидкими препаратами.

Из-за легкости их введения таблетки и капсулы представляют собой наиболее выгодную стандартную лекарственную форму для перорального применения, при этом в указанном случае применяют твердые фармацевтические вещества-носители. При желании, таблетки можно покрывать при помощи стандартных водных или неводных способов. Такие композиции и препараты должны содержать по меньшей мере 0,1 процента активного соединения. Конечно, процентное содержание активного соединения в указанных композициях может варьироваться и может удобным образом составлять от примерно 2 процентов до примерно 60 процентов от массы лекарственной формы. Количество активного соединения в таких терапевтически применимых композициях является таким, что оно обеспечивает получение эффективной дозировки. Активные соединения также можно вводить интраназально, например в виде капель жидкости или спрея.

Таблетки, пилюли, капсулы и т.п. также могут содержать связующее вещество, такое как трагакантовая камедь, аравийская камедь, кукурузный крахмал или желатин; вспомогательные вещества, такие как дикальцийфосфат; разрыхлитель, такой как кукурузный крахмал, картофельный крахмал, альгиновая кислота; смазывающее вещество, такое как стеарат магния; и подсластитель, такой как сахароза, лактоза или сахарин. Если стандартная лекарственная форма представляет собой капсулу, в дополнение к указанным выше типам она может содержать жидкое вещество-носитель, такое как жирное масло.

Различные другие материалы могут присутствовать в виде покрытий или для модификации физической формы стандартной лекарственной формы. Например, таблетки можно покрывать шеллаком, сахаром или ими обоими. Сироп или эликсир в дополнение к активному ингредиенту может содержать саха-

розу в качестве подсластителя, метил- и пропилпарабены в качестве консервантов, краситель и ароматизатор, такой как вишневый или апельсиновый ароматизатор.

Поскольку соединения согласно настоящему изобретению в основном представляют собой карбоновые кислоты или подобные им анионные изостеры, и поскольку солевые формы ионных соединений могут существенно влиять на биодоступность, соединения согласно настоящему изобретению также можно применять в виде солей с различными противокатионами для получения перорально доступного состава. Такие фармацевтически приемлемые катионы могут представлять собой, помимо прочих, моно- или бивалентные ионы, такие как катионы аммония, щелочных металлов, натрия или калия, или щелочноземельных металлов, магния или кальция, некоторых фармацевтически приемлемых аминов, таких как трис(гидроксиметил)аминометан, этилендиамин, диэтиламин, пиперазин и другие, или некоторых катионогенных аминокислот, таких как лизин или аргинин.

Соединения согласно настоящему изобретению также можно вводить парентерально. Растворы или суспензии указанных активных соединений можно получать в воде, подходящим образом смешанной с поверхностно-активным веществом, таким как гидроксипропилцеллюлоза. Дисперсии также можно готовить в глицерине, жидких полиэтиленгликолях и их смесях в маслах. В обычных условиях хранения и применения указанные препараты содержат консервант для предотвращения роста микроорганизмов.

Фармацевтические формы, подходящие для инъекционного применения, включают стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий для немедленного приема. Во всех случаях форма должна быть стерильной и должна быть достаточно жидкой, чтобы ее можно было легко вводить шприцем. Она должна являться стабильной в условиях производства и хранения и должна быть защищена от загрязнения микроорганизмами, такими как бактерии и грибки. Вещество-носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, этанол, многоатомный спирт (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль), их подходящие смеси и растительные масла.

Любой подходящий способ введения можно применять для обеспечения млекопитающего, в частности человека, эффективной дозой соединения согласно настоящему изобретению. Например, можно использовать пероральный, ректальный, местный, парентеральный, глазной, легочный, назальный и т.п. способы. Лекарственные формы включают таблетки, пастилки, дисперсии, суспензии, растворы, капсулы, кремы, мази, аэрозоли и т.п. В некоторых вариантах реализации соединения согласно настоящему изобретению вводят перорально.

Наборы.

В настоящем изобретении также предложены наборы, которые включают соединение согласно настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемую соль, таутомер, стереоизомер, смесь стереоизомеров, пролекарство или дейтерированный аналог и подходящую упаковку. В одном из вариантов реализации набор дополнительно включает инструкции по применению. В одном из аспектов набор включает соединение согласно настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемую соль, таутомер, стереоизомер, смесь стереоизомеров, пролекарство или дейтерированный аналог, и этикетку, и/или инструкции по применению соединений для лечения показаний, включая заболевания или состояния, описанные в настоящем документе.

В изобретении предложены изделия, которые содержат соединение, описанное в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль, таутомер, стереоизомер, смесь стереоизомеров, пролекарство или дейтерированный аналог в подходящей емкости. Емкость может представлять собой флакон, баночку, ампулу, предварительно заполненный шприц и пакет для внутривенного вливания.

Способы лечения и применения.

"Лечение" или "излечение" представляет собой подход для получения полезных или желаемых результатов, включая клинические результаты. Полезные или желаемые клинические результаты могут включать одно или более из следующих: а) ингибирование заболевания или состояния (например, ослабление одного или более симптомов, возникающих в результате заболевания или состояния, и/или снижение степени развития заболевания или состояния); б) замедление или прекращение развития одного или более клинических симптомов, связанных с заболеванием или состоянием (например, стабилизацию заболевания или состояния, предотвращение или задержку ухудшения или прогрессирования заболевания или состояния и/или предотвращение или задержку распространения (например, метастазирования) заболевания или состояния); и/или с) облегчение состояния, т.е. вызывание регрессии клинических симптомов (например, улучшение состояния заболевания, обеспечение частичной или полной ремиссии заболевания или состояния, усиление эффекта другого лекарственного средства, задержку прогрессирования заболевания, повышение качества жизни и/или продление выживания).

"Профилактика" или "предотвращение" обозначает любое лечение заболевания или состояния, которое приводит к тому, что клинические симптомы заболевания или состояния не развиваются. В некоторых вариантах реализации соединения можно вводить субъекту (включая человека), который находится в группе риска или имеет семейную историю заболевания или состояния.

"Субъект" относится к животному, такому как млекопитающее (включая человека), которое было или будет объектом лечения, наблюдения или эксперимента. Способы, описанные в настоящем докумен-

те, могут подходить для применения для терапии человека и/или в ветеринарных применениях. В некоторых вариантах реализации субъект представляет собой млекопитающее. В одном из вариантов реализации субъект представляет собой человека.

Термин "терапевтически эффективное количество" или "эффективное количество" соединения, описанного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли, таутомера, стереоизомера, смеси стереоизомеров, пролекарства или дейтерированного аналога обозначает количество, достаточное для обеспечения лечения при введении субъекту с обеспечением терапевтического эффекта, такого как улучшение симптомов или замедление прогрессирования заболевания. Например, терапевтически эффективное количество может представлять собой количество, достаточное для ослабления симптома заболевания или состояния, чувствительного к ингибированию активности Cot. Терапевтически эффективное количество может варьироваться в зависимости от субъекта и заболевания или состояния, подлежащих лечению, массы тела и возраста субъекта, тяжести заболевания или состояния и способа введения, которые легко могут быть определены специалистом в данной области техники.

Настоящее изобретение также относится к применению указанных соединений для лечения и/или профилактики заболеваний и/или состояний путем связывания указанного ядерного рецептора указанными соединениями. Кроме того, настоящее изобретение относится к применению указанных соединений для получения лекарственного средства для лечения и/или профилактики заболеваний и/или состояний путем связывания указанного ядерного рецептора указанными соединениями.

Также в настоящем документе предложены способы лечения пациента с FXR-опосредованным состоянием, включающие введение соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах реализации соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, или фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, предложены для применения для лечения FXR-опосредованного состояния.

В некоторых вариантах реализации соединения формулы (I), или его фармацевтически приемлемая соль, или фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль, предложены для получения лекарственного средства для лечения FXR-опосредованного состояния.

В некоторых вариантах реализации FXR-опосредованное состояние представляет собой хроническое внутрипеченочное или некоторые формы внепеченочного холестатического состояния;

фиброз печени;
 обструктивное воспалительное расстройство печени;
 хроническое воспалительное расстройство печени;
 цирроз печени;
 стеатоз печени или связанный с ним синдром;
 холестатические или фиброзные эффекты, которые связаны с циррозом, вызванным алкоголем, или с вирусными формами гепатита;

печеночную недостаточность или ишемию печени после обширной резекции печени;
 стеатогепатит, ассоциированный с химиотерапией (CASH);
 острую печеночную недостаточность; или
 воспалительное заболевание кишечника.

В некоторых вариантах реализации FXR-опосредованное состояние представляет собой расстройство липидного и липопротеинового обмена;
 диабет I типа;
 диабет II типа;

клинические осложнения диабетов I типа и II типа, выбранные из группы, состоящей из диабетической нефропатии, диабетической невропатии, диабетической ретинопатии и других наблюдаемых эффектов клинически проявляемого долговременного диабета;

неалкогольную жировую болезнь печени (НЖБП);
 неалкогольный стеатогепатит (НАСГ);
 ожирение;

метаболический синдром, выбранный из группы, состоящей из комбинированных состояний дислипидемии, диабета и аномально высокого индекса массы тела;
 острый инфаркт миокарда;
 острый инсульт; или

тромбоз, который возникает, как конечная стадия хронического обструктивного атеросклероза.

В некоторых вариантах реализации FXR-опосредованное состояние представляет собой злокачественное гиперпролиферативное расстройство; и
 злокачественное гиперпролиферативное расстройство, выбранное из группы, состоящей из гепатоцеллюлярной карциномы, аденомы толстой кишки и полипоза;

аденокарциному толстой кишки;
рак молочной железы;
аденокарциному поджелудочной железы;
пищевод Барретта; или
другие формы опухолевых заболеваний желудочно-кишечного тракта и печени.

В некоторых вариантах реализации FXR-опосредованное состояние представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).

В некоторых вариантах реализации настоящее изобретение относится к применению соединений в соответствии с формулой (I) для получения лекарственного средства для профилактики и/или лечения хронического внутрипеченочного или некоторых форм внепеченочных холестатических состояний, фиброза печени, острых внутрипеченочных холестатических состояний, обструктивных или хронических воспалительных расстройств, которые возникают из-за неправильного состава желчи, желудочно-кишечных состояний с пониженным усвоением жира, поступающего с пищей, и жирорастворимых витаминов, поступающих с пищей, воспалительных заболеваний кишечника, расстройств липидного и липопротеинового обмена, диабета II типа и клинических осложнений диабета I типа и II типа, состояний и заболеваний, которые возникают в результате хронической жировой и фиброзной дегенерации органов вследствие вынужденного накопления липидов и, в частности, триглицеридов и последующей активации профибротических путей, ожирения и метаболического синдрома (комбинированных состояний дислипидемии, диабета и аномально высокого индекса массы тела), острого инфаркта миокарда, острого инсульта, тромбоз, который возникает, как конечная стадия хронического обструктивного атеросклероза, персистентных инфекций внутриклеточными бактериями или паразитическими простейшими, незлокачественных гиперпролиферативных расстройств, злокачественных гиперпролиферативных расстройств, в частности, аденокарциномы толстой кишки и гепатоцеллюлярной карциномы, стеатоза печени или связанных с ним синдромов, печеночной недостаточности или нарушения функций печени в результате хронических заболеваний печени или хирургической резекции печени, инфекции гепатита В, инфекции гепатита С и/или холестатических или фиброзных эффектов, которые связаны с циррозом, вызванным алкоголем, или с вирусными формами гепатита.

Лекарственные средства, указанные в настоящем документе, можно получать обычными способами, включая комбинирование соединения в соответствии с настоящим изобретением и фармацевтически приемлемого вещества-носителя.

Полагают, что FXR является ядерным рецептором желчной кислоты. Таким образом, он модулирует как синтез желчных кислот в печени, так и их рециркуляцию в кишечнике (путем регулирования белков, связывающих желчные кислоты). Кроме того, помимо физиологии желчных кислот FXR, по-видимому, участвует в регуляции множества разных физиологических процессов, которые имеют отношение к этиологии и лечению различных заболеваний, таких как холестериновые желчные камни, метаболические расстройства, такие как диабет II типа, дислипидемия или ожирение, хронические воспалительные заболевания, такие как воспалительные заболевания кишечника или хронические внутрипеченочные формы холестаза, и многие другие заболевания.

FXR регулирует сложный паттерн генов ответа в печени и в желудочно-кишечном тракте. Продукты генов оказывают влияние на различные физиологические процессы. Первой регуляторной сетью, которая была проанализирована в ходе функционального анализа FXR, являлась регуляция синтеза желчных кислот. В то время, как LXR индуцируют ключевой фермент превращения холестерина в желчные кислоты, Cyp7A1, посредством индуцирования регуляторного ядерного рецептора LXR-1, FXR репрессирует индуцирование Cyp7A1 посредством повышающей регуляции mPDK, кодирующей SHP, другой ядерный рецептор, который является доминантным репрессивным по сравнению с LXR-1. Поскольку FXR связывает конечные продукты указанного пути, первичные желчные кислоты, такие как холевая кислота (ХК) или ХДХК, это можно рассматривать в качестве примера ингибирования по принципу обратной связи на уровне экспрессии генов. Параллельно с репрессией синтеза желчных кислот посредством SHP FXR индуцирует ряд так называемых ABC-транспортёров (для АТФ-связывающей кассеты), которые отвечают за экспорт токсичных желчных кислот из цитозоля гепатоцитов в каналцы, небольшие ответвления желчных протоков, в которых образуется желчь. Указанная гепатопротекторная функция FXR впервые стала очевидна при анализе мышей с выключенным FXR, в котором была продемонстрирована недостаточная или избыточная экспрессия нескольких ABC-транспортёров в печени. Дальнейший подробный анализ показал, что основной насос экспорта солей желчных кислот, BSEP или ABCB11 (а также ключевой фермент, который опосредует перенос липидов от липопротеинов к фосфолипидам, PLTP) и два ключевых транспортёра мембраны каналца для фосфолипидов, MRP-2 (ABCC4) и MDR-3 (ABCB4), являются прямыми мишенями для лиганд-направленной активации транскрипции посредством FXR.

Тот факт, что FXR, по-видимому, является основным метаболитным сенсором и регулятором для синтеза, экспорта и рециркуляции желчных кислот, подразумевает использование лигандов FXR для индуцирования потока желчи и изменения композиции желчных кислот в сторону более гидрофильного состава. С разработкой первого синтетического лиганда FXR GW4064 в качестве фармакологически ак-

тивного соединения и полусинтетического искусственного лиганда желчной кислоты б-альфа-этил-ХДХК стало возможным проанализировать влияние суперстимуляции FXR сильными агонистами. Было показано, что оба лиганда индуцируют поток желчи у животных с лигированными желчными протоками. Кроме того, в дополнение к желчегонным эффектам также могут наблюдаться гепатопротекторные эффекты. Указанный гепатопротекторный эффект был дополнительно сужен до антифиброзного эффекта, который является результатом репрессии тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ, ТИМП-1 и 2, индуцирования матриксной металлопротеиназы 2, расщепляющей отложения коллагена, в звездчатых клетках печени и последующего уменьшения уровня мРНК альфа-коллагена и мРНК трансформирующего ростового фактора бета (ТРФ-бета), которые оба являются профибротическими факторами, под действием агонистов FXR. Кроме того, антихолестатическая активность была продемонстрирована на моделях животных с лигированными желчными протоками, а также на моделях животных с индуцированными эстрогенами холестаза.

Генетически исследования демонстрируют, что при наследственных формах холестаза (прогрессирующей семейной внутрипеченочной холестаза=ПСВХ, I-IV типов) любая ядерная локализация FXR снижается вследствие мутации в гене FIC1 (при ПСВХ I типа, также называемом болезнью Байлера) (F. Chen et al., *Gastroenterology* 2004, 126, 756; L. Alvarez et al., *Hum. Mol. Genet.* 2004, 13, 2451) или уровни гена-мишени FXR, кодирующего насос экспорта фосфолипидов MDR-3, снижены (при ПСВХ III типа). Объединенные вместе, они образуют увеличивающуюся базу доказательств того, что соединения, связывающие FXR, будут демонстрировать существенную клиническую ценность в программе лечения хронических холестатических состояний, таких как первичный билиарный цирроз (ПБЦ) или первичный склерозирующий холангит (ПСХ).

Сильное влияние, которое активация FXR оказывает на метаболизм и экскрецию желчных кислот, имеет значение не только для холестатических синдромов, но даже более непосредственно для терапии против образования желчных камней. Холестериновые желчные камни образуются из-за низкой растворимости холестерина, который активно откачивается из клетки печени в полости канальцев. Относительное процентное содержание трех основных компонентов, желчных кислот, фосфолипидов и свободного холестерина, определяет образование смешанных мицелл и, следовательно, кажущуюся растворимость свободного холестерина в желчи. Полиморфизм FXR согласно данным картирования локусов количественных признаков является одним из факторов, способствующих желчнокаменной болезни. С применением синтетического FXR фармакологически активного соединения GW4064 можно продемонстрировать, что активация FXR приводит к улучшению индекса насыщения холестерином (CSI) и непосредственно к прекращению образования желчных камней у мышей C57L, восприимчивых к желчным камням, тогда как лечение лекарственными средствами не оказывает влияния на образование желчных камней у мышей с выключенным FXR.

Указанные результаты определяют FXR, как хорошую мишень для разработки низкомолекулярных агонистов, которые можно применять для предотвращения образования холестериновых желчных камней или для предотвращения повторного образования желчных камней после хирургического удаления или ударно-волновой литотрипсии.

Таким образом, в одном из вариантов реализации согласно настоящему изобретению соединение в соответствии с формулой (I) и фармацевтические композиции, содержащие указанное соединение, применяют для профилактики и/или лечения обструктивных или хронических воспалительных расстройств, которые возникают из-за неправильного состава желчи, таких как холелитиаз, также известный как холестериновые желчные камни.

Помимо своих сильных гепатопротекторных и желчегонных, а также антифиброзных эффектов, которые FXR демонстрирует при стимулируемой малыми молекулами активации в печени, FXR, по видимому, играет роль в защите кишечника от неопластической трансформации и от развития полипов и их перехода в аденокарциному в кишечнике. Аналогично ситуации в кишечнике, отсутствие FXR приводит к сильному увеличению образования гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК), наиболее выраженной формы рака печени. Тогда как функциональный FXR предотвращает образование аденокарциномы толстой кишки и гепатоцеллюлярной карциномы, активация FXR вызывает регенерацию печени после гепатэктомии.

Комбинированные гепатопротекторные, протиопухолевые и регенерирующие эффекты печени, связанные с активацией FXR, можно терапевтически использовать при применении агонистов FXR для лечения тяжелых заболеваний печени. В одном из вариантов реализации соединения в соответствии с настоящим изобретением и фармацевтические композиции, содержащие указанные соединения, применяют для лечения заболеваний печени, таких как ГЦК, стимуляции отрастания печени и ослабления побочных эффектов, связанных с обширной резекцией печени, циррозом печени, независимо от этиологии, и предотвращения или лечения ишемии печени в ходе трансплантации печени или обширной хирургии печени.

С момента открытия первого синтетического агониста FXR и его введения грызунам стало очевидно, что FXR является ключевым регулятором триглицеридов сыворотки. За последние шесть лет было опубликовано множество доказательств того, что активация FXR синтетическими агонистами приводит к

значительному снижению уровня триглицеридов в сыворотке, главным образом в виде снижения ЛПОНП, но также и к снижению общего холестерина в сыворотке.

Но снижение уровня триглицеридов в сыворотке не является обособленным эффектом. Лечение мышей линии db/db или ob/ob синтетическим агонистом FXR GW4064 приводит к значительному и комбинированному снижению уровней триглицеридов в сыворотке, общего холестерина, свободных жирных кислот, кетонных тел, таких как бутират 3-ОН Butyrate. Более того, активация FXR связана с внутриклеточным сигнальным путем инсулина в гепатоцитах, что приводит к снижению выработки глюкозы в результате глюконеогенеза в печени, но сопровождающемуся увеличением гликогена в печени. Лечение посредством FXR оказывает положительное влияние на чувствительность к инсулину, а также толерантность к глюкозе. Также недавно наблюдали влияние на снижение массы тела у мышей, которых перекормивали рационом с высоким содержанием липидов. Указанный эффект потери массы может являться результатом опосредованного FXR индуцирования FGF19, фактора роста фибробластов, который, как известно, приводит к потере массы и формированию атлетичного фенотипа. Было продемонстрировано влияние агониста FXR на снижение массы тела.

Взятые вместе, указанные фармакологические эффекты агонисты FXR можно применять различными терапевтическими способами: полагают, что связывающие FXR соединения являются хорошими кандидатами для лечения диабета II типа благодаря их сенсibiliзирующего эффекта к инсулину, гликогенным и гиполипидемическим эффектам.

В одном из вариантов реализации соединения в соответствии с настоящим изобретением и фармацевтические композиции, содержащие указанные соединения, применяют для профилактики и/или лечения диабета II типа, который может быть преодолен путем FXR-опосредованной повышающей регуляции системной чувствительности к инсулину и внутриклеточной передачи инсулиновых сигналов в печени, повышенным периферическим усвоением и метаболизацией глюкозы, повышенным накоплением гликогена в печени, сниженным поступлением глюкозы в сыворотку в результате глюконеогенеза в печени.

В другом варианте реализации указанные соединения и фармацевтические композиции применяют для профилактики и/или лечения хронических внутрипеченочных состояний, таких как ПБЦ, ПСХ, прогрессирующего семейного холестаза (ПСВХ), цирроза, вызванного алкоголем, и связанного с ним холестаза и некоторых форм внепеченочного холестаза или фиброза печени.

Настоящее изобретение также относится к соединению формулы (I) или фармацевтической композиции, содержащей указанное соединение, для профилактики и/или лечения желудочно-кишечных состояний с пониженным усвоением жира, поступающего с пищей, и жирорастворимых витаминов, поступающих с пищей, которые могут быть преодолены путем увеличения уровней желчных кислот и фосфолипидов в кишечнике.

В другом варианте реализации указанное соединение или фармацевтическую композицию применяют для предотвращения и/или лечения заболевания, выбранного из группы, состоящей из расстройств липидного и липопротеинового обмена, таких как гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия и атеросклероз, в качестве клинически проявляющегося состояния, которое может быть улучшено путем благоприятного воздействия FXR на снижение общего холестерина в плазме, снижение уровня триглицеридов в сыворотке, увеличение превращения холестерина печени в желчные кислоты и увеличение клиренса и метаболического превращения ЛПОНП и других липопротеинов в печени.

В еще одном варианте реализации указанное соединение или фармацевтическую композицию применяют для профилактики и/или лечения заболеваний, при которых комбинированные эффекты снижения уровней липидов, антихолестатических и антифиброзных эффектов лекарственных средств направленного на FXR действия можно применять для лечения стеатоза печени и связанных с ним синдромов, таких как неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), или для лечения холестатических и фиброзных эффектов, которые связаны с циррозом, вызванным алкоголем, или вирусными формами гепатита.

Также было показано, что в сочетании с гиполипидемическими эффектами потеря функционального FXR приводит к усиленному атеросклерозу у мышей с выключенным ApoE. Следовательно, агонисты FXR могут иметь клиническую ценность в качестве антиатеросклеротических и кардиопротекторных лекарственных средств. Понижающая регуляция эндотелина-1 в клетках гладкой мускулатуры сосудов также может способствовать таким полезным терапевтическим эффектам.

Настоящее изобретение также относится к соединению в соответствии с формулой (I) или фармацевтической композиции, содержащей указанное соединение, для профилактического и посттравматического лечения сердечно-сосудистого расстройства, такого как острый инфаркт миокарда, острый инсульт или тромбоз, которое возникает как конечная стадия хронического обструктивного атеросклероза.

Помимо контролирования образования полипов кишечника и толстой кишки FXR, по-видимому, экспрессируется в тканях и клеточных линиях рака молочной железы, но не в здоровой ткани молочной железы и, по-видимому, взаимодействует с эстрогеновым рецептором в клетках ER-положительного рака молочной железы.

Это позволяет рассматривать FXR также в качестве потенциальной мишени для лечения пролиферативных заболеваний, особенно метастазирующих форм рака, которые экспрессируют чувствительную

к небольшим молекулам форму FXR.

В другом варианте реализации указанные соединения и фармацевтические композиции применяют для профилактики и/или лечения злокачественных гиперпролиферативных расстройств, таких как различные формы рака, в частности некоторые формы рака молочной железы, печени или толстой кишки, при которых вмешательство посредством лиганда FXR оказывает благотворное влияние.

Наконец, FXR, по-видимому, также участвует в контроле антибактериальной защиты в кишечнике, хотя точный механизм не представлен. Тем не менее, на основе опубликованных данных можно сделать вывод о том, что лечение агонистами FXR может оказывать благоприятное воздействие в терапии воспалительных заболеваний кишечника (IBD), в частности тех форм, при которых поражена верхняя (подвздошная) часть кишечника (например, болезнь Крона подвздошной кишки), поскольку она, по-видимому, является местом действия FXR-опосредованного контроля над ростом бактерий. При IBD десенсибилизация адаптивного иммунного ответа каким-то образом нарушается в кишечной иммунной системе. Избыточный бактериальный рост может являться причиной возникновения хронического воспалительного ответа. Следовательно, подавление роста бактерий посредством FXR-опосредованных механизмов может являться ключевым механизмом предотвращения острых воспалительных состояний.

Таким образом, изобретение также относится к соединению в соответствии с формулой (I) или фармацевтической композиции, содержащей указанное соединение, для предотвращения и/или лечения заболевания, связанного с воспалительным заболеванием кишечника, таким как болезнь Крона или язвенный колит. Полагают, что FXR-опосредованное восстановление барьерной функции кишечника и снижение некомменсальной бактериальной нагрузки содействуют снижению воздействия бактериальных антигенов на иммунную систему кишечника и, следовательно, могут снижать воспалительные ответы.

Настоящее изобретение также относится к соединению или фармацевтической композиции для профилактики и/или лечения ожирения и связанных с ним расстройств, таких как метаболический синдром (комбинированные состояния дислипидемии, диабета и аномально высокого индекса массы тела), которые могут быть преодолены путем FXR-опосредованного снижения уровней триглицеридов в сыворотке, глюкозы в крови, и повышенной чувствительности к инсулину, и FXR-опосредованной потере массы.

В другом варианте реализации соединения или фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению подходят для применения для предотвращения и/или лечения клинических осложнений диабета I типа и II типа. Примеры таких осложнений включают диабетическую нефропатию, диабетическую ретинопатию, диабетические невропатии или окклюзионную болезнь периферических артерий (ОБПА). Другие клинические осложнения диабетов также охватываются настоящим изобретением.

Кроме того, состояния и заболевания, которые возникают в результате хронической жировой и фиброзной дегенерации органов вследствие вынужденного накопления липидов и, в частности, триглицеридов и последующей активации профибротических путей, также можно предотвращать и/или лечить путем введения соединений или фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению. Такие состояния и заболевания включают НАСГ и хронические холестатические состояния в печени, гломерулосклероз и диабетическую нефропатию в почках, дегенерацию макулы и диабетическую ретинопатию в глазах и нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера, в мозге, или диабетические невропатии в периферической нервной системе.

Дозировка.

Эффективная дозировка применяемого активного ингредиента может варьироваться в зависимости от конкретного используемого соединения, способа введения, состояния, подлежащего лечению, и тяжести состояния, подлежащего лечению. Такая дозировка может быть легко установлена специалистом в данной области техники.

При лечении или предотвращении FXR-опосредованных состояний, для которых указаны соединения согласно настоящему изобретению, обычно удовлетворительные результаты получают при введении соединений согласно настоящему изобретению в суточной дозировке от примерно 0,1 миллиграмма до примерно 1000 миллиграммов на килограмм массы тела животного. В некоторых вариантах реализации соединения согласно настоящему изобретению представлены в виде одной суточной дозы, или в виде разделенных доз для приема от двух до шести раз в день, или в форме замедленного высвобождения. Для большинства крупных млекопитающих общая суточная дозировка составляет от примерно 1 миллиграмма до примерно 1000 миллиграммов или от примерно 1 миллиграмма до примерно 50 миллиграммов. В случае взрослого человека весом 70 кг общая суточная доза обычно составляет от примерно 7 миллиграммов до примерно 350 миллиграммов. Указанный режим дозирования можно корректировать для обеспечения оптимального терапевтического ответа. В некоторых вариантах реализации общая суточная дозировка составляет от примерно 1 миллиграмма до примерно 900 миллиграммов, от примерно 10 миллиграммов до примерно 800 миллиграммов, от примерно 20 миллиграммов до примерно 700 миллиграммов, от примерно 30 миллиграммов до примерно 600 миллиграммов, от примерно 40 миллиграммов до примерно 550 миллиграммов или от примерно 50 миллиграммов до примерно 400 миллиграммов.

Соединения согласно настоящей заявке или их композиции можно вводить один, два, три или четыре раза в день с применением любого подходящего способа, описанного выше. Кроме того, введение

или лечение соединениями можно продолжать в течение нескольких дней; например, обычно лечение продолжают в течение по меньшей мере 7, 14 или 28 дней для одного цикла лечения. Циклы лечения хорошо известны в химиотерапии рака и часто чередуются с периодами отдыха, составляющими примерно от 1 до 28 дней, обычно примерно 7 дней или примерно 14 дней между циклами. В других вариантах реализации циклы лечения также могут являться непрерывными.

В конкретном варианте реализации способы, предложенные в настоящем документе, включают введение субъекту начальной суточной дозы примерно от 1 до 800 мг соединения, описанного в настоящем документе, и увеличение дозы с приращениями до момента достижения клинической эффективности. Для увеличения дозы можно использовать приращения, составляющие примерно 5, 10, 25, 50 или 100 мг. Дозировку можно увеличивать ежедневно, через день, два раза в неделю или один раз в неделю.

Комбинированные терапии.

В некоторых вариантах реализации соединения, описанное в настоящем изобретении, вводят в комбинации с одним или более дополнительными терапевтическими агентами для лечения или предотвращения заболевания или состояния, описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах реализации один или более дополнительные терапевтические агенты представляют собой а(н) ингибитор АСЕ, ингибитор ацетил-КоА-карбоксилазы, агонист аденозиновых рецепторов АЗ, агонист рецепторов адипонектина, ингибитор протеинкиназы АКТ, АМФ-активируемые протеинкиназы (АМФК), агонист рецепторов амилина, антагонист рецепторов ангиотензина II АТ-1, ингибиторы аутоактина, биоактивный липид, агонист кальцитонина, ингибитор каспазы, стимулятор каспазы-3, ингибитор катепсина, ингибитор кавеолина 1, антагонист хемокинов CCR2, антагонист хемокинов CCR3, антагонист хемокинов CCR5, стимулятор хлоридного канала, ингибитор CNR1, ингибитор циклина D1, ингибитор цитохрома P450 7A1, ингибитор DGAT1/2, ингибитор дипептидилпептидазы IV, модулятор эндосиалина, ингибитор лиганда эотактина, модулятор белков внеклеточного матрикса, агонист фарнезоидного X-рецептора, ингибиторы синтаз жирных кислот, агонист рецептора FGF1, лиганды фактора роста фибробластов (FGF15, FGF19, FGF21), ингибитор галектина-3, агонист глюкогонового рецептора, агонист глюкогоноподобного пептида 1, агонист связанного с G-белками рецептора желчных кислот 1, модулятор Hedgehog (Hh), ингибитор протеазы NS3 вируса гепатита С, модулятор ядерного фактора гепатоцитов 4-альфа (HNF4A), модулятор фактора роста гепатоцитов, ингибитор ГМГ-КоА-редуктазы, агонист ИЛ-10, антагонист ИЛ-17, ингибитор натрий-зависимого котранспортера желчных кислот в подвздошной кишке, усилитель чувствительности к инсулину, модулятор интегрин, ингибитор ассоциированной с рецептором интерлейкина-1 киназы 4 (IRAK4), ингибитор тирозинкиназы Jak2, стимулятор Клото-бета, ингибитор 5-липоксигеназы, ингибитор липопротеинлипазы, печеночный рецептор X, стимулятор гена LPL, антагонист рецептора лизофосфатидата-1, ингибитор гомолога 2 лизилоксидазы, ингибитор матриксных металлопротеиназ (ММР), ингибитор протеинкиназы MEKК-5, ингибитор мембранной аминоксидазы, содержащей медь (VAP-1), ингибитор метионинаминопептидазы-2, модулятор метил-СрG-связывающего белка 2, ингибитор микроРНК-21 (miR-21), митохондриальный разобщающий белок, стимулятор основного белка миелина, ингибитор содержащего домены NACHT, LRR и PYD белка 3 (NLRP3), стимулятор НАД-зависимой деацетилазы сиртуин, ингибитор НАДФ-оксидазы (NOX), агонист рецептора никотиновой кислоты 1, стимулятор пуринорецептора P2Y13, ингибитор PDE 3, ингибитор PDE 4, ингибитор PDE 5, модулятор бета-рецептора PDGF, ингибитор фосфолипазы C, агонист PPAR-альфа, агонист PPAR-дельта, агонист PPAR-гамма, модулятор PPAR-гамма, антагонист активируемого протеазой рецептора-2, модулятор протеинкиназы, ингибитор Rho-ассоциированной протеинкиназы, ингибитор натрий-глюкозного транспортера-2, ингибитор транскрипционных факторов SREBP, ингибитор STAT-1, ингибитор стеариол-КоА-десатуразы-1, стимулятор супрессора цитокиновых сигналов-1, стимулятор супрессора цитокиновых сигналов-3, трансформирующий ростовой фактор-β (ТРФ-β), активируемую трансформирующим ростовым фактором-β киназу 1 (ТАК1), агонист бета-рецепторов тиреоидных гормонов, антагонист TLR-4, ингибитор трансглутаминазы, модулятор тирозинкиназных рецепторов, модулятор GPCR, модулятор ядерного гормонального рецептора, модуляторы WNT или модулятор YAP/TAZ.

Неограничивающие примеры одного или более дополнительных терапевтических агентов включают ингибиторы АСЕ, такие как эналаприл;

ингибиторы ацетил-КоА-карбоксилазы (ACC), такие как DRM-01, гемкабен, PF-05175157 и QLT-091382;

агонисты аденозиновых рецепторов, такие как CF-102, CF-101, CF-502 и CGS21680;

агонисты рецепторов адипонектина, такие как ADP-355;

агонисты рецепторов амилина/кальцитонина, такие как KBP-042;

стимуляторы АМФ-активируемых протеинкиназ, такие как 0-304;

антагонисты рецепторов ангиотензина II АТ-1, такие как ирбесартан;

ингибиторы аутоактина, такие как PAT-505, PAT-048, GLPG-1690, X-165, PF-8380 и AM-063;

биоактивные липиды, такие как DS-102;

ингибиторы каннабиноидных рецепторов 1 типа (CNR1), такие как намацизумаб и GWP-42004;

ингибиторы каспазы, такие как эмрикасан;

ингибиторы Рап-катепсина В, такие как VBY-376;
ингибиторы Рап-катепсина, такие как VBY-825;
антагонисты хемокинов CCR2/CCR5, такие как ценикривирок;
антагонисты хемокинов CCR2, такие как пропагерманиум;
антагонисты хемокинов CCR3, такие как бертилимуаб;
стимуляторы хлоридного канала, такие как кобипростон;
ингибиторы диглицерид-ацилтрансферазы 2 (DGAT2), такие как IONIS-DGAT2Rx;
ингибиторы дипептидилпептидазы IV, такие как линаглиптин;
ингибиторы лиганда эотаксина, такие как бертилимуаб;
модуляторы белков внеклеточного матрикса, такие как CNX-024;
агонисты фарнезоидного X-рецептора (FXR), такие как AGN-242266, AKN-083, EDP-305, GNF-5120, LJN-452, LMB-763, обетихолевая кислота, Pх-102, Pх-103, M790, M780, M450, M480, PX20606, EYP-001 и INT-2228;
агонисты фарнезоидного X-рецептора (FXR)/связанного с G-белками рецептора желчных кислот 1 (TGR5), такие как INT-767;
ингибиторы синтаз жирных кислот, такие как TVB-2640;
ингибиторы фактора роста фибробластов 19 (rhFGF19)/цитохрома P450 (CYP) 7A1, такие как NGM-282;
лиганд фактора роста фибробластов 21 (FGF21), такой как BMS-986171, BMS-986036;
агонисты фактора роста фибробластов 21 (FGF21)/глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1), такие как YH-25723;
ингибиторы галектина-3, такие как GR-MD-02;
агонисты глюкагоноподобного пептида 1 (GLP1R), такие как AC-3174, лираглутид, семаглутид;
агонисты связанного с G-белками рецептора желчных кислот 1 (TGR5), такие как RDX-009, INT-777;
ингибиторы белка теплового шока 47 (HSP47), такие как ND-L02-s0201;
ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы, такие как аторвастатин, флувастатин, питавастатин, правастатин, розувастатин и симвастатин;
агонисты ИЛ-10, такие как пегилодекакин;
ингибиторы натрий-зависимого котранспортера желчных кислот в подвздошной кишке, такие как A-4250, воликсибата калия этанолат гидрат (SHP-262) и GSK2330672;
усилители чувствительности к инсулину, такие как KBP-042, MSDC-0602K, Pх-102, RG-125 (AZD4076) и VVP-100X;
агонист Клото-бета (KLB)-FGF1с, такой как NGM-313;
ингибиторы 5-липоксигеназы, такие как типелукаст (MN-001);
ингибиторы липопротеинлипазы, такие как CAT-2003;
стимуляторы гена LPL, такие как alirogene типарвовек;
модуляторы печеночного рецептора X (LXR), такие как PX-L603, PX-L493, BMS-852927, T-0901317, GW-3965 и SR-9238;
антагонисты рецептора лизофосфатидата-1, такие как BMT-053011, UD-009. AR-479, ITMN-10534, BMS-986020 и KI-16198;
ингибиторы гомолога 2 лизилоксидазы, такие как simtuzumab;
ингибиторы семикарбазид-чувствительной аминоксидазы/белка сосудистой адгезии-1 (SSAO/VAP-1), такие как PXS-4728A;
ингибиторы метионинаминопептидазы-2, такие как ZGN-839;
модуляторы метил-СpG-связывающего белка 2, такие как меркаптамин;
митохондриальные разобщающие белки, такие как 2,4-динитрофенол;
стимуляторы основного белка миелина, такие как олезоксим;
ингибиторы НАДФ-оксидазы 1/4, такие как GKT-831;
агонисты рецептора никотиновой кислоты 1, такие как ARI-3037MO;
ингибиторы содержащего домены NACHT, LRR и PYD белка 3 (NLRP3), такие как KDDF-201406-03 и NBC-6;
модуляторы ядерных рецепторов, такие как DUR-928;
стимуляторы пуринорецептора P2Y13, такие как CER-209;
ингибиторы PDE 3/4, такие как типелукаст (MN-001);
ингибиторы PDE 5, такие как силденафил;
модуляторы бета-рецептора PDGF, такие как BOT-191, BOT-509;
агонисты PPAR, такие как элафибранор (GFT-505), MBX-8025, R-энантиомер дейтерированного пиоглитазона, пиоглитазона, DRX-065, сароглитазар и IVA-337;
антагонисты активируемого протеазой рецептора-2, такие как PZ-235;
модуляторы протеинкиназы, такие как CNX-014;
ингибиторы Rho-ассоциированной протеинкиназы (ROCK), такие как KD-025;

ингибиторы натрий-глюкозного транспортера-2 (SGLT2), такие как ипраглифлозин, ремоглифлозина этабонат, эртуглифлозин, дапаглифлозин и сотаглифлозин;
 ингибиторы транскрипционных факторов SREBP, такие как CAT-2003 и MDV-4463;
 ингибиторы стеариол-КоА-десатуразы-1, такие как арамхол;
 агонисты бета-рецепторов тиреоидных гормонов, такие как MGL-3196, MGL-3745, VK-2809;
 антагонисты TLR-4, такие как JKB-121;
 модуляторы тирозинкиназных рецепторов, такие как CNX-025;
 модулятор GPCR, такие как CNX-023; и
 модуляторы ядерного гормонального рецептора, такие как Pх-102.

В некоторых конкретных вариантах реализации один или более дополнительные терапевтические агенты выбраны из А-4250, АС-3174, ацетилсалициловой кислоты, АК-20, алипоген типарвовета, арамхола, АRI-3037МО, ASP-8232, бертилимуаба, безводного бетаина, ВI-1467335, BMS-986036, BMS-986171, BMT-053011, BOT-191, BTT-1023, CAT-2003, ценикривирока, CER-209, CF-102, CGS21680, CNX-014, CNX-023, CNX-024, CNX-025, кобипростона, колесвелама, дапаглифлозина, R-энантиомера дейтерированного пиоглитазона, 2,4-динитрофенола, DRX-065, DS-102, DUR-928, EDP-305, элафибранора (GFT-505), эмрикасана, эналаприла, эртуглифлозина, эвоглиптина, F-351, GKT-831, GNF-5120, GRMD-02, гидрохлоротиазида, этилового эфира эйкозапентаеновой кислоты, IMM-124-E, INT-767, IONIS-DGAT2Rx, ипраглифлозина, ирбесартана, пропагерманиума, IVA-337, JKB-121, KB-GE-001, KBP-042, KD-025, M790, M780, M450, метформина, силденафила, LC-280126, линаглиптина, лираглутида, LJN-452, LMB-763, MBX-8025, MDV-4463, меркаптамина, MGL-3196, MGL-3745, MSDC-0602K, намацизумаба, NC-101, ND-L02-s0201, NGM-282, NGM-313, NGM-386, NGM-395, нор-урсодезоксихолевой кислоты, O-304, обетихолевой кислоты, 25HC3S, олезоксима, PAT-505, PAT-048, пегилодекакина, пиоглитазона, пирфенидона, PRI-724, PX20606, Pх-102, PX-L603, PX-L493, PXS-4728A, PZ-235, RDX-009, ремоглифлозина этабонат, RG-125 (AZD4076), сароглитазара, семаглутида, симтузумаба, солитромицина, сотаглифлозина, статинов (аторвастатина, флувастатина, питавастатина, правастатина, розувастатина, симвастатина), TCM-606F, TEV-45478, типелукаста (MN-001), TLY-012, TRX-318, TVB-2640, UD-009, урсодезоксихолевой кислоты, VBY-376, VBY-825, VK-2809, висмодегиба, воликсибата калия этанолата гидролата (SHP-626), VVP-100X, WAV-301, WNT-974 и ZGN-839.

Примеры

Следующие примеры включены для демонстрации конкретных вариантов реализации согласно настоящему изобретению. Специалистам в данной области техники понятно, что способы, представленные в следующих примерах, представляют способы, которые хорошо функционируют в практической реализации настоящего изобретения и, таким образом, могут рассматриваться, как составляющие конкретные способы его практического применения. Тем не менее, специалистам в данной области техники понятно, что в контексте настоящего изобретения в конкретных представленных вариантах реализации могут быть сделаны многие изменения с получением такого же или аналогичного результата без отступления от сущности и объема настоящего изобретения.

Соединения согласно настоящему изобретению можно получать в соответствии со способами, представленными в следующих схемах и примерах, с применением соответствующих материалов, и они дополнительно проиллюстрированы следующими конкретными примерами. Кроме того, путем применения способов, описанных в настоящем документе, в сочетании с обычными навыками специалиста в данной области техники можно легко получать дополнительные соединения согласно настоящему изобретению, заявленные в настоящем документе. Тем не менее, соединения, проиллюстрированные в примерах, не должны рассматриваться в качестве образующих единственный пример соединений, охватываемых настоящим изобретением. Пример дополнительно подробно иллюстрирует получение соединений согласно настоящему изобретению. Специалистам в данной области техники понятно, что для получения указанных соединений можно использовать известные варианты условий и процессов следующих способов получения. Для синтеза соединений, которые представляют собой варианты реализации, описанные в настоящем изобретении, проверка структуры соединения, которое должно быть синтезировано, позволяет определять характеристики каждой группы заместителя. Характеристики конечного продукта, как правило, однозначно определяют характеристики необходимых исходных материалов в рамках простой проверки с учетом примеров, приведенных в настоящем документе. Соединения согласно настоящему изобретению обычно выделяют в форме их фармацевтически приемлемых солей, таких как соли, описанные выше. В целом, соединения, описанные в настоящем документе, обычно являются стабильными и выделяемыми при комнатной температуре и давлении.

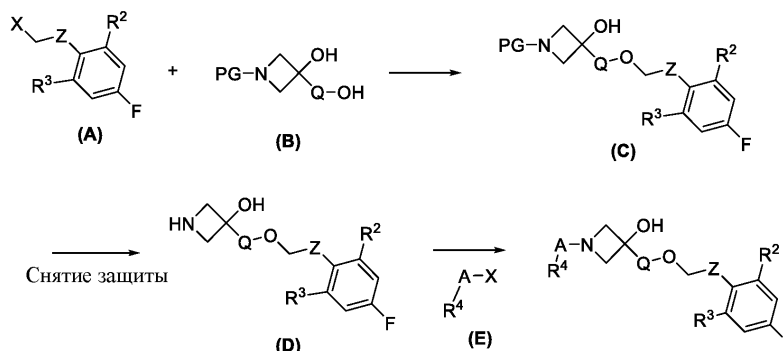
Основания, не содержащие аминогрупп, соответствующие выделенным солям, можно получать путем нейтрализации подходящим основанием, таким как водные растворы гидрокарбоната натрия, карбоната натрия, гидроксида натрия и гидроксида калия, и экстракции освобожденного основания, не содержащего аминогрупп, в органический растворитель с последующим выпариванием. Изолированное таким образом основание, не содержащее аминогрупп, можно дополнительно превращать в другую фармацевтически приемлемую соль путем растворения в органическом растворителе с последующим добавлением соответствующей кислоты и последующим выпариванием, осаждением или кристаллизацией. Кислоты,

не содержащие карбоксильных групп, соответствующие выделенным солям, можно получать путем нейтрализации подходящей кислотой, такой как водные растворы хлористоводородной кислоты, гидросульфата натрия, дигидрофосфата натрия, и экстракции освобожденной кислоты, не содержащей карбоксильных групп, в органический растворитель с последующим выпариванием. Изолированную таким образом кислоту, не содержащую карбоксильных групп, можно дополнительно превращать в другую фармацевтически приемлемую соль путем растворения в органическом растворителе с последующим добавлением соответствующего основания и последующим выпариванием, осаждением или кристаллизацией.

Ниже проиллюстрировано получение соединений согласно настоящему изобретению. Если на схемах не указано иное, переменные имеют то же значение, что описано выше. Представленные ниже примеры предназначены для иллюстрации конкретных вариантов реализации настоящего изобретения. Подходящие исходные материалы, структурные элементы и реагенты, применяемые в синтезе, как описано ниже, являются коммерчески доступными, например, в Sigma-Aldrich или Acros Organics, или могут быть получены при помощи обычных способов, описанных в литературе, например, в "March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure", 5th Edition; John Wiley & Sons или T. Eicher, S. Hauptmann "The Chemistry of Heterocycles; Structures, Reactions, Synthesis and Application", 2nd edition, Wiley-VCH 2003; Fieser et al., "Fieser's Reagents for organic Synthesis" John Wiley & Sons 2000.

Общая схема синтеза.

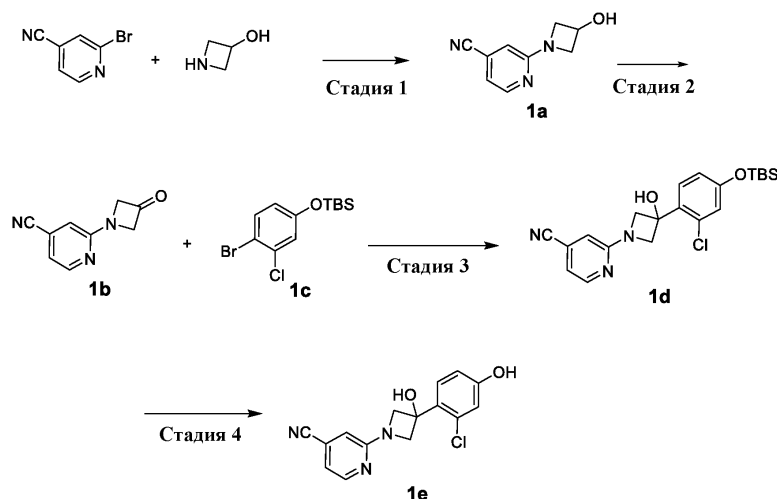
Соединения формулы (I), где Y представляет собой N, можно получать в соответствии со следующей общей схемой синтеза:



В представленной выше общей схеме синтеза X представляет собой уходящую группу, PG представляет собой защитную группу, и остальные переменные являются такими, как описано в настоящем документе. Соединение формулы (C) можно получать путем взаимодействия соединения формулы (A) с соединением формулы (B) в присутствии основания с получением соединения формулы (C). Соединение формулы (D) получают из соединения формулы (C) при соответствующих условиях снятия защиты. Соединение формулы (D) можно объединять с соединением формулы (E) в присутствии основания с получением соединения формулы (I).

Подходящие соединения структур (A) и (B) можно получать в соответствии с конкретными способами, описанными в следующих примерах, или при помощи способов, известных в данной области техники. В некоторых вариантах реализации X представляет собой галоген-. В некоторых вариантах реализации PG представляет собой BOC.

Общий синтез 1



Стадия 1: 2-(3-гидроксиазетидин-1-ил)изонитринонитрил (1a).

Карбонат калия (4,6 г, 33 ммоль) добавляли к 2-хлор-4-пиридинкарбонитрилу (2,0 г, 14,4 ммоль) и 3-гидроксиазетидингидрохлориду (1,7 г, 16 ммоль) в NMP (12 мл) при комнатной температуре и смесь нагревали до 80°C в течение 2 ч в герметичной пробирке. Смесь охлаждали до комнатной температуры, обрабатывали H₂O и экстрагировали EtOAc. Органические слои промывали солевым раствором, сушили с Na₂SO₄ и концентрировали. В результате очистки путем хроматографии (на 24 г колонке с силикагелем ISCO) с применением градиента 1:1 гексан/EtOAc - 100% EtOAc получали 2-(3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотинонитрил (1a).

Стадия 2: 2-(3-оксоазетидин-1-ил)изоникотинонитрил (1b).

N-метилморфолин (1,9 г, 16 ммоль), а затем тетрапропиламмония перрутат (190 мг, 0,5 ммоль) добавляли к 2-(3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотинонитрилу (1,9 г, 10,7 ммоль) в CH₂Cl₂ (200 мл) с применением молекулярных сит (1 г, активированный порошок, 4 Å) при комнатной температуре. После 20 мин интенсивного перемешивания смесь фильтовали через слой целита и концентрировали. В результате очистки путем хроматографии (на 24 г колонке с силикагелем ISCO) с применением градиента 100% гексан - 1:3 гексан/EtOAc получали 2-(3-оксоазетидин-1-ил)изоникотинонитрил (1b).

Получение 1с: (4-бром-3-хлорфенокси)(трет-бутил)диметилсилан (1с).

К раствору 4-бром-3-хлорфенола (250 г, 1,21 моль) и TBSCl (272 г, 1,81 моль) в ДМФ (2,0 л) добавляли имидазол (164 г, 2,41 моль). Затем реакционную смесь перемешивали при 30°C в течение 12 ч. Реакционную смесь погружали в H₂O (3 л) и два раза экстрагировали EtOAc (2 л). Объединенные органические слои промывали H₂O (1 л) и солевым раствором (1 л), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. В результате очистки путем хроматографии на силикагеле с элюированием петролейным эфиром получали (4-бром-3-хлорфенокси)(трет-бутил)диметилсилан (1с).

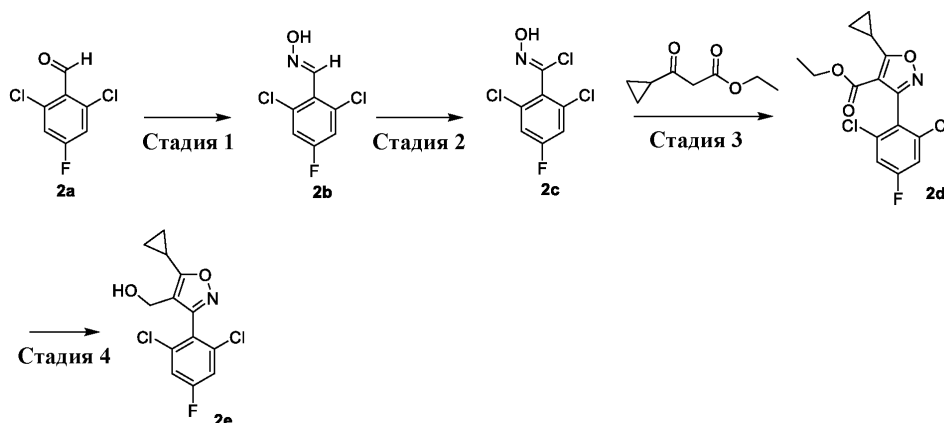
Стадия 3: 2-(3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотинонитрил (1d).

Комплекс хлорида изопропилмагния и хлорида лития (1,3 мл, 1,7 ммоль, 1,5М раствор в ТГФ) по каплям добавляли к (4-бром-3-хлорфенокси)(трет-бутил)диметилсилану (1с, 370 мг, 1,15 ммоль) в ТГФ (0,9 мл) при комнатной температуре. Через 3 ч реакционную смесь охлаждали до 0°C и обрабатывали одной порцией 2-(3-оксоазетидин-1-ил)изоникотинонитрила (199 мг, 1,15 ммоль) в виде твердого вещества. Через 1 ч реакцию гасили H₂O и EtOAc. Органический слой промывали солевым раствором, сушили с Na₂SO₄ и концентрировали. В результате очистки путем хроматографии (на 4 г колонке с силикагелем ISCO) с применением градиента 100% гексан - 1:3 гексан/EtOAc получали 2-(3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотинонитрил (1d).

Стадия 4: 2-(3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотинонитрил (1e).

К раствору 2-(3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотинонитрила (1d) (180 мг, 0,43 ммоль) в 2-Ме-ТГФ (4 мл) добавляли 1М раствор ТБАФ в ТГФ (0,6 мл, 0,59 ммоль) при комнатной температуре. Через 30 мин реакцию гасили водой, смесь экстрагировали EtOAc. Органическую фазу промывали солевым раствором (10 мл), сушили с Na₂SO₄ и концентрировали с получением 2-(3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотинонитрила (1e), который применяли без дополнительной очистки.

Общий синтез 2



Стадия 1: 2,6-дихлор-4-фторбензальдегида оксим (2b).

Суспензию 2,6-дихлор-4-фторбензальдегида (6,0 г, 31,2 ммоль), NH₂OH·HCl (4,3 г, 62,4 ммоль), Na₂CO₃ (8,3 г, 78,7 ммоль) в смеси этанола-вода (50 мл, 5:1) перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь конденсировали под вакуумом и остаток обрабатывали водой, а затем экстрагировали этилацетатом. Этилацетатный слой промывали солевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали с получением 2,6-дихлор-4-фторбензальдегида оксима (2b).

Стадия 2: 2,6-дихлор-4-фтор-N-гидросибензимидаола хлорид (2с).

К раствору 2,6-дихлор-4-фторбензальдегида оксима (2b, 5,5 г, 26,7 ммоль) в ДМФ (10 мл) добавля-

ли N-хлорсукцинимид (4,3 г, 32,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 1 ч. Реакцию гасили H₂O и смесь экстрагировали EtOAc. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением 2,6-дихлор-4-фтор-N-гидроксибензимидаоила хлорида (2с), который применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

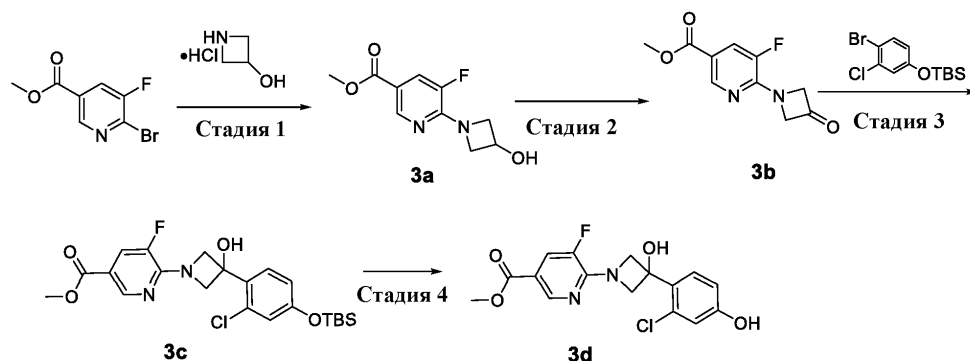
Стадия 3: этил-5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-карбоксилат (2d).

К раствору сложного этилового эфира 3-циклопропил-3-оксопропионовой кислоты (5,0 г, 32,0 ммоль) в 30 мл ТГФ добавляли Et₃N (10,8 г, 107,2 ммоль), Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 30 мин, а затем по каплям добавляли реакционную смесь с предыдущей стадии (2,6-дихлор-4-фтор-N-гидроксибензимидаоила хлорид (2с)). Полученную смесь перемешивали в течение 2 ч при КТ. Растворитель удаляли и остаток распределяли между 100 мл воды и 50 мл EtOAc. Органический слой промывали соевым раствором, сушили, фильтровали, концентрировали и очищали на колонке с силикагелем (ПЭ/ЭА=10/1) с получением этил-5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-карбоксилата (2d).

Стадия 4: (5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метанол (2е).

К раствору этил-5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-карбоксилата (2d, 3,4 г, 9,3 ммоль) в ТГФ (30 мл) по каплям добавляли LiAlH₄ (11,1 мл, 11,1 ммоль, 1М раствор в гексане) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин. Добавляли 1,0 мл воды, а затем добавляли 2,0 г 10% раствора NaOH, 3,0 мл воды. Смесь фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали на колонке с силикагелем (ПЭ/ЭА=2/1) с получением (5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метанола (2е). ЖХМС (ПЭР): m/z 302,0 (M+1)⁺. ¹H-ЯМР (500 МГц, CDCl₃): δ 7,22-7,20 (d, J=8,5 Гц, 2H), 4,42-4,41 (d, J=6,0 Гц, 2H), 2,19-2,16 (m, 1H), 1,41-1,39 (m, 1H), 1,29-1,26 (m, 2H), 1,16-1,13 (m, 2H).

Общий синтез 3



Стадия 1: метил-5-фтор-6-(3-гидроксиазетидин-1-ил)никотинат (3а).

Смесь азетидин-3-ола гидрохлорида (2,8 г, 26 ммоль), метил-6-бром-5-фторникотината (5,0 г, 21 ммоль) и карбоната калия (7,4 г, 53 ммоль) в ДМФ (100 мл) грели при 65°C в течение 19 ч. Смесь очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением целевого продукта. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₁₀H₁₂FN₂O₃: 227,1; установлено: 227,0.

Стадия 2: метил-5-фтор-6-(3-оксоазетидин-1-ил)никотинат (3b).

Раствор метил-5-фтор-6-(3-гидроксиазетидин-1-ил)никотината (4,7 г, 21 ммоль) в дихлорметане (270 мл) обрабатывали перйодином Десса-Мартина (9,7 г, 23 ммоль). После 6 ч перемешивания при комнатной температуре добавляли дополнительную порцию перйодина Десса-Мартина (1,5 г) и смесь оставляли перемешиваться в течение ночи при комнатной температуре. После перемешивания в течение ночи смесь обрабатывали водным раствором тиосульфата натрия и насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Водную фазу три раза экстрагировали дихлорметаном. Объединенные экстракты сушили над безводным сульфатом магния, фильтровали, концентрировали досуха при пониженном давлении. Остаток два раза очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением целевого материала. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H₂O+H]⁺ вычислено для C₁₀H₁₂FN₂O₄: 243,1; установлено: 243,0.

Стадия 3: метил-6-(3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинат (3с).

Раствор (4-бром-3-хлорфенокси)(трет-бутил)диметилсилана (4,5 г, 14 ммоль) в 2-метилтетрагидрофуране (14 мл) обрабатывали раствором хлорид изопропилмагния/хлорид лития (Aldrich, 1,3 M, 11 мл, 15 ммоль) путем добавления по каплям через шприц. Полученную смесь перемешивали в течение примерно одного часа, а затем охлаждали на водяной бане со льдом. Порциями добавляли метил-5-фтор-6-(3-оксоазетидин-1-ил)никотинат (2,0 г, 8,9 ммоль) в течение 2 ч. Смесь выдерживали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию гасили 10% водным раствором лимонной кислоты. Водную фазу три раза экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои один раз промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом магния, фильтровали и кон-

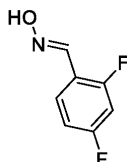
центрировали при пониженном давлении с получением неочищенного целевого продукта, который применяли без дополнительной очистки. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₂₂H₂₉ClFN₂O₄Si: 467,2; установлено: 467,1.

Стадия 4: метил-6-(3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинат (3d).

Неочищенный метил-6-(3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинат (примерно 10 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (70 мл) и обрабатывали раствором фторида тетра-н-бутиламмония (Aldrich, 1,0M раствор в ТГФ, 18 мл, 18 ммоль). Смесь выдерживали при комнатной температуре до завершения реакции, определяемого путем ЖХ/МС, а затем очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением промежуточного соединения 3d. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₁₆H₁₅ClFN₂O₄: 353,1; установлено: 353,0.

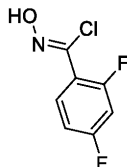
Пример 1: 5-((4-бром-3-хлорфенокси)метил)-4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1H-пиразол.

Стадия 1: 2,4-дифторбензальдегида оксим



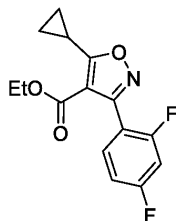
Указанное соединение получали в соответствии со способом, описанным в общем синтезе 2, стадия 1, начиная с 2,4-дифторбензальдегида (10 г, 70 ммоль).

Стадия 2: 2,4-дифтор-N-гидроксибензимидаоила хлорид



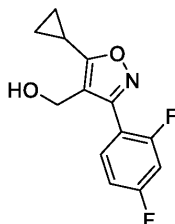
Указанное соединение получали в соответствии со способом, описанным в общем синтезе 2, стадия 2, начиная с 2,4-дифторбензальдегида оксима (9 г, 57 ммоль).

Стадия 3: этил-5-циклопропил-3-(2,4-дифторфенил)изоксазол-4-карбоксилат



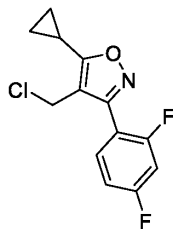
Указанное соединение получали в соответствии со способом, описанным в общем синтезе 2, стадия 3, начиная с 2,4-дифтор-N-гидроксибензимидаоила хлорида (11 г, 57 ммоль).

Стадия 4: (5-циклопропил-3-(2,4-дифторфенил)изоксазол-4-ил)метанол



Указанное соединение получали в соответствии со способом, описанным в общем синтезе 2, стадия 4, начиная с этил-5-циклопропил-3-(2,4-дифторфенил)изоксазол-4-карбоксилата (2,2 г, 8 ммоль).

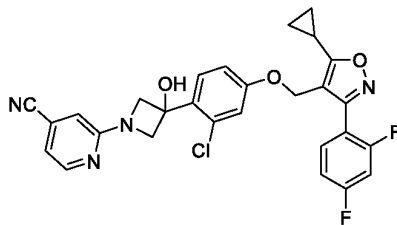
Стадия 5: 4-(хлорметил)-5-циклопропил-3-(2,4-дифторфенил)изоксазол



К раствору (5-циклопропил-3-(2,4-дифторфенил)изоксазол-4-ил)метанола (113 мг, 0,45 ммоль) в CH₂Cl₂ (2,3 мл) добавляли тионилхлорид (164 мкл, 2,3 ммоль) при 0°C. Смесь нагревали до температуры

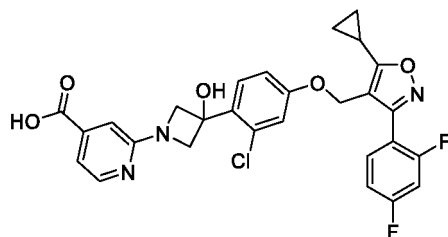
обратной конденсации в течение 15 мин и охлаждали до комнатной температуры. Смесь концентрировали в вакууме. Добавляли еще CH_2Cl_2 (5 мл) и смесь снова концентрировали. Указанный процесс повторяли в третий раз для удаления избытка тионилхлорида. Неочищенный остаток применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Стадия 6: 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,4-дифторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотинитрил



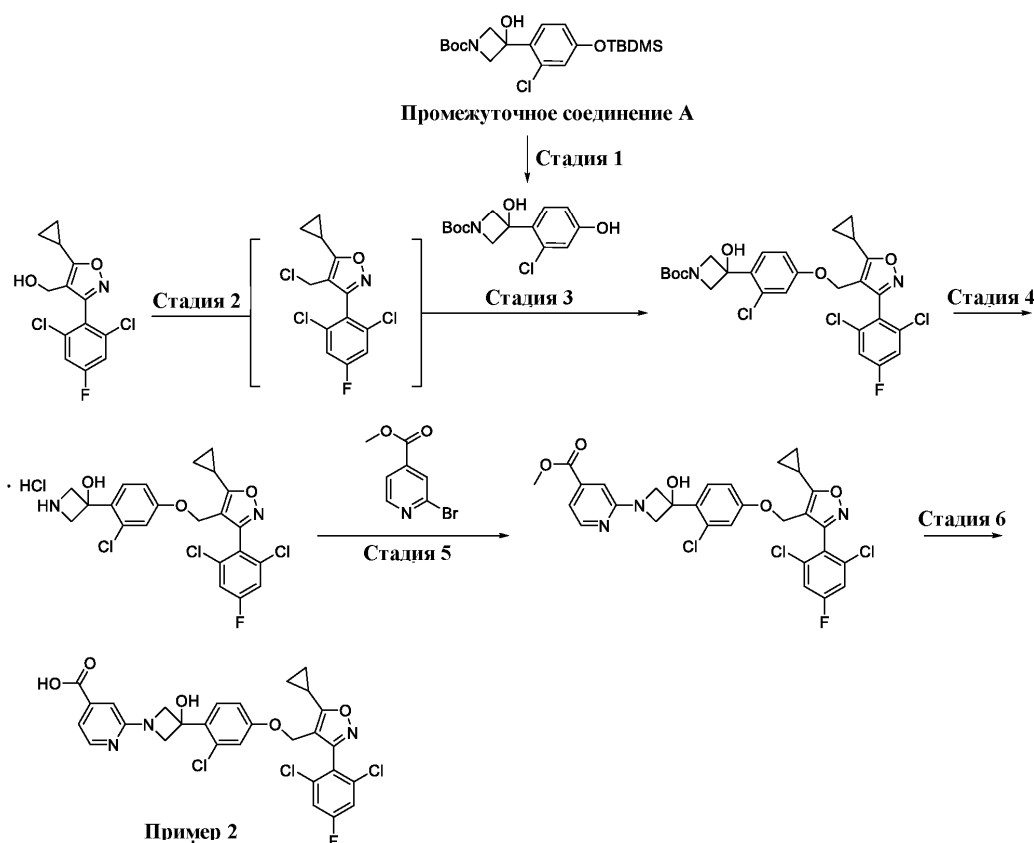
4-(Хлорметил)-5-циклопропил-3-(2,4-дифторфенил)изоксазол (113 мг, 0,45 ммоль), 2-(3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотинитрил (промежуточное соединение 1e) (149 мг, 0,5 ммоль) и K_2CO_3 (124 мг, 0,9 ммоль) объединяли в безводном ДМФ (2,3 мл) при комнатной температуре. Смесь нагревали до 65°C в атмосфере азота. Через 2 ч раствор охлаждали до комнатной температуры, реакцию гасили H_2O и смесь экстрагировали EtOAc . Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. В результате очистки путем хроматографии: ISCO (12 г колонка с силикагелем) с применением градиента 100% CH_2Cl_2 - 3:1 CH_2Cl_2 /предварительно смешанный раствор 60:35:5 CH_2Cl_2 : Et_2O : MeOH получали титульное соединение.

Стадия 7: 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,4-дифторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотиновая кислота (пример 1)



10М водный раствор гидроксида натрия (0,67 мл) добавляли к 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,4-дифторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотинитрилу (210 мг, 0,39 ммоль) в этаноле (2 мл) и H_2O (2 мл) при комнатной температуре и смесь грели при 60°C в течение 90 мин в герметичной пробирке. Смесь охлаждали до комнатной температуры и регулировали pH до примерно 5 с применением 1М раствора HCl , в результате чего из раствора выпадал осадок. Раствор фильтровали и твердое вещество промывали Et_2O и сушили в вакууме с получением 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,4-дифторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотиновой кислоты (пример 1). ^1H -ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) ^1H -ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 13,41 (s, 1H), 8,19 (dd, $J=5,2, 0,8$ Гц, 1H), 7,59 (td, $J=8,5, 6,5$ Гц, 1H), 7,49 - 7,34 (m, 2H), 7,28 - 7,15 (m, 1H), 7,05 - 6,96 (m, 2H), 6,88 - 6,74 (m, 2H), 6,20 (s, 1H), 5,00 (s, 2H), 4,47 (d, $J=9,3$ Гц, 2H), 4,18 (d, $J=9,2$ Гц, 2H), 2,40 (tt, $J=8,3, 5,3$ Гц, 1H), 1,20 - 1,00 (m, 4H). МС (ИЭР $^+$) (m/z) 554,0 (M+H).

Пример 2: 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотиновая кислота



Получение промежуточного соединения А.

К раствору (4-бром-3-хлорфенокси)(трет-бутил)диметилсилана (1с, 60 г, 187 ммоль) в ТГФ (500 мл) по каплям добавляли *n*-BuLi (2,5 М, 75 мл) при -78°C в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при -78°C в течение 1 ч. Затем к смеси по каплям добавляли раствор трет-бутил 3-оксоазетидин-1-карбоксилата (27 г, 155 ммоль) в ТГФ (500 мл) при -78°C . Затем реакционную смесь перемешивали при 20°C в течение 3 ч. Реакционную смесь погружали в H_2O (1 л) и три раза экстрагировали EtOAc (2 л). Объединенные органические слои промывали водой (1 л), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали путем хроматографии на силикагеле, элюируя смесью 10:1 петролейный эфир:EtOAc, с получением 3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)азетидин-3-ола (промежуточное соединение А).

Стадия 1: трет-бутил-3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат.

К раствору трет-бутил-3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата (промежуточное соединение А, 1,27 г, 3,07 ммоль) в ТГФ (50,0 мл) при -10°C по каплям добавляли 1М раствор ТБАФ в ТГФ (3,68 мл, 3,68 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч и концентрировали с получением трет-бутил-3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата, который применяли без дополнительной очистки.

Стадия 2: 4-(хлорметил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол.

Раствор (5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метанола (2е); 845 мг, 2,80 ммоль) в ДХМ (28,0 мл) охлаждали до 0°C . Добавляли тионилхлорид (1,02 мл, 14,0 ммоль) и раствор грели при 45°C в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали досуха и применяли на следующей стадии без очистки.

Стадия 3: трет-бутил-3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат.

Раствор трет-бутил-3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата (922 мг, 3,07 ммоль) в ДМФ (28,0 мл) добавляли к неочищенному 4-(хлорметил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазолу, а затем добавляли карбонат калия (773 мг, 5,60 ммоль). Смесь грели при 60°C в течение 8 ч. Реакционную смесь концентрировали, разбавляли водой и экстрагировали EtOAc (3×). Объединенные органические слои промывали водой и соевым раствором, сушили над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали путем хроматографии на силикагеле (ДХМ/Et₂O/MeOH) с получением трет-бутил-3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [(M+H)-VOС]⁺ вычислено: 483.04; установлено: 483.04.

Стадия 4: 3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фе-

нил)азетидин-3-ол.

К раствору трет-бутил 3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат (1,52 г, 2,60 ммоль) в ДХМ (130 мл) добавляли 4 N HCl в 1,4-диоксан (26,0 мл, 104 ммоль). Раствор перемешивали при температуре окружающей среды в течение 2,5 ч и концентрировали досуха с получением 3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)азетидин-3-ола в виде гидрохлоридной соли, который применяли без дополнительной очистки. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено: 483,04; установлено: 483,03.

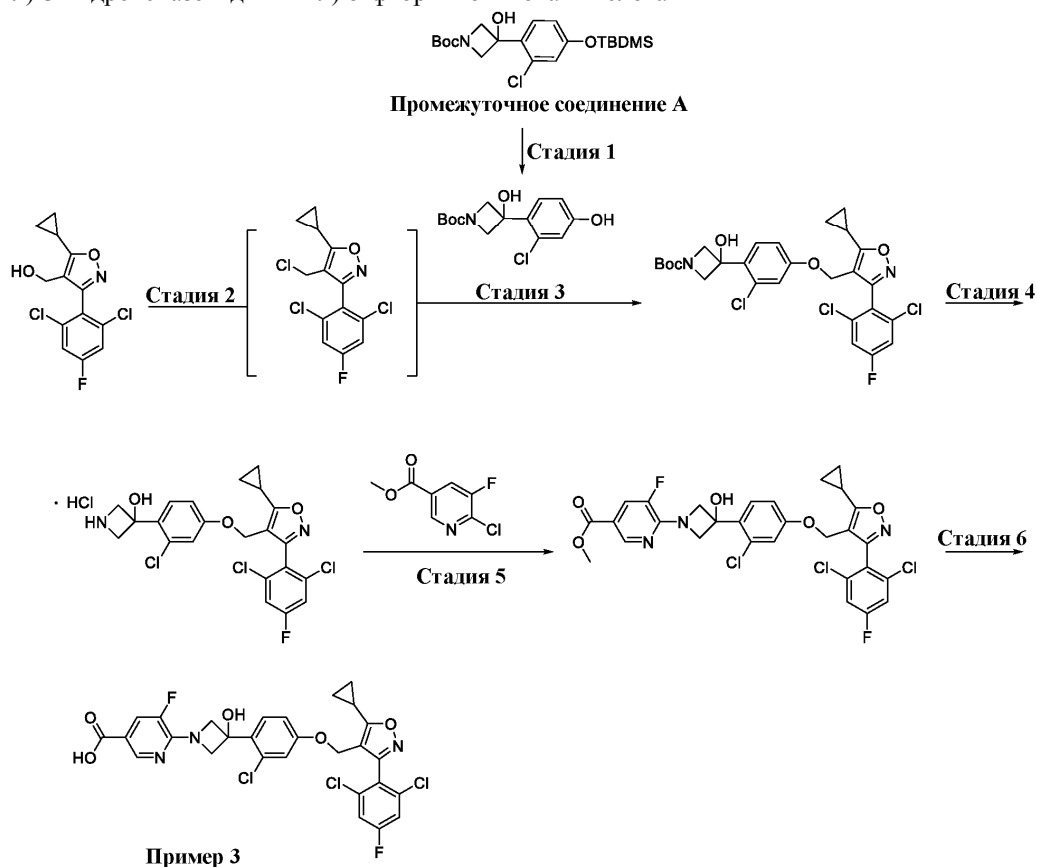
Стадия 5: метил-2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотинат.

Смесь метил-2-бромпиридин-4-карбоксилата (0,466 г, 2,16 ммоль), 3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)азетидин-3-ола в виде гидрохлоридной соли (1,02 г, 1,96 ммоль), карбоната цезия (2,56 г, 7,85 ммоль), (±)-BINAP (0,244 г, 0,392 ммоль), тримера ацетата палладия (88,0 мг, 0,131 ммоль) и 1,4-диоксана (40,0 мл) грели при 85°C в течение 18 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целит и очищали путем хроматографии на силикагеле (ацетон/гексан) с получением метил-2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотината. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено: 618,08; установлено: 618,20.

Стадия 6: 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотиновая кислота (пример 2).

К раствору 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотината (617 мг, 0,997 ммоль) в смеси ТГФ/вода (1:1, 10 мл) добавляли моногидрат гидроксида лития (83,6 мг, 1,99 ммоль). Раствор перемешивали в течение 90 мин, концентрировали для удаления ТГФ и разбавляли водой. При перемешивании добавляли уксусную кислоту (0,23 мл, 3,99 ммоль), в результате чего твердые вещества выпадали в осадок. Твердые вещества отфильтровывали, промывали водой, ИПС и эфиром и сушили под вакуумом с получением 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотиновой кислоты (пример 2). ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено: 604,06; установлено: 604,15. ¹H-ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 13,47 (шир. s, 1H), 8,18 (dd, J=5,3, 0,8 Гц, 1H), 7,69 (d, J=8,5 Гц, 2H), 7,37 (d, J=8,7 Гц, 1H), 7,02 (dd, J=5,3, 1,4 Гц, 1H), 6,93 (d, J=2,6 Гц, 1H), 6,86 (шир. s, 1H), 6,75 (dd, J=8,6, 2,6 Гц, 1H), 6,20 (s, 1H), 4,91 (s, 2H), 4,49 (d, J=9,3 Гц, 2H), 4,19 (d, J=9,3 Гц, 2H), 2,46 - 2,37 (m, 1H), 1,23 - 1,04 (m, 4H).

Пример 3: 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота



Стадии 1-4 являлись такими же, как описано в синтезе из примера 2.

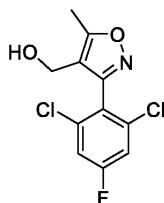
Стадия 5: метил-6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинат.

Смесь метил-6-хлор-5-фторпиридина (235 мг, 1,24 ммоль), 3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)азетидин-3-ола в виде гидрохлоридной соли (495 мг, 0,952 ммоль) и карбоната калия (1,05 г, 7,61 ммоль) в ДМФ (30,0 мл) грели при 60°C в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали, разбавляли водой и экстрагировали EtOAc (3×). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенную смесь очищали путем хроматографии на силикагеле (ДХМ/Et₂O/MeOH) с получением метил-6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотината. ЖХМС-ИЭР⁺ (т/з): [M+H]⁺ вычислено: 636,07; установлено: 635,96.

Стадия 6: 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота (пример 3).

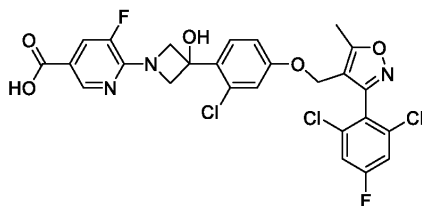
К раствору метил-6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотината (364 мг, 0,571 ммоль) в смеси ТГФ/вода (1:1, 20,0 мл) добавляли моногидрат гидроксида лития (41,3 мг, 0,984 ммоль). Раствор перемешивали в течение 18 ч, концентрировали для удаления ТГФ и разбавляли водой (10,0 мл). Регулировали pH до 3 с применением 1 н. раствора HCl. Твердые вещества отфильтровывали, промывали водой, растворяли в смеси АЦН/вода и лиофилизировали с получением 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновой кислоты (пример 3). ЖХМС-ИЭР⁺ (т/з): [M+H]⁺ вычислено: 622,05; установлено: 622,12. ¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,84 (шир. s, 1H), 8,44 (t, J=1,7 Гц, 1H), 7,79 - 7,63 (m, 3H), 7,39 (d, J=8,7 Гц, 1H), 6,95 (d, J=2,5 Гц, 1H), 6,77 (dd, J=8,6, 2,6 Гц, 1H), 6,28 (s, 1H), 4,93 (s, 2H), 4,70 (d, J=9,8 Гц, 2H), 4,34 (d, J=9,5 Гц, 2H), 2,50-2,43 (m, 1H), 1,22 - 1,08 (m, 4H).

Промежуточное соединение 4: (3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-5-метилизоксазол-4-ил)метанол



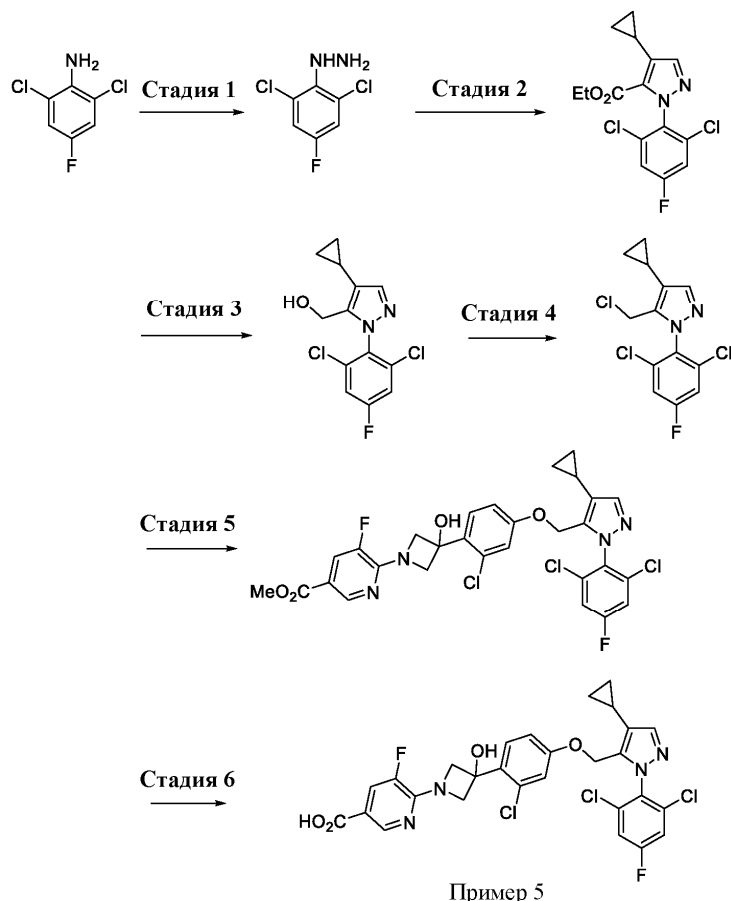
В соответствии с общим синтезом 2, начиная с 2,6-дихлор-4-фторбензальдегида на стадии 1, и с применением этилового эфира ацетоуксусной кислоты на стадии 3 получали (3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-5-метилизоксазол-4-ил)метанол (промежуточное соединение 4). ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено: 276,00; установлено: 276,05.

Пример 4: получение 6-(3-(2-хлор-4-((3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-5-метилизоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновой кислоты



В соответствии с общим способом, описанным для примера 3, с применением промежуточного соединения 4 получали 6-(3-(2-хлор-4-((3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-5-метилизоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновую кислоту. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено: 596,04; установлено: 596,12. ¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,82 (шир. s, 1H), 8,44 (t, J=1,6 Гц, 1H), 7,74 - 7,66 (m, 3H), 7,39 (d, J=8,7 Гц, 1H), 6,90 (d, J=2,6 Гц, 1H), 6,75 (dd, J=8,7, 2,6 Гц, 1H), 6,26 (s, 1H), 4,87 (s, 2H), 4,69 (d, J=9,8 Гц, 2H), 4,34 (d, J=9,8 Гц, 2H), 2,57 (s, 3H).

Пример 5: 6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-1H-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота



Стадия 1: (2,6-дихлор-4-фторфенил)гидразина гидрохлорид.

К охлажденному до -5°C раствору (внутренняя температура, баня жидкий лед/ацетон) 2,6-дихлор-4-фторанилина (3,0 г, 17 ммоль) в 37% хлористоводородной кислоте (30 мл) и трифторуксусной кислоте (20 мл) по каплям добавляли водный раствор нитрита натрия (1,4 г, 20 ммоль, 6 мл воды). Реакционную смесь перемешивали в течение 90 мин, а затем в течение 15 мин добавляли раствор дигидрата хлорида олова (5,6 г, 25 ммоль) в 37% хлористоводородной кислоте (16 мл), поддерживая внутреннюю температуру $\leq 2^{\circ}\text{C}$.

Смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Смесь фильтровали и собранное твердое вещество промывали изопропиловым спиртом и сушили при помощи бытового вакуумного насоса с получением титульного соединения. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ вычислено для $\text{C}_6\text{H}_6\text{Cl}_2\text{FN}_2$: 195,0; установлено: 194,9.

Стадия 2: этил-4-циклопропил-1-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-1Н-пиразол-5-карбоксилат.

N,N-Диметилформамида диметилацеталь (2,7 мл, 20 ммоль) добавляли к этил-3-циклопропил-2-оксопропаноату (Synnovator, 1,6 г, 10 ммоль) и смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Затем смесь концентрировали досуха при пониженном давлении. К остатку добавляли избыточное количество этанола (40 мл), (2,6-дихлор-4-фторфенил)гидразина гидрохлорид (2,6 г, 11 ммоль) и 37% хлористоводородную кислоту (150 мкл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение четырех часов, а затем в течение 2 дней при температуре обратной конденсации. Охлажденную смесь очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением титульного соединения. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ вычислено для $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{FN}_2\text{O}_2$: 343,0; установлено: 343,1.

Стадия 3: (4-циклопропил-1-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метанол.

Раствор этил-4-циклопропил-1-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-1Н-пиразол-5-карбоксилата (1,5 г, 4,4 ммоль) в тетрагидрофуране (50 мл) охлаждали до температуры от -12 до -10°C . По каплям добавляли раствор алюминогидрида лития (Aldrich, 2М раствор в тетрагидрофуране, 2,6 мл, 5,2 ммоль). Смесь перемешивали в течение 35 мин. Реакцию гасили (процедура Физера) и смесь очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением титульного соединения. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ вычислено для $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{FN}_2\text{O}$: 301,0; установлено: 301,1.

Стадия 4: 5-(хлорметил)-4-циклопропил-1-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-1Н-пиразол.

Тионилхлорид (110 мкл, 1,5 ммоль) добавляли к раствору (4-циклопропил-1-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метанола (0,15 г, 0,51 ммоль) в дихлорметане (2,5 мл). Смесь грели при 60°C в течение 40 мин, а затем концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного целе-

вого продукта, который применяли без дополнительной очистки. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₁₃H₁₁Cl₃FN₂: 319,0; установлено: 319,1.

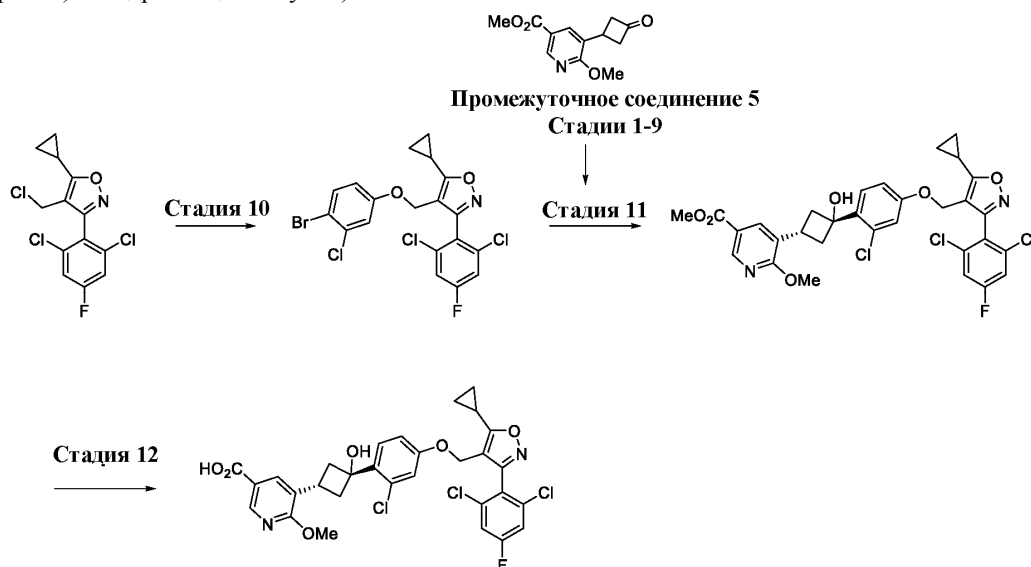
Стадия 5: метил-6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинат.

Раствор 4-(хлорметил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазола (0,16 г, 0,51 ммоль) в ДМФ (3 мл) обрабатывали метил-6-(3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинатом (0,20 г, 0,56 ммоль), йодидом натрия (0,13 г, 0,86 ммоль) и карбонатом калия (0,14 г, 1,0 ммоль). Смесь грели при 65°C в течение ночи, а затем очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением целевого материала. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₂₉H₂₄Cl₃F₂N₄O₄: 635,1; установлено: 635,2.

Стадия 6: 6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота (пример 5).

Смесь метил-6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотината (0,35 г, 0,39 ммоль) и моногидрата гидроксида лития (49 мг, 1,2 ммоль) растворяли в 1:1 водном растворе тетрагидрофурана (6 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре. После завершения реакции смесь подкисляли ледяной уксусной кислотой и концентрировали. Остаток очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением 6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлор-4-фторфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновой кислоты (пример 5). ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₂₈H₂₂Cl₃F₂N₄O₄: 621,1; установлено: 621,2. ¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,85 (s, 1H), 8,44 (t, J=1,6 Гц, 1H), 7,76 (d, J=8,3 Гц, 2H), 7,70 (dd, J=12,7, 1,7 Гц, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,40 (d, J=8,7 Гц, 1H), 7,00 (d, J=2,6 Гц, 1H), 6,80 (dd, J=8,7, 2,6 Гц, 1H), 6,28 (s, 1H), 5,01 (s, 2H), 4,69 (d, J=9,8 Гц, 2H), 4,34 (d, J=9,6 Гц, 2H), 1,89 (tt, J=8,4, 5,1 Гц, 1H), 0,93 (m, 2H), 0,65 (m, 2H).

Пример 6: 5-((1S,3S)-3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксициклобутил)-6-метоксиникотиновая кислота



Получение промежуточного соединения 5.

Стадия 1: (5-бром-6-метоксипиридин-3-ил)метанол



К раствору метил-5-бром-6-метоксиникотината (52,8 г, 215,0 ммоль) в ТГФ (500 мл) добавляли DI-BAL-H (1,0М раствор в толуоле) (344 мл, 344 ммоль) при -20°C. Затем смесь перемешивали при КТ в течение 2 ч. Реакцию гасили нас. раствором NH₄Cl и смесь разбавляли этилацетатом. Органическую часть промывали солевым раствором, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали при пониженном давлении и очищали путем флэш-хроматографии на силикагеле (ПЭ/ЕтОАс=4/1) с получением титупного соединения.

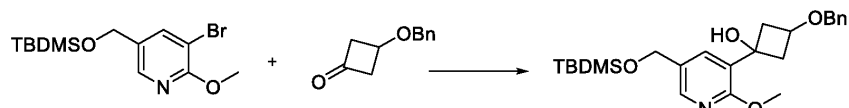
Стадия 2: 3-бром-5-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)-2-метоксипиридин



К раствору (5-бром-6-метоксипиридин-3-ил)метанола (42,2 г, 194 ммоль) и трет-бутилдиметил-

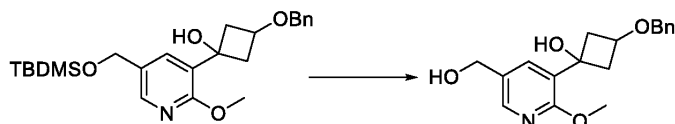
силилхлорида (35,0 г, 232 ммоль) в CH_2Cl_2 (500 мл) добавляли имидазол (19,8 г, 291 ммоль). Смесь перемешивали при КТ в течение 8 ч. Реакцию гасили водой и смесь разбавляли этилацетатом. Органическую часть промывали солевым раствором, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали, концентрировали при пониженном давлении и очищали путем флэш-хроматографии на силикагеле (ПЭ/ЕtОAc=10/1) с получением титульного соединения.

Стадия 3: 3-(бензилокси)-1-(5-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)-2-метоксипиридин-3-ил)циклобутан-1-ол



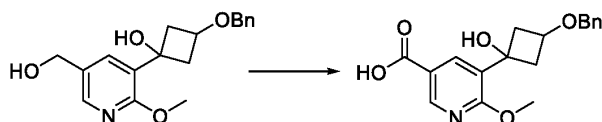
3-Бром-5-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)-2-метоксипиридин (61,2 г, 184 ммоль) растворяли в абсолютном ТГФ (500 мл) в атмосфере аргона, по каплям добавляли 1,6М раствор н-бутиллития (138 мл, 221 ммоль) в ТГФ при -78°C . Смесь перемешивали в течение 30 мин при той же температуре. Затем добавляли раствор 3-(бензилокси)циклобутан-1-она (35,7 г, 202 ммоль) в ТГФ (100 мл) при -78°C , а затем смесь перемешивали при указанной температуре в течение 30 мин. Затем добавляли насыщенный водный раствор хлорида аммония и смесь экстрагировали этилацетатом. Органическую фазу промывали водой и насыщенным раствором хлорида натрия, сушили над сульфатом магния и фильтровали. После удаления растворителя на роторном испарителе остаток очищали путем флэш-хроматографии на силикагеле (ПЭ/ЕtОAc=2/1) с получением титульного соединения.

Стадия 4: 3-(бензилокси)-1-(5-(гидроксиметил)-2-метоксипиридин-3-ил)циклобутан-1-ол



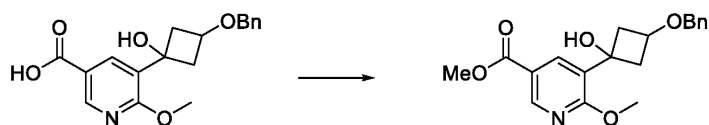
К раствору 3-(бензилокси)-1-(5-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)-2-метоксипиридин-3-ил)циклобутан-1-ола (31,6 г, 73,6 ммоль) в ТГФ (300 мл) добавляли ТБАФ (88 мл, 1 моль/л). Смесь перемешивали при КТ в течение 6 часов, а затем погружали в воду и экстрагировали этилацетатом. Органическую фазу промывали водой и насыщенным раствором хлорида натрия, сушили над сульфатом магния и фильтровали. Органическую фазу концентрировали с получением титульного соединения.

Стадия 5: 5-(3-(бензилокси)-1-гидроксициклобутил)-6-метоксиникотиновая кислота



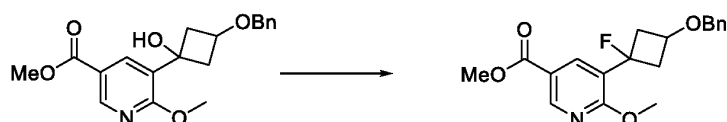
К раствору 3-(бензилокси)-1-(5-(гидроксиметил)-2-метоксипиридин-3-ил)циклобутан-1-ола (23,2 г, 73,6 ммоль) в MeCN (300 мл) и H_2O (100 мл) добавляли йодбензол диацетат (64,4 г, 200 ммоль) и TEMPO (7,86 г, 50 ммоль) и раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакцию гасили нас. раствором бикарбоната натрия и смесь разбавляли этилацетатом. Органическую часть промывали солевым раствором, сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали; органическую фазу концентрировали с получением титульного соединения.

Стадия 6: метил-5-(3-(бензилокси)-1-гидроксициклобутил)-6-метоксиникотинат



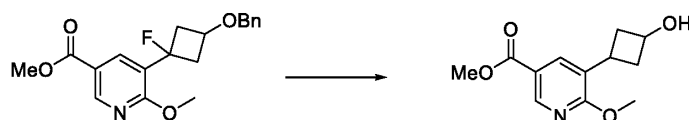
К раствору 5-(3-(бензилокси)-1-гидроксициклобутил)-6-метоксиникотиновой кислоты (17,5 г, неочищенной) в смеси ТГФ/MeOH (200/50 мл) добавляли TMSN_2CH_3 (50 мл, 20 моль/л) при 0°C . Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч, а затем погружали в воду и экстрагировали этилацетатом. Органическую фазу промывали водой и насыщенным раствором хлорида натрия, сушили над сульфатом магния и фильтровали. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и очищали путем флэш-хроматографии на силикагеле (ПЭ/ЭА=10:1) с получением титульного соединения.

Стадия 7: метил-5-(3-(бензилокси)-1-фторциклобутил)-6-метоксиникотинат



К охлажденному раствору метил-5-(3-(бензилокси)-1-гидроксициклобутил)-6-метоксиникотината (15,2 г, 44,3 ммоль) в ДХМ (200 мл) по каплям через шприц добавляли ДАСТ (8,0 мл) при -78°C . После перемешивания в течение 5 мин при -78°C реакционную смесь оставляли нагреваться до -20°C и перемешивали в течение 75 мин, а затем реакцию гасили H_2O (100 мл), смесь разбавляли EtOAc и фазы разделяли. Органическую фазу промывали нас. вод. раствором NaHCO_3 и соевым раствором, а затем сушили над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали путем хроматографии (ПЭ: EtOAc =4:1) с получением титульного соединения.

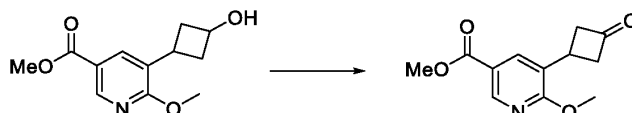
Стадия 8: метил-5-(3-гидроксициклобутил)-6-метоксиникотинат



К раствору метил-5-(3-(бензилокси)-1-фторциклобутил)-6-метоксиникотината (12,7 г, 3,68 ммоль) в MeOH (200 мл) и муравьиной кислоте (10 мл) добавляли катализатор Pd black (3,0 г). Реакционную смесь энергично перемешивали в атмосфере N_2 . Через примерно 1,5 ч добавляли еще катализатора Pd black (1,5 г) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь фильтровали и концентрировали.

Остаток растворяли в EtOAc и промывали нас. раствором Na_2CO_3 . Органическую фазу сушили над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали до маслянистого остатка. Остаток очищали путем хроматографии ($\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2=1:20$) с получением титульного соединения.

Стадия 9: метил-6-метокси-5-(3-оксоциклобутил)никотинат (промежуточное соединение 5)



К раствору метил-5-(3-гидроксициклобутил)-6-метоксиникотината (4,0 г, 16,9 ммоль) в MeCN (100 мл) и H_2O (30 мл) добавляли одбензол диацетат (16,1 г, 50 ммоль) и TEMPO (2,92 г, 18,6 ммоль) и раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакцию гасили нас. раствором Na_2CO_3 , а затем смесь разбавляли этилацетатом. Органическую часть промывали соевым раствором, сушили над безводным сульфатом натрия и фильтровали, органическую фазу концентрировали и очищали путем хроматографии (ПЭ: ЭА =5:1) с получением промежуточного соединения 5.

Стадия 10: 4-((4-бром-3-хлорфенокси)метил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол.

Раствор неочищенного 4-(хлорметил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазола (полученного, как описано в примере 2, стадия 2; 0,42 г, 1,3 ммоль) в N,N -диметилформамиде (ДМФ, 6 мл) обрабатывали 4-бром-3-хлорфенолом (0,27 г, 1,3 ммоль), йодидом натрия (0,34 г, 2,2 ммоль) и карбонатом калия (0,37 г, 2,6 ммоль). Смесь грели при 60°C в течение 35 мин, а затем охлаждали и очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением целевого материала. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычислено для $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{BrCl}_3\text{FNO}_2$: 491,9; установлено: 492,0.

Стадия 11: метил-5-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксициклобутил)-6-метоксиникотинат.

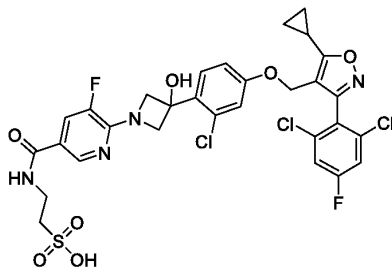
В атмосфере аргона раствор 4-((4-бром-3-хлорфенокси)метил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазола (0,83 г, 1,7 ммоль) в 2-метилтетрагидрофуране (2 мл) обрабатывали раствором хлорид изопропилмагния/хлорид лития (Aldrich, 1,3М раствор в тетрагидрофуране, 1,3 мл, 1,7 ммоль) путем добавления по каплям через шприц. Через четыре часа добавляли дополнительный объем раствора хлорид изопропилмагния/хлорид лития (1,3 мл). В отдельном сосуде в атмосфере аргона раствор метил-6-метокси-5-(3-оксоциклобутил)никотината (промежуточное соединение 5, 0,21 г, 0,90 ммоль) в тетрагидрофуране (5 мл) обрабатывали раствором хлорид лантана (III)/2 части хлорида лития (Aldrich, 0,6М раствор в тетрагидрофуране, 1,5 мл, 0,9 ммоль). Указанную смесь перемешивали в течение одного часа при комнатной температуре, а затем охлаждали на -8°C бане жидкий лед/ацетон. Указанный выше раствор Гриньяра по каплям через шприц добавляли к раствору кетона. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи в атмосфере аргона. Реакцию гасили насыщенным водным раствором хлорида аммония. Водную фазу три раза экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои один раз промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом магния, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный остаток очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением титульного соединения. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычислено для $\text{C}_{31}\text{H}_{27}\text{Cl}_3\text{FN}_2\text{O}_6$: 647,1; установлено: 647,1.

Стадия 12: 5-((1S,3S)-3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксициклобутил)-6-метоксиникотиновая кислота (пример 6).

Смесь метил-5-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксициклобутил)-6-метоксиникотината (0,26 г, 0,40 ммоль) и моногидрата гидроксида

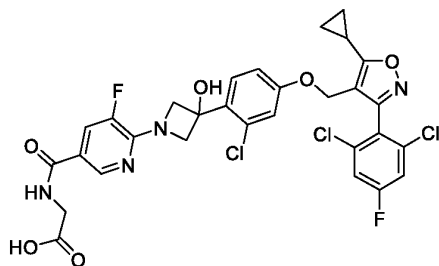
лития (33 мг, 0,79 ммоль) растворяли в 1:1 водном растворе тетрагидрофурана (10 мл) и смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Летучие соединения преимущественно удаляли при пониженном давлении. Водную смесь разбавляли водой и по каплям добавляли 10% водный раствор хлористоводородной кислоты. Полученную смесь три раза экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (с небольшим количеством добавленной хлористоводородной кислоты). Объединенные органические слои сушили над безводным сульфатом магния, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали сперва путем флэш-хроматографии (силикагель), а затем путем препаративной ВЭЖХ (ацетонитрил/вода, ТФК). Объединенные фракции, собранные путем ВЭЖХ, нейтрализовывали насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия, насыщенным хлоридом натрия, и три раза экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои сушили над безводным сульфатом магния, фильтровали и концентрировали. Остаток растворяли в этилацетате, обрабатывали безводным сульфатом магния, фильтровали и концентрировали. Остаток снова растворяли в этилацетате и фильтровали через слой целита, диатомовой земли. Фильтрат концентрировали с получением 5-((1S,3S)-3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксициклобутил)-6-метоксиникотиновой кислоты (пример 6). ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₃₀H₂₅Cl₃FN₂O₆: 633,1; установлено: 633,1. ¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 13,00 (шир. s, 1H), 8,58 (d, J=2,2 Гц, 1H), 8,13 (dd, J=2,3, 0,8 Гц, 1H), 7,72 (d, J=8,5 Гц, 2H), 7,51 (d, J=8,7 Гц, 1H), 6,94 (d, J=2,6 Гц, 1H), 6,79 (dd, J=8,7, 2,6 Гц, 1H), 4,94 (s, 2H), 3,90 (s, 3H), 3,15 - 3,03 (m, 2H), 2,91 (p, J=8,8 Гц, 1H), 2,49 - 2,41 (m, 1H), 2,41 - 2,30 (m, 2H), 1,21 - 1,09 (m, 4H).

Пример 7: 2-(6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинамидо)этан-1-сульфоная кислота



Раство 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновой кислоты (пример 3, 0,11 г, 0,18 ммоль) в ДМФ (4 мл) обрабатывали НАТУ (1-[бис(диметиламино)метиле]н-1Н-1,2,3-триазоло[4,5-б]пиридиний-3-оксида гексафторфосфат, 0,10 г, 0,27 ммоль), а затем таурином (34 мг, 0,27 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламино (90 мкл, 0,54 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, а затем очищали путем препаративной ВЭЖХ (вода/ацетонитрил/ТФК). Объединенные фракции обрабатывали раствором гидроксида аммония и концентрировали с получением 2-(6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинамидо)этан-1-сульфоной кислоты (пример 7) в виде аммонийной соли. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₃₀H₂₆Cl₃F₂N₄O₇S: 729,1; установлено: 729,2. ¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,34 (m, 2H), 7,73 - 7,61 (m, 3H), 7,37 (d, J=8,6 Гц, 1H), 7,29 - 6,95 (m, 4H), 6,92 (d, J=2,5 Гц, 1H), 6,75 (dd, J=8,6, 2,5 Гц, 1H), 6,22 (s, 1H), 4,90 (s, 2H), 4,63 (d, J=9,6 Гц, 2H), 4,29 (d, J=9,6 Гц, 2H), 3,46 (q, J=6,5 Гц, 2H), 2,63 (t, J=7,3 Гц, 2H), 2,45 - 2,38 (m, 1H), 1,16 (dt, J=8,5, 3,1 Гц, 2H), 1,10 (dt, J=5,4, 2,9 Гц, 2H).

Пример 8: (6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиноил)глицин



Стадия 1: метил-(6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиноил)глицинат.

Раствор 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновой кислоты (пример 3, 0,12 г, 0,19 ммоль) в ДМФ (4 мл) обрабатывали НАТУ (1-[бис(диметиламино)метиле]н-1Н-1,2,3-триазоло[4,5-б]пиридиний-3-оксида гек-

сафторфосфат, 0,11 г, 0,29 ммоль), а затем гидрохлоридом сложного метилового эфира глицина (36 мг, 0,29 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламином (100 мкл, 0,58 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, а затем реакцию гасили насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия. Водную фазу два раза экстрагировали этилацетатом. Объединенные экстракты один раз промывали 1:1 смесью насыщенного водного раствора хлорида натрия/насыщенного водного раствора гидрокарбоната натрия, сушили над безводным сульфатом магния, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением целевого продукта, который применяли без дополнительной очистки. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₃₁H₂₆Cl₃F₂N₄O₆: 693,1; установлено: 693,2.

Стадия 2: (6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиноил)глицин (пример 8).

Смесь неочищенного метил-(6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиноил)глицината (примерно 0,19 ммоль) и моногидрата гидроксида лития (38 мг, 0,91 ммоль) в водном растворе тетрагидрофурана (2:1, 3 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 3,5 ч. Летучий растворитель удаляли при пониженном давлении. Остаток разбавляли водой и подкисляли до pH 1 10% водным раствором хлористоводородной кислоты. Кислую водную смесь три раза экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические экстракты один раз промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом магния, фильтровали и концентрировали досуха при пониженном давлении. Остаток очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением (6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиноил)глицина (пример 8). ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₃₀H₂₄Cl₃F₂N₄O₆: 679,1; установлено: 679,3. ¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,68 (s, 1H), 8,68 (t, J=5,8 Гц, 1H), 8,44 (t, J=1,7 Гц, 1H), 7,80 (dd, J=13,2, 1,8 Гц, 1H), 7,71 (d, J=8,5 Гц, 2H), 7,39 (d, J=8,7 Гц, 1H), 6,95 (d, J=2,5 Гц, 1H), 6,77 (dd, J=8,6, 2,6 Гц, 1H), 6,26 (s, 1H), 4,93 (s, 2H), 4,66 (d, J=9,5 Гц, 2H), 4,32 (d, J=9,3 Гц, 2H), 3,87 (d, J=5,8 Гц, 2H), 2,48 - 2,42 (частично скрыт ДМСО, m, 1H), 1,16 (m, 4H).

Пример 9: FRET анализ активности.

Определение опосредованного лигандом взаимодействия кофактора и пептида для количественной оценки связывания лиганда с ядерным рецептором FXR проводили следующим образом.

Подготовка лиганд-связывающего домена FXR-альфа человека: LBD FXR-альфа человека экспрессировали в штамме BL21 (DE3) E. coli как гибридный белок, помеченный N-концевой GST. ДНК, кодирующую лиганд-связывающий домен FXR, клонировали в вектор pDEST15 (Invitrogen). Экспрессию контролировали индуцируемым ИПТГ промотором T7. Аминокислотными границами лиганд-связывающего домена являлись 187-472 аминокислоты из базы данных NM_005123 (RefSeq). Экспрессия и очистка FXR-LBD: предварительно культивированную в течение ночи культуру трансформированного штамма E.coli разбавляли в отношении 1:20 в среде LB с ампициллином и выращивали при 30°C до оптической плотности OD₆₀₀=0,4-0,6. Затем индуцировали экспрессию гена путем добавления 0,5 mM ИПТГ. Клетки инкубировали в течение дополнительных 6 ч при 30°C, 180 об/мин. Клетки собирали путем центрифугирования (7000×g, 7 мин, КТ). Клетки повторно ресуспендировали в 10 мл буфера для лизиса (50 mM глюкозы, 50 mM Трис pH 7,9, 1 mM ЭДТА и 4 мг/мл лизоцима) на литр исходной клеточной культуры и оставляли во льду на 30 мин. Затем клетки обрабатывали ультразвуком и удаляли клеточный дебрис путем центрифугирования (22000×g, 30 мин, 4°C). На 10 мл надосадочной жидкости добавляли 0,5 мл предварительно промытой глутатион-4В-сефарозной суспензии (Qiagen) и полученную суспензию продолжали медленно вращать в течение 1 ч при 4°C. Глутатион-4В-сефарозные шарики осаждали путем центрифугирования (2000×g, 15 с, 4°C) и два раза промывали в промывочном буфере (25 mM Трис, 50 mM KCl, 4 mM MgCl₂ и 1M NaCl). Осадок ресуспендировали в 3 мл элюирующего буфера на литр исходной культуры (элюирующий буфер: 20 mM Трис, 60 mM KCl, 5 mM MgCl₂ и 80 mM глутатиона, добавленного в виде порошка непосредственно перед применением). Суспензию оставляли вращаться в течение 15 мин при 4°C, шарики осаждали и снова элюировали половиной объема элюирующего буфера по сравнению с первым разом. Элюаты объединяли и подвергали диализу в течение ночи в 20 mM буфере Нерес (pH 7,5), содержащем 60 mM KCl, 5 mM MgCl₂, а также 1 mM дитиотреитола и 10% об./об. глицерина. Белок анализировали путем ДНС-ПААГ.

Способ позволяет измерять способность предполагаемых лигандов модулировать взаимодействие между очищенным лиганд-связывающим доменом (LBD) FXR, экспрессируемого бактериями, и синтетическим биотинилированным пептидом на основе остатков 676-700 SRC-1 (LCD2, 676-700). Последовательность применяемого пептида представляла собой B-CPSSSHSLTERHKILHRLQLQEGSPS-COOH (SEQ ID NO: 1), где N-конец являлся биотинилированным (B). Лиганд-связывающий домен (LBD) FXR экспрессировали как гибридный белок с GST в клетках BL-21 с использованием вектора pDEST15. Клетки лизировали ультразвуком и гибридные белки очищали при помощи глутатион-сефарозы (Pharmacia) в соответствии с инструкциями производителя. Для определения влияния соединений на взаимодействие FXR и пептида применяли технологию Perkin Elmer LANCE. Указанный способ основан на зависимой от связывания передаче энергии от донора к акцептору флуорофора, присоединенного к интересующему

партнеру связывания. Для простоты обработки и снижения фона от соединений во флуоресцентной технологии LANCE применяют универсальные флуорофорные метки и детектирование с временным разрешением. Анализы проводили в конечном объеме 25 мкл в 384-луночном планшете в буфере на основе Трис (20 мМ Трис-НСl pH 7,5; 60 мМ KCl, 5 мМ MgCl₂; 35 нг/мкл БСА), содержащем 20-60 нг/луночка рекомбинантно экспрессированного FXR-LBD, слитого с GST, 200-600 нМ N-концевого биотинилированного пептида, представляющего 676-700 аминокислоты SRC1, 200 нг/луночка конъюгата стрептавидин-xLAPC (прозим) и 6-10 нг/луночка Eu W1024 - анти-GST (Perkin Elmer). Содержание ДМСО в образцах поддерживали на уровне 1%. После получения смеси для анализа и разбавления лигандов, потенциально модулирующих FXR, смесь для анализа оставляли для установления равновесия на 1 ч в темноте при КТ в черных 384-луночных планшетах для ФИА (Greiner). Сигнал LANCE детектировали при помощи многофункционального счетчика Perkin Elmer VICTOR2VTM. Результаты визуализировали путем построения графика отношения испускаемого света при 665 и 615 нм. Базальный уровень образования комплекса FXR-пептид наблюдали при отсутствии добавленного лиганда. Лиганды, которые способствуют образованию комплекса, вызывают зависимое от концентрации увеличение сигнала флуоресценции с временным разрешением. Ожидают, что соединения, которые одинаково хорошо связываются как с мономерным FXR, так и с комплексом FXR-пептид, не приведут к изменению сигнала, тогда как лиганды, которые связываются преимущественно с мономерным рецептором, будут вызывать зависимое от концентрации снижение наблюдаемого сигнала.

Для оценки агонистического потенциала соединений определяли значения EC₅₀ для соединений, приведенных в примерах и представленных ниже в таблице 2 (FRET EC₅₀).

Пример 10. Анализ одноклеточной системы млекопитающих (M1H).

Определение опосредованной лигандом трансактивации, управляемой промотором Gal4, для количественной оценки опосредованной связыванием лиганда активации FXR проводили следующим образом.

Часть к ДНК кодирующая лиганд-связывающий домен FXR, клонировали в вектор pCMV-BD (Stratagene) в виде гибрида с ДНК-связывающим доменом дрожжей GAL4 под контролем промотора CMV. Аминокислотными границами лиганд-связывающего домена являлись 187-472 аминокислоты из базы данных NM_005123 (RefSeq). Плазмиду pFR-Luc (Stratagene) применяли в качестве репортерной плазмиды, содержащей синтетический промотор с пятью тандемными повторами в дрожжевых GAL4-связывающих сайтах, управляющий экспрессией гена люциферазы *Photinus pyralis* (американский светлячок), в качестве репортерного гена. Для повышения точности эксперимента плазмиду pRL-CMV (Promega) котрансфицировали. pRL-CMV содержит конститутивный CMV промотор, контролирующий экспрессию люциферазы *Renilla reniformis*. Все анализы Gal4 репортерного гена проводили в клетках HEK293 (полученных из DSMZ, Braunschweig, Germany), выращенных в MEM с L-глутамином и ССР Эрла, дополненным 10% фетальной бычьей сывороткой, 0,1 мМ заменимыми аминокислотами, 1 мМ пируватом натрия и 100 единицами пеницилин/стрептавидин на мл при 37°C в 5% атмосфере CO₂. Среду и добавки получали из Invitrogen. Для анализа 5×10⁵ клеток на лунку высевали в 96-луночные планшеты в 100 мкл на лунку MEM без фенолового красного и L-глутамин и с ССР Эрла, дополненным ФБС (HyClone, South Logan, Utah), обработанной 10% уголь/декстран, 0,1 мМ заменимыми аминокислотами, 2 мМ глутамином, 1 мМ пируватом натрия и 100 единицами пеницилин/стрептавидин на мл, и инкубировали при 37°C в 5% атмосфере CO₂. На следующий день клетки демонстрировали >90% слияния. Среду удаляли и клетки временно трансфицировали с применением 20 мкл на лунку OptiMEM - трансфекционного реагента на основе полиэтиленимина (OptiMEM, Invitrogen; Polyethyleneimine, Aldrich кат. № 40827-7), включая три плазмиды, описанные выше. MEM с тем же составом, что и для посева клеток, добавляли через 2-4 ч после добавления трансфекционной смеси. Затем добавляли маточные растворы соединений, предварительно разбавленные в MEM (конечная концентрация носителя не превышала 0,1%). Клетки инкубировали в течение дополнительных 16 ч перед последовательным измерением активности люцифераз светлячка и *renilla* в том же клеточном экстракте с применением системы Dual-Light-Luciferase-Assay system (Dyer et al., Anal. Biochem. 2000, 282, 158-161). Все эксперименты проводили трижды.

Для оценки агонистической активности соединений, приведенных в примерах, в отношении FXR активность определяли в M1H анализе, и результаты приведены ниже в табл. 2 (M1H EC₅₀).

Таблица 2

Пример	FRET EC ₅₀ (нМ)	M1H EC ₅₀ (нМ)
1	263	3000
2	25	831
3	7,4	3,8
4	35	176
5	18	8,6
6	49	353
7	6,9	1696
8	8,1	1264

Пример 11. Идентификация метаболитов в микросомах печени человека.

Исследование метаболической стабильности примера 3 и примера сравнения 1 в микросомах печени человека проводили в соответствии со следующей процедурой. Микросомы печени человека (35 мкл с концентрацией белка 20 мг/мл), 350 мкл 100 мМ калий-фосфатного буфера (pH 7,4), 245 мкл деионизированной воды и 0,7 мкл маточного раствора соединения (5 мМ) объединяли в 1,5 мл пробирке для микроцентрифугирования.

Пробирку герметизировали и осторожно перемешивали на вертексе в течение 10 с, а затем помещали в термомиксер Eppendorf ThermoMixer C и предварительно нагревали до 37°C со встряхиванием при 1100 об/мин в течение 5 мин.

При встряхивании добавляли раствор НАДФ (70 мкл; 10 мМ раствор в воде), смесь несколько раз аспирировали пипеткой и 200 мкл переносили в другую 1,5 мл пробирку для микроцентрифугирования, расположенную во льду и содержащую 200 мкл холодного ацетонитрила. Указанную аликвоту перемешивали на вертексе при высокой скорости в течение 10 с, а затем помещали в лед. Через 30 и 60 мин отбирали дополнительные 200 мкл аликвоты и переносили в другие 1,5 мл пробирки для микроцентрифугирования, расположенные во льду и содержащие 200 мкл холодного ацетонитрила. Пробирки перемешивали на вертексе при высокой скорости в течение 10 с, а затем помещали в лед.

Охлажденные аликвоты центрифугировали при 14300 об/мин в микроцентрифуге в течение 10 мин при 10°C, а затем надосадочную жидкость переносили в 96-луночный планшет с глубокими лунками (1 мл) и герметизировали силиконовым матом. Образец переносили в охлаждающий отсек автодозатора (температуру устанавливали на 10°C) и 20 мкл вводили в масс-спектрометр Thermo Elite Orbitrap. 20 мкл образцы анализировали путем СВЭЖХ-МС для идентификации и количественного определения метаболитов (СВЭЖХ с бинарным насосом Agilent 1290 G4220 и колоночным термостатом Agilent G1316 TCC; колонку Waters Acquity UPLC BEH C18 (размер пор 130 Å, размер частиц 1,7 мкм, 2,1×50 мм), выдерживаемая при 40°C; диодная матрица Agilent 1290 G4212 DAD с диапазоном длин волн от 190 до 400 нм; масс-спектрометр Thermo Electron Orbitrap Elite в режиме FTMS с регистрацией положительных ионов).

Конечная концентрация микросомального белка: 1 мг/мл.

Конечная концентрация НАДФ: 1 мМ.

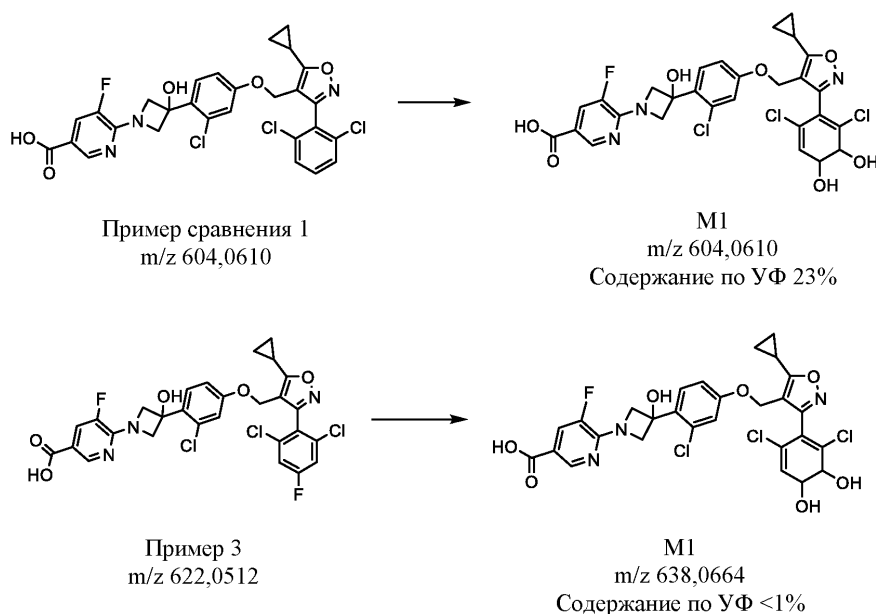
Конечная концентрация субстрата: 5 мкМ.

Контрольные моменты времени: 0, 30, 60 мин.

Инкубируемый объем в каждый контрольный момент времени: 200 мкл.

Было обнаружено, что пример сравнения 1, прямой компаратор примера 3, в котором отсутствует 4-фторфенильный заместитель, присутствующий в соединениях, описанных в настоящем документе, метаболизируется с получением диольного соединения (M1) в условиях, описанных выше (схема 1). Включение 4-фторзаместителя ингибирует образование метаболита M1 в тех же условиях.

Схема 1



Пример 12. Оценка фармакодинамики *in vivo* у макак-крабоедов.

Фармакодинамику *in vivo* типичного соединения формулы (I) и соединения из примера сравнения определяли следующим образом.

Испытуемый образец и его получение.

Дозы суспензий типичного соединения формулы (I) (пример 3) и примера сравнения 2 (пример 13/9 в патенте США № 9139539) для перорального применения готовили в концентрациях 2, 6, 20 и 60 мг/мл

в водных суспензиях 0,5% натрий-карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ), 1% этанола и 98,5% 50 мМ Трис-буфера при pH 8.

Животные.

Каждая дозовая группа состояла из трех самцов макак-крабоедов. При дозировании животные имели массу от 2,5 до 4,4 кг.

Дозирование.

Испытуемые образцы вводили обезьянам через желудочный зонд в дозе 5 мл/кг. Перед изъятием желудочный зонд промывали примерно 10 мл воды.

Отбор образцов.

Образцы венозной крови каждого из животных отбирали в заданные контрольные моменты времени после дозирования. Образцы крови собирали и переносили в пробирки, содержащие антикоагулянт, калиевую соль (K₂) ЭДТА.

Определение концентраций FGF19 в плазме.

Для определения концентраций FGF19 в собранных образцах крови применяли набор для анализа FGF19 ELISA производства BioVendor (номер продукта RD191107200R).

Определение концентрации лекарственного средства в плазме 50 мкл аликвоты каждого из образцов плазмы, полученных в 10 и 30 мг/кг дозовых группах, и образцы в t=0, полученные в 100 и 300 мг/кг группах, обрабатывали 200 мкл ацетонитрила (АЦН), содержащего внутренний стандарт. 25 мкл аликвоты остальных образцов, полученных в 100 мг/кг группе, объединяли с 25 мкл контрольной плазмы для разбавления в отношении 1:2 и обрабатывали 200 мкл ацетонитрила (АЦН), содержащего внутренний стандарт. 10 мкл аликвоты остальных образцов, полученных в 300 мг/кг группе, объединяли с 40 мкл контрольной плазмы для разбавления в отношении 1:5 и обрабатывали 200 мкл ацетонитрила (АЦН), содержащего внутренний стандарт. Указанные выше растворы центрифугировали при 5000 об/мин в течение 10 мин и 50 мкл надосадочной жидкости переносили в чистый 96-луночный планшет с последующим добавлением 200 мкл воды. 10 мкл аликвоты вводили в систему ЖХ/МС/МС API 5000. Образцы, превышающие диапазон калибровки прибора, разбавляли и повторно анализировали.

Условия ВЭЖХ.

Использовали колонку для ВЭЖХ Zorbax Extend C18 (50×2,1 мм, 3,5 мкм) производства Agilent Technologies (продукт № 735700-902). Подвижная фаза А содержала водный раствор 1% ацетонитрила в 10 мМ формиате аммония, доведенный до pH 3,0 муравьиной кислотой. Подвижная фаза В содержала 10% раствор 10 мМ формиата аммония в ацетонитриле, доведенном до pH 5,2 муравьиной кислотой. Для элюирования и разделения применяли мультиплексор Thermo Aria с двумя идентичными бинарными насосами Agilent серии 1200 (P/N G1312A Bin Pump). Применяемая программа элюирования приведена в следующей табл. 3.

Таблица 3

<i>Время (сек)</i>	<i>Стадия</i>	<i>Расход (мл/мин)</i>	<i>Подвижная фаза А (%)</i>	<i>Подвижная фаза В (%)</i>
30	Загрузка образца	0,50	85	15
180	Постепенное изменение состава элюента	0,50	50	50
90	Постепенное изменение состава элюента	0,50	99	1
60	Элюирование	0,50	99	1
120	Восстановление равновесия	0,50	85	15

Тройной квадрупольный масс-спектрометр API 5000 производства AB Sciex, Foster City, CA, применяли в режиме мониторинга множественных реакций для количественного определения соединений. Применяемые параметры масс-спектрометрии приведены в следующей табл. 4.

Таблица 4

Источник ионов	Напряжение распыления (В)	Газ 1 (произ. ед. изм.)	Газ 2 (произ. ед. изм.)	Газ для соударений (произ. ед. изм.)	Температура сушильной камеры (°С)
Турбоионораспылитель	5500	70	50	6	550

Результаты.

Уровни FGF19 сравнивали после перорального введения увеличивающихся доз примера 3 или примера сравнения 2 (от 3 до 300 мг/кг). Для обоих соединений наблюдали зависимое от дозы содержание в плазме и максимальные значения ППК, достигаемые для каждого из соединений при дозе 300 мг/кг, являлись сопоставимыми (фиг. 1). Пример 3 демонстрировал зависимое от дозы увеличение содержания FGF19 в плазме, достигая C_{\max} 16000 пг/мл при самой высокой дозе (фиг. 2). Введение примера сравнения 2 также вызывало увеличение содержания FGF19 в плазме, но максимальный уровень FGF19 являлся значительно более низким (C_{\max} 3000 нг/мл) по сравнению с примером 3. Кроме того, максимальное индустрирование FGF19 примером сравнения 2 достигали при дозе 5 мг/кг; более высокие дозы не обеспечивали дальнейшего увеличения, несмотря на более высокие содержания лекарственного средства в плазме (фиг. 2). Указанный пример демонстрирует, что внутривенное или пероральное введение примера 3 может обеспечивать более высокие уровни FGF19 по сравнению с примером сравнения 2.

Если не указано иное, все технические и научные термины, применяемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно подразумевают специалисты в области техники, к которой относится настоящее изобретение.

Таким образом, понятно, что хотя настоящее изобретение было конкретно представлено предпочтительными вариантами реализации и необязательными отличительными признаками, специалисты в данной области техники могут применять модификацию, улучшение и изменение вариантов реализации, описанных в настоящем документе, и что такие модификации, улучшения и изменения включены в объем настоящего изобретения. Материалы, способы и примеры, представленные в настоящем документе, представляют предпочтительные варианты реализации, приведены в качестве примера и не ограничивают объем настоящего изобретения.

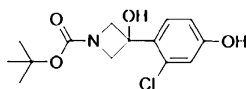
Настоящее изобретение широко и в общем виде было описано в настоящем документе. Каждый из более узких видов и субродовых групп, входящих в обобщенное описание изобретения, также является частью настоящего изобретения. Это включает обобщенное описание настоящего изобретения с условием или отрицательным ограничением, удаляющим любой член из рода, независимо от того, был ли удаляемый материал конкретным образом указан в настоящем документе или нет.

Кроме того, если отличительные признаки или аспекты настоящего изобретения описаны в терминах групп Маркуша, специалистам в данной области техники понятно, что настоящее изобретение также описано в терминах любого отдельного члена или подгруппы членов группы Маркуша.

Понятно, что хотя настоящее изобретение было описано в связи с упомянутыми выше вариантами реализации, приведенные выше описание и примеры предназначены для иллюстрации и не ограничивают объем настоящего изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации в пределах объема настоящего изобретения очевидны для специалистов в области техники, к которой относится настоящее изобретение.

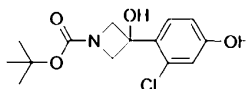
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы

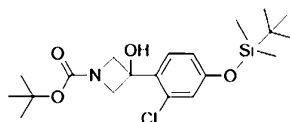


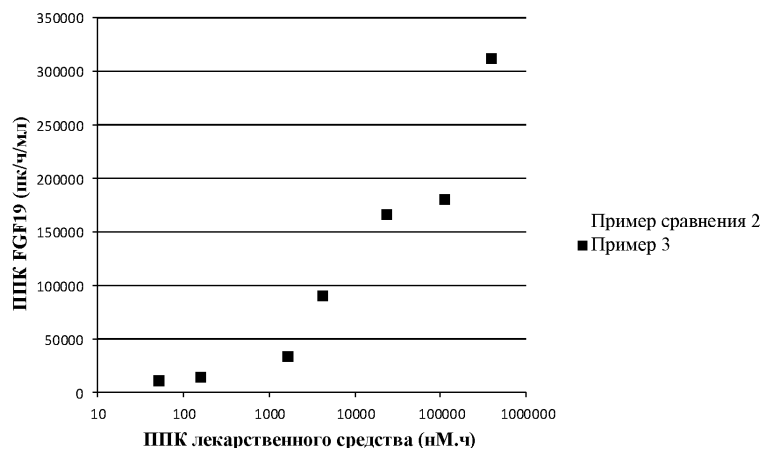
или его соль.

2. Соединение формулы

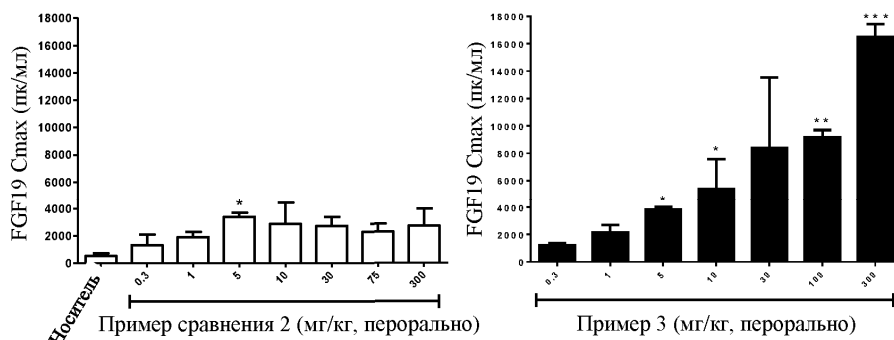


3. Соединение формулы





Фиг. 1



* $p < 0,05$ при 1 мг/кг; ** $p < 0,05$ при 5 мг/кг; *** $p < 0,05$ при 100 мг/кг; один выброс из 10 мг/кг группы примера 3 из-за >3 СКО от среднего.

Фиг. 2



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2