

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046251**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.02.20

(51) Int. Cl. **C07D 413/14** (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61K 31/422 (2006.01)

(21) Номер заявки
202191566

(22) Дата подачи заявки
2020.01.13

(54) **СОЕДИНЕНИЯ, МОДУЛИРУЮЩИЕ FXR (NR1H4)**

(31) **62/792,714**

(32) **2019.01.15**

(33) **US**

(43) **2021.11.01**

(86) **PCT/US2020/013319**

(87) **WO 2020/150136 2020.07.23**

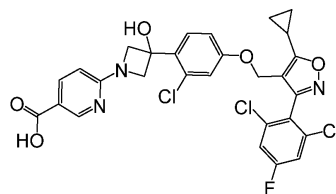
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ДЖИЛИД САЙЕНСИЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Бломгрэн Питер А., Карри Кевин С.,
Фрик Морин Мэй, Хорстман
Элизабет М., Каплан Джошуа А.,
Кропф Джеффри И., Уоткинс Уильям
Дж. (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) **US-A1-2018280394
WO-A1-2018089212
EP-A1-3257847
WO-A1-2018075650**

(57) Изобретение относится к соединениям, которые связываются с FXR и действуют как агонисты FXR. Данное изобретение также относится к применению указанных 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)

046251
B1

046251
B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая патентная заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США № 62/792714, поданной 15 января 2019 г., под названием "СОЕДИНЕНИЯ, МОДУЛИРУЮЩИЕ FXR (NR1H4)", содержание которой полностью включено в настоящий документ.

Перечень последовательностей

Перечень последовательностей, связанных с настоящей заявкой, представлен в текстовом формате вместо бумажной копии и, таким образом, включен в настоящее описание посредством ссылки. Название текстового файла, содержащего перечень последовательностей, представляет собой "1274_SequenceListing". Текстовый файл, созданный 17 декабря 2018, имеет размер примерно 1 килобайт и представлен в электронном виде при помощи EFS-Web.

Область техники

Настоящее изобретение относится к соединениям, которые связываются и действуют как агонисты или модуляторы фарнезоидного рецептора X (FXR), а также действуют как агонисты или модуляторы FXR. Настоящее изобретение также относится к применению указанных соединений для лечения и/или профилактики заболеваний и/или состояний при помощи указанных соединений.

Уровень техники

Фарнезоидный рецептор X (FXR), также часто называемый NR1H4 (ядерный рецептор подсемейства 1, группа H, член 4) в контексте рецептора человека представляет собой ядерный рецептор гормона. FXR связывают с рядом биологических функций. FXR в основном экспрессируется в печени и во всем желудочно-кишечном тракте, но также обнаруживается в почках, в надпочечниках и в яичниках. FXR связан с контролем внутриклеточной экспрессии генов и может быть вовлечен в паракринную и эндокринную передачу сигналов. В кишечнике и печени FXR функционирует как регулятор гомеостаза желчных кислот и печеночного липогенеза. FXR также связывают с клетками Купфера и синусоидальными эндотелиальными клетками печени, где он, как полагают, имеет функции, связанные с воспалением, фиброзом и портальной гипертензией.

Известен ряд агонистов FXR, которые изучаются в связи с рядом физиологических состояний, включая заболевания печени. Агонисты FXR могут быть полезны при стеатозе, дольчатом воспалении, баллонной дистрофии клеток печени и фиброзе.

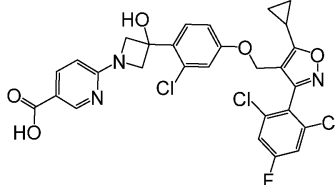
Действие агонистов FXR может приводить к различным эффектам в различных областях в организме. В дистальном тонком кишечнике и системно в таких органах как печень активация FXR непосредственно вызывает экспрессию и секрецию гормона FGF19. FGF19 модулирует желчную кислоту путем понижающего регулирования синтеза желчных кислот, что может быть полезно, например, при таких состояниях, как заболевание печени. Агонисты FXR также связывают с неблагоприятными эффектами, такими как зуд. Такие неблагоприятные эффекты и степень, в которой они проявляются, могут зависеть от места действия агонистов FXR. Например, было высказано предположение, что зуд связан с некишечным агонизмом FXR.

Сохраняется потребность в агонистах FXR с требуемой эффективностью, селективностью и сниженным вредным воздействием.

Краткое описание изобретения

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

В настоящем изобретении предложено соединение формулы (I)



(I),

или его фармацевтически приемлемая соль.

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

Согласно некоторым вариантам реализации предложены твердые формы соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли.

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

Описание графических материалов

На фиг. 1 показан график концентрации FGF19 в плазме с течением времени у яванских макаков после введения дозы соединения из примера 1.

На фиг. 2 показан график концентрации FGF19 в плазме с течением времени у яванских макак после введения дозы соединения из сравнительного примера 1.

На фиг. 3 показан график концентрации FGF19 в плазме с течением времени у яванских макак после введения дозы соединения из сравнительного примера 2.

Фиг. 4 представляет собой порошковую рентгеновскую дифрактограмму Формы I мезилата формулы (I).

Фиг. 5 представляет собой кривую ДСК формы I мезилата формулы (I).

Фиг. 6 представляет собой кривую ТГА формы I мезилата формулы (I).

Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение относится к агонистам FXR. Настоящее изобретение также относится к композициям и способам, относящимся к агонистам FXR, а также к применению таких соединений для лечения и/или профилактики заболеваний и состояний путем связывания FXR указанными соединениями. Настоящее изобретение также относится к композициям и способам лечения и/или предотвращения заболевания печени, включающим агонист FXR в комбинации с одним или более дополнительными терапевтическими агентами.

Агонисты FXR экспрессируются в печени и во всем желудочно-кишечном тракте, где их действие или бездействие может играть роль в одном или более заболеваниях печени, таких как НАСГ, ПСХ и/или фиброз печени. Однако агонисты FXR также обнаружены в других областях организма, и в этом случае их функция может варьироваться. FGF19 является основным целевым геном FXR в эпителиальных клетках подвздошной кишки. Физиологическая активация FXR подвздошной кишки желчными кислотами приводит к секреции FGF19. В печени агонизм FXR и передача сигналов FGF19 имеют перекрывающиеся и различные функции. Например, оба пути подавляют синтез желчных кислот. Агонизм FXR в гепатоцитах опосредованно подавляет многие из тех же ферментов, которые снижаются под действием FGF19.

Агонисты FXR подходят для лечения и профилактики различных состояний, включая заболевание печени. Заболевания печени могут включать острые или хронические повреждения печени, например, в результате инфекции, травмы, аномального накопления нормальных веществ в крови или других причин. Несмотря на то, что известно множество агонистов FXR и родственных аналогов, такие агонисты FXR могут иметь недостатки, включая низкую эффективность, проблемы с метаболизмом и/или нежелательные явления.

В настоящем изобретении раскрыты агонисты FXR и связанные с ними композиции и способы. Агонисты FXR, описанные в настоящем изобретении, могут неожиданно поддерживать хороший терапевтический эффект при минимизации побочных эффектов и проблем с метаболизмом.

В некоторых вариантах реализации агонисты FXR, описанные в настоящем изобретении, могут обладать желательной клеточной активностью. Например, согласно некоторым вариантам реализации высокая клеточная активность может обеспечивать более высокий агонизм FXR при более низких дозах вводимого лекарственного средства по сравнению с соединениями, имеющими более низкую клеточную активность.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены агонисты FXR, которые могут демонстрировать высокие уровни агонизма FXR в желудочно-кишечном тракте со сниженным системным агонизмом FXR. Агонисты FXR, описанные в настоящем изобретении, могут вызывать повышенную секрецию FGF19 при пероральном приеме, одновременно приводя к минимальному увеличению FGF19 при внутривенном введении. Сниженный системный агонизм FXR может быть предпочтительным, например, благодаря снижению и/или ограничению возможности определенных нежелательных реакций, таких как зуд, или благодаря снижению рисков потенциальных лекарственных взаимодействий с системными лекарственными средствами.

В некоторых вариантах реализации агонисты FXR, описанные в настоящем изобретении, обладают хорошей селективностью к мишеням. Например, агонисты FXR, описанные в настоящем изобретении, агонистически действуют на FXR и существенно не изменяют активность TGR5 и/или других ядерных рецепторов гормонов, связанных с FXR. В некоторых вариантах реализации агонисты FXR, описанные в настоящем изобретении, предпочтительно агонистически действуют на кишечный FXR по сравнению с печеночным FXR.

Предпочтительно перорально вводимые агонисты FXR, описанные в настоящем изобретении, могут вызывать дозозависимое повышение уровней FGF19 в плазме и снижение уровней С4 в сыворотке, что указывает на снижение синтеза желчных кислот.

Определения и общие параметры

Следующие термины и выражения, применяемые в настоящем изобретении, обычно имеют значения, изложенные ниже, за исключением случаев, когда контекст, в котором они применяются, указывает на иное.

В настоящем изобретении 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 предписывает 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.

Изобретение, иллюстративно описанное в настоящем изобретении, можно подходящим образом применять на практике при отсутствии любого элемента или элементов, ограничения или ограничений, конкретно не раскрытых в настоящем изобретении. 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 изобретении, 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.

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 ходе фазы II метаболизма. Соединения согласно настоящему изобретению могут быть глюкуронидированы, т.е. конъюгированы с глюкуроновой кислотой, с получением глюкуронидов, в частности (β -D)-глюкуронидов.

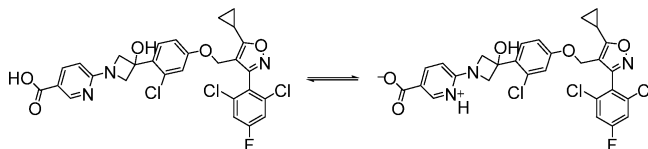
Одной из стадий образования желчи является конъюгирование отдельных желчных кислот с аминокислотой, в частности, глицином или таурином. Соединения согласно настоящему изобретению могут быть конъюгированы с глицином или таурином в замещаемом положении.

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. 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 применимые соли. Таким образом, соединения согласно настоящему изобретению, которые содержат кислотные группы, могут быть представлены с указанными группами и могут применяться 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, триэтанолламин, аминокислоты или другие основания, известные специалистам в данной области техники. Соединения согласно настоящему изобретению, содержащие одну или более основных групп, т.е. групп, которые могут быть протонированы, могут быть представлены и могут применяться в соответствии с настоящим изобретением в форме их солей, образованных присоединением неорганических или органических кислот. Примеры подходящих кислот включают хлористый водород, бромистый водород, фосфорную кислоту, серную кислоту, азотную кислоту, метансульфовую кислоту, пара-толуолсульфовую кислоту, нафталиндисульфовые кислоты, щавелевую кислоту, уксусную кислоту, винную кислоту, молочную кислоту, салициловую кислоту, бензойную кислоту, муравьиную кислоту, пропионовую кислоту, пивалиновую 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 специалистам 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 (циклические ионы). Соответствующие соли могут быть получены обычными способами, которые известны специалисту в данной области техники, такими как, например, путем приведения соответствующих соединений в контакт с органической или неорганической кислотой или

основанием в растворителе или диспергаторе, или путем анионного обмена или катионного обмена с другими солями.

Согласно некоторым вариантам реализации фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (I) включает цвиттер-ион. Например, соединение формулы (I) может образовывать цвиттер-ион следующим образом:



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 применяться, например, в качестве промежуточных соединений для химических реакций или для получения фармацевтически приемлемых солей. Кислоты и основания, подходящие для реакции с исходным соединением с образованием фармацевтически приемлемых солей (солей присоединения кислоты или солей присоединения основания, соответственно), известны специалистам в данной области техники. Аналогичным образом, способы получения фармацевтически приемлемых солей из исходного соединения (по факту раскрытия) известны специалистам в данной области техники и описаны, например, в Berge, et al. *Journal of Pharmaceutical Science*, Jan. 1977, vol. 66, № 1, и других источниках.

Кроме того, соединения, описанные в настоящем изобретении, могут быть подвержены таутомерии. Когда может происходить таутомерия, например, кето-енольная таутомерия, соединений 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, диастереомеры, конформационные изомеры и тому подобное.

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

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

В некоторых вариантах реализации предложены оптические изомеры, рацематы или другие смеси изомеров соединений, описанных в настоящем изобретении, или их фармацевтически приемлемая соль или смесь. В случае необходимости 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).

"Стереоизомер" относится к соединениям, состоящим из одинаковых атомов, связанных одинаковыми связями, но имеющим разные трехмерные структуры, которые не являются взаимозаменяемыми. Настоящее изобретение предусматривает различные стереоизомеры и их смеси и включает "энантиомеры", которые относятся к двум 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 изобретении, и их фармацевтически приемлемые соли могут в некоторых вариантах реализации содержать центр асимметрии и, следовательно, могут иметь энантиомерные, диастереомерные и другие стереоизомерные формы, которые могут быть определены в терми-

нах абсолютной стереохимии, как (R)- или (S)- или как (D)- или (L)- для аминокислот. Некоторые варианты реализации изобретения включают 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 дробной кристаллизации. Традиционные 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 изобретении, 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 изобретении, которые содержат соединение, описанное в настоящем изобретении, 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 изобретении, также предназначена для представления немеченных форм, а также изотопно-меченных форм соединений. Изотопно-меченные соединения имеют структуры, изображенные формулами, приведенными в настоящем изобретении, 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, без ограничения, ^2H (дейтерий, D), ^3H (тритий), ^{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 реагента без изотопной метки на легко доступный изотопно-меченный реагент.

Настоящее изобретение также включает "дейтерированные аналоги" соединений, описанных в настоящем изобретении, 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 замещенные дейтерием терапевтические соединения согласно настоящему изобретению могут иметь полезные 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 помощи 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 соединение согласно настоящему изобретению, или его пролекарство, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват в качестве активного ингредиента, вместе с фармацевтически приемлемым носителем.

"Фармацевтическая композиция" обозначает один или более активных ингредиентов и один или более инертных ингредиентов, которые составляют 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 могут охватывать любую композицию, полученную путем смешивания по меньшей мере одного соединения согласно настоящему изобретению и фармацевтически приемлемого носителя.

В настоящем изобретении термин "фармацевтически приемлемый носитель" включает вспомогательные вещества или агенты, такие как растворители, разбавители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические агенты и агенты, задерживающие абсорбцию, и тому подобное, которые не являются вредными для описанного соединения или его применения. Применение таких носителей и агентов для получения композиций фармацевтически активных веществ хорошо известно в данной области техники (см., например, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Co., Philadelphia, PA 17-е изд. (1985) и Modern Pharmaceutics, Marcel Dekker, Inc., 3-е изд. (под ред. G.S. Banker & C.T. Rhodes)).

Термины "терапевтически эффективное количество" и "эффективное количество" используются взаимозаменяемо и относятся к количеству соединения, которое является достаточным для проведения лечения, как определено ниже, при введении пациенту (например, человеку), нуждающемуся в таком лечении, в одной или более дозах. Терапевтически эффективное количество может варьироваться в зависимости от пациента, заболевания, подлежащего лечению, массы тела и/или возраста пациента, тяжести заболевания или способа введения, и определяется квалифицированным врачом, назначающим препарат или осуществляющим уход.

Термин "лечение" означает введение соединения или фармацевтически приемлемой соли формулы (I) с целью: (i) задержки начала заболевания, то есть предотвращения развития или задержки клинических симптомов заболевания; (ii) замедления заболевания, то есть остановки развития клинических симптомов; и/или (iii) облегчения заболевания, то есть вызывания регрессии клинических симптомов или их тяжести.

Список аббревиатур и акронимов

Аббревиатура	Значение
(±)-BINAP	(±)-2,2'-Бис-(дифенилфосфино)-1,1'-бинафталин
2-Ме-ТГФ	2-метилтетрагидрофуран
АЦН или MeCN	Ацетонитрил
водн.	Водный
Bn	Бензил
BOC или Boc	<i>трет</i> -Бутилоксикарбонил
BCA	Бычий сывороточный альбумин

ССР	Сбалансированный солевой раствор
вычисл.	Вычислено
ДАСТ	(Диэтиламино)-серы трифторид
ДХМ	Дихлорметан
DIBAL-H	Гидрид диизобутилалюминия
ДМФ	<i>N,N</i> -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)метилен]-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

МПС	Минимальная питательная среда
MeOH	Метанол
МСК	Метансульфоновая кислота
мин	Минута(ы)
МС	Масс-спектрометрия
m/z	Отношение массы к заряду
НАДФ	Дигидроникотинамидадениндинуклеотидфосфат
НМП	N-метилпирролидон
ЯМР	Спектроскопия ядерного магнитного резонанса
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Бутиллитий
ПЭ	Петролейный эфир
об./мин	Обороты в минуту
КТ	Комнатная температура
насыщ.	Насыщенный
ТБАФ	Тетрабутиламмония фторид
ТБДМС	<i>трет</i> -бутилдиметилсилил
ТБС	<i>трет</i> -бутилдиметилсилил
ТЕМПО	2,2,6,6-Тетраметилпиперидин-1-оксил
ТФУК	Трифторуксусная кислота
ТГФ	Тетрагидрофуран
ТМС	Триметилсилил
СВЭЖХ	Сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография

В настоящем изобретении термин "агонист FXR" относится к любому агенту, способному связывать и активировать фарнезоидный рецептор X (FXR), который можно отнести к рецептору желчных кислот (РЖК) или рецептору NR1H4 (ядерный рецептор подсемейства 1, группа H, член 4). Агонист FXR может действовать как агонисты или частичные агонисты FXR. Агент может представлять собой химическое соединение или биологическую молекулу (например, белок или антитело). Активность агониста FXR может быть измерена несколькими различными способами, например, в анализе *in vitro* с использованием бесклеточного анализа резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET), как описано в Pellicciari, et al. Journal of Medicinal Chemistry, 2002, vol. 15, No. 45:3569-72.

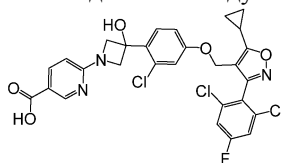
Как указано в настоящем изобретении, "ингибитор ASK1" может представлять собой любой агент, который способен инактивировать белок регулирующий сигнал апоптоза киназы 1 (ASK1). Агент может представлять собой химическое соединение или биологическую молекулу (например, белок или антитело). Активность белка ASK1 может быть измерена несколькими различными способами. Например, активность белка ASK1 может быть определена на основании способности белка ASK1 фосфорилировать белок-субстрат. Известны способы идентификации ингибитора ASK1 (см., например, патенты США 2007/0276050 и 2011/0009410, оба из которых включены в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме). Иллюстративные белки-субстраты ASK1 включают MAPKK3, MAPKK4, MAPKK6, MAPKK7 или их фрагменты. Активность белка ASK1 также можно измерить по уровню фосфорилирования белка ASK1, например, уровню фосфорилирования остатка треонина в белке ASK1, соответствующего треонину 838 (T838) полноразмерного белка ASK1 человека или треонину 845 (T845) полноразмерного белка ASK1 мышцы. Например, если белок ASK1 содержит полноразмерную последовательность белка ASK1 человека, ингибитор ASK1 может ослаблять фосфорилирование T838 в полноразмерной последовательности белка ASK1 человека. Для определения уровня фосфорилирования можно применять сайт-специфическое антитело к ASK1 T838 человека или ASK1 T845 мышцы.

В настоящем изобретении термин "ингибитор АКК" относится к любому агенту, который способен связывать и ингибировать ацетил-КоА карбоксилазу (АКК). Ингибиторы АКК могут действовать как ингибиторы или частичные ингибиторы АКК. Агент может представлять собой химическое соединение или биологическую молекулу (например, белок или антитело). Активность ингибитора АКК можно измерить с помощью способов, известных в данной области техники, таких как те, которые описаны и цитируются в патенте США № 8969557 и/или в публикации заявки на патент США № 20160108061.

В настоящем изобретении "агонист β -рецептора гормона щитовидной железы" или "агонист THR β " относится к любому агенту, который способен связывать и активировать бета-рецептор гормона щитовидной железы, который может называться рецептором NR1A2 (подсемейство 1 ядерных рецепторов, группа А, член 2). Агонист THR β может действовать как агонисты или частичные агонисты THR β . Агент может представлять собой химическое соединение или биологическую молекулу (например, белок или антитело). Активность агониста THR β может быть измерена известными способами.

Соединения

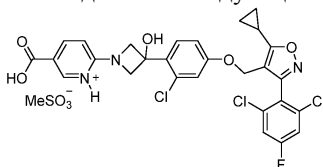
В настоящем изобретении предложено соединение следующей формулы (I):



(I)

или его фармацевтически приемлемая соль.

Согласно некоторым вариантам реализации фармацевтически приемлемая соль представляет собой мезилатную соль. Например, предложено соединение следующей формулы:



Твердые формы

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложены твердые формы соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли. Твердые формы, такие как кристаллические формы, могут обеспечить преимущество биодоступности и стабильности, и подходят для применения в качестве активного ингредиента в фармацевтической композиции.

Различия в кристаллической структуре фармацевтического лекарственного вещества или активного ингредиента могут влиять на скорость растворения (что может влиять на биодоступность и т.д.), технологичность (например, простоту обращения, способность последовательно готовить дозы известной силы) и стабильность (например, термическую стабильность, срок хранения и т.д.) фармацевтического лекарственного препарата или активного ингредиента. Такие вариации могут влиять на получение или состав фармацевтических композиций в различных лекарственных формах или формах доставки, таких как растворы или твердая пероральная лекарственная форма, включая таблетки и капсулы. По сравнению с другими формами, такими как некристаллические или аморфные формы, кристаллические формы могут обеспечивать требуемую или подходящую гигроскопичность, контроль размера частиц, скорость растворения, растворимость, чистоту, физическую и химическую стабильность, технологичность, выход и/или контроль процесса.

Согласно некоторым вариантам реализации предложена стабильная твердая форма соединения формулы (I). Например, мезилатная соль формулы (I) может быть получена в виде стабильной кристаллической формы, которая не превращается в другие полиморфные формы и/или которая образуется в виде той же полиморфной формы в различных условиях производства.

Таким образом, кристаллические формы соединения формулы (I) могут обеспечивать такие преимущества, как улучшение: способа получения соединения, стабильности или сохраняемости формы лекарственного препарата соединения, стабильности или сохраняемости лекарственного вещества соединения и/или биодоступности и/или стабильности соединения в качестве активного агента.

Согласно некоторым вариантам реализации твердая форма представляет собой Форму I мезилата формулы (I).

Форма I мезилата формулы (I) может быть охарактеризована с помощью порошковой рентгеновской дифрактограммы, как твердая форма, демонстрирующая по существу дифрактограмму порошковой рентгеновской дифракции (ПРД), как показано на фиг. 4. Форма I мезилата формулы (I) может демонстрировать термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) по существу, как показано на фиг. 5. Форма I мезилата формулы (I) может демонстрировать термограмму термогравиметрического анализа (ТГА) по существу, как показано на фиг. 6.

Согласно некоторым вариантам реализации формы I мезилата формулы (I), применяют по меньшей мере одно, по меньшей мере два или все из следующих утверждений (а)-(в): (а) форма I мезилата формулы (I) имеет по существу такую дифрактограмму ПРД, как показано на фиг. 4; (б) форма I мезилата формулы (I) имеет по существу такую термограмму ДСК, как показано на фиг. 5; (в) форма I мезилата формулы (I) имеет по существу такую термограмму ТГА, как показано на фиг. 6.

В некоторых вариантах реализации форма I мезилата формулы (I) имеет по меньшей мере одно, по меньшей мере два или по меньшей мере три из следующих свойств:

- (а) дифрактограмма ПРД по существу такая, как показана на фиг. 4,
- (б) термограмма ДСК по существу такая, как показана на фиг. 5,
- (с) термограмма ТГА по существу такая, как показана на фиг. 6.

Согласно некоторым вариантам реализации форма I мезилата формулы (I) имеет дифрактограмму ПРД, демонстрирующую по меньшей мере два, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре, по меньшей мере пять, по меньшей мере шесть, по меньшей мере семь, по меньшей мере восемь или по меньшей мере девять из отражений 2θ с наибольшей интенсивностью, по существу как дифрактограмма ПРД, показанная на фиг. 4.

В некоторых вариантах реализации изобретения форма I мезилата формулы (I) имеет дифрактограмму ПРД, содержащую отражения $2\theta (\pm 0,2^\circ 2\theta)$ при $9,6, 19,3$ и $22,6^\circ$. В некоторых вариантах реализации форма I мезилата формулы (I) имеет дифрактограмму ПРД, содержащую отражения $2\theta (\pm 0,2^\circ 2\theta)$ при $9,6, 19,3$ и $22,6^\circ$ и одно, два или три из отражений $2\theta (\pm 0,2^\circ 2\theta)$ при $3,2, 6,4$ и $12,8^\circ$. Согласно некоторым вариантам реализации форма I мезилата формулы (I) имеет дифрактограмму ПРД, содержащую отражения $2\theta (\pm 0,2^\circ 2\theta)$ при $9,6, 19,3$ и $22,6^\circ$ и одно, два или три из отражений $2\theta (\pm 0,2^\circ 2\theta)$ при $22,1, 25,8$ и $29,1^\circ$. Согласно некоторым вариантам реализации форма I мезилата формулы (I) имеет дифрактограмму ПРД, содержащую отражения $2\theta (\pm 0,2^\circ 2\theta)$ при $9,6, 19,3, 22,6, 3,2, 6,4, 12,8, 22,1, 25,8$ и $29,1^\circ$.

Согласно некоторым вариантам реализации форма I мезилата формулы (I) имеет термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии, содержащую эндотермический пик с начальной температурой примерно 221°C .

Фармацевтические композиции и способы введения

Кроме того, согласно настоящему изобретению 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 носителем.

Фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению может дополнительно содержать одно или более других соединений в качестве активных ингредиентов, таких как соединение пролекарства 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 носителем в соответствии со стандартными способами получения фармацевтических препаратов. 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, глицерин, масла, спирты, ароматизаторы, консерванты, окрашивающие агенты и т.п., в случае жидких препаратов для перорального приема, таких как, например, суспензии, эликсиры и растворы; или носители, такие как крахмалы, сахара, микрокристаллическая целлюлоза, разбавители, гранулирующие агенты, смазывающие вещества, связующие вещества, разрыхлители и т.п., в случае твердых препаратов для перорального приема, таких как, например, порошки, твердые и мягкие капсулы и таблетки, причем твердые препараты для перорального приема 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 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 до примерно 60% от массы лекарственной формы. Количество активного соединения в таких терапевтически применимых композициях является таким, которое обеспечивает получение эффективной дозировки. Актив-

ные 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 указанному выше типам она может содержать жидкий носитель, такой 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 обоими указанными веществами. Сироп или эликсир в дополнение к активному ингредиенту может содержать сахарозу в качестве подсластителя, метил- и пропилпарабены в качестве консервантов, краситель и ароматизатор, такой как вишневый или апельсиновый ароматизатор.

В некоторых вариантах реализации соединения согласно настоящему изобретению также можно применять в виде солей с различными противокатионами для получения перорально доступного состава.

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 применения. 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. 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 изобретении.

В настоящем изобретении предложены изделия, которые содержат соединение, описанное в настоящем изобретении, 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" представляет собой подход для получения полезных или желаемых результатов, включая клинические результаты. Полезные или требуемые 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 в) 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 жизни).

"Профилактика" или "предотвращение" обозначает любое лечение заболевания или состояния, которое приводит к тому, что клинические симптомы заболевания или состояния не развиваются. В неко-

торых 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 изобретении, 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 изобретении, 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 агонизму FXR. 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 соединений, описанных в настоящем изобретении, для лечения и/или профилактики заболеваний и/или состояний посредством 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 посредством связывания указанного ядерного рецептора указанными соединениями.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение относится к применению соединений согласно формуле (I) при получении лекарственного средства для профилактики и/или лечения хронических внутрипеченочных 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 со сниженным поглощением поступающего с пищей жира и поступающих с пищей жирорастворимых витаминов, воспалительных заболеваний кишечника, расстройств липидного и липопротеинового обмена, диабета II типа и клинических осложнений диабета I и II типа, состояний и заболеваний, которые возникают в результате хронической жировой и фиброзной дегенерации органов вследствие принудительного 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, тромбоза, который возникает как конечная точка хронического обструктивного атеросклероза, персистирующих инфекций внутриклеточными бактериями или паразитарными простейшими, незлокачественных гиперпролиферативных расстройств, злокачественных гиперпролиферативных расстройств, в частности, аденокарциномы толстой кишки и гепатоцеллюлярной карциномы, стеатоза печени и связанных с ним синдромов, печеночной недостаточности или нарушения функции печени как результата хронических заболеваний печени или хирургической резекции печени, инфекции гепатита В, инфекции гепатита С и/или холестатических и фиброзных эффектов, которые связаны с индуцированным алкоголем циррозом или с вирусными формами гепатита.

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

FXR может модулировать как синтез желчных кислот в печени, так и их рециркуляцию в кишечнике (путем регулирования белков, связывающих желчные кислоты). FXR может быть вовлечен в регуляцию 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. FXR регулирует сложный паттерн генов ответа в печени и в желудочно-кишечном тракте. Продукты генов оказывают влияние на различные физиологические процессы. Например, FXR репрессирует индуцирование *Cyp7A1* посредством повышающей регуляции мРНК, кодирующей SHP, другой ядерный рецептор, который является доминантным репрессивным по сравнению с LXR-1. Поскольку FXR связывает первичные желчные кислоты, конечные продукты указанного пути, это можно рассматривать в качестве примера ингибирования по принципу обратной связи на уровне экспрессии генов.

Лиганды FXR индуцируют поток желчи и изменяют композицию желчных кислот в сторону более гидрофильной композиции. С разработкой первого синтетического лиганда FXR GW4064 в качестве фармакологически активного соединения и полусинтетического искусственного лиганда желчной кислоты 6-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. Указанные гепатопротекторные эффекты включали антифиброзные эффекты, возникающие в результате 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), оба из которых являются профибротическими факторами.

Кроме того, антихолестатическая активность была продемонстрирована в моделях на животных с лигированными желчными протоками, а также в моделях на животных с индуцированным эстрогенами холестазом. Генетические исследования демонстрируют, что при наследственных формах холестаза (прогрессирующий семейный внутрипеченочный холестаз = 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. Mol. Genet.* 2004, 13, 2451) или уровни гена-мишени FXR, кодирующего насос экспорта фосфолипидов MDR-3, снижены (при ПСВХ III типа). Существует увеличивающееся количество доказательств того, что соединения, связывающие FXR, могут демонстрировать существенную клиническую ценность в программе лечения хронических холестатических состояний, таких как первичный билиарный цирроз (ПБЦ) или первичный склерозирующий холангит (ПСХ).

Агонисты FXR можно применять для предотвращения образования холестериновых желчных камней или для предотвращения повторного образования желчных камней после хирургического удаления или ударно-волновой литотрипсии. Например, с применением синтетического фармакологически активного по отношению к FXR соединения GW4064 можно продемонстрировать, что активация FXR приводит к улучшению индекса насыщения холестерином (ИНХ) 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. Таким образом, в одном из вариантов реализации согласно настоящему изобретению соединение в соответствии с формулой (I) и фармацевтические композиции, содержащие указанное соединение, применяются 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.

Агонисты FXR могут быть полезны для защиты кишечника от неопластической трансформации и от развития полипов и их перехода в аденокарциному в кишечнике. Отсутствие FXR приводит к сильному увеличению образования гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК), наиболее значимой формы рака печени. Тогда как функциональный FXR предотвращает образование аденокарциномы толстой кишки и гепатоцеллюлярной карциномы, активация FXR вызывает регенерацию печени после гепатэктомии.

Комбинированные гепатопротекторные, противоопухолевые и регенерирующие печень эффекты, связанные с активацией FXR, можно терапевтически применять 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, применяются 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.

Кроме того, FXR может быть ключевым регулятором триглицеридов сыворотки. Активация FXR синтетическими агонистами может приводить к значительному снижению уровня триглицеридов в сыворотке, главным образом в виде снижения ЛПОНП, но также и к снижению общего холестерина в сыворотке. Снижение уровня триглицеридов в сыворотке не является обособленным эффектом. Лечение мышей линий 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. Более того, активация FXR связана с внутриклеточным сигнальным путем инсулина в гепатоцитах, что приводит к снижению выработки глюкозы в результате глюконеогенеза в печени, но сопровождается 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 перекармливали рационом с высоким содержанием липидов. Указанный эффект потери массы может являться результатом опосредованного FXR индуцирования FGF-19, фактора роста фибробластов, который, как известно, приводит к потере массы и формированию атлетического фенотипа. Было продемонстрировано влияние агониста FXR на снижение массы тела.

Соответственно агонисты FXR можно применять различными терапевтическими способами: считается, что связывающие FXR соединения являются хорошими кандидатами для лечения диабета II типа благодаря их эффекту сенсбилизации к инсулину, гликогеногенным 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, повышенного периферического усвоения и метаболизации глюкозы, повышенного накопления гликогена в печени, сниженного поступления 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 поступающего с пищей жира и поступающих с пищей жирорастворимых витаминов, 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.

Было показано, что в сочетании с гипополипдемическими эффектами потеря функционального FXR приводит к усиленному атеросклерозу у мышей с выключенным AroE. Соответственно, 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, возникающий 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 ЭР-положительного рака молочной железы. Таким образом, FXR может быть потенциальной мишенью 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.

FXR может быть вовлечен в контроль антибактериальной защиты в кишечнике. Агонисты FXR могут оказывать благоприятное воздействие в терапии воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК). Например, при формах ВЗК, в которых поражена верхняя (подвздошная) часть кишечника (например, болезнь Крона подвздошной кишки), агонисты FXR могут оказывать благоприятное воздействие посредством FXR-опосредованного контроля за ростом бактерий. При ВЗК в кишечной иммунной системе каким-то образом нарушается десенсibilизация адаптивного иммунного ответа. 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, настоящее 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 некоммунальной 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, повышенной чувствительности к инсулину и FXR-опосредованной потери 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 диабета 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.

В другом варианте реализации соединения или фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению подходят для предотвращения и/или лечения врожденного фиброза печени.

Дозировка

Эффективная дозировка применяемого активного ингредиента может варьироваться в зависимости от конкретного применяемого 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 показаны соединения согласно настоящему изобретению, обычно удовлетворительные результаты получают при введении соединений согласно настоящему изобретению в суточной дозировке от примерно 0,1 до примерно 300 мг 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 до примерно 1000 мг или от примерно 1 до примерно 50 мг. В случае взрослого человека массой 70 кг общая суточная доза обычно составляет от примерно 7 до примерно 350 мг. Указанный режим дозирования можно корректировать для обеспечения оптимального терапевтического ответа. В некоторых вариантах реализации общая суточная дозировка составляет от примерно 1 до примерно 900 мг, от примерно 10 до примерно 800 мг, от примерно 20 до примерно 700 мг, от примерно 30 до примерно 600 мг, от примерно 40 до примерно 550 мг, от примерно 50 до примерно 400 мг, от примерно 50 до примерно 300 мг или от примерно 50 до примерно 200 мг.

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 дней, 14 дней 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 изобретении, включают введение субъекту начальной суточной дозы примерно от 1 до 800 мг соединения, описанного в настоящем изобретении, 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.

Комбинации

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 изобретения один или более дополнительных терапевтических агентов представляют собой ингибитор АПФ, ингибитор ацетил-КоА-карбоксилазы, агонист аденозинового рецептора А3, агонист адипонектинового рецептора, ингибитор протеинкиназы АКТ, активируемых АМФ протеинкиназ (АМПК), агонист амелин-рецептора, антагонист рецептора АТ-1 ангиотензина II, ингибиторы аутоаксина, биоактивный липид, агонист кальцитонина, ингибитор каспазы, стимулятор каспазы-3, ингибитор катепсина,

ингибитор кавеолина 1, антагонист хемокина CCR2, антагонист хемокина CCR3, антагонист хемокина CCR5, стимулятор хлоридных каналов, ингибитор CNR1, ингибитор циклина D1, ингибитор цитохрома P450 7A1, ингибитор DGAT1/2, ингибитор дипептидилпептидазы IV, модулятор эндосиалина, ингибитор лиганда эотаксина, модулятор белков внеклеточного матрикса, агонист фарнезоидного рецептора X, ингибиторы синтазы жирных кислот, агонист рецептора FGF1, лиганды фактора роста фибробластов (FGF-15, FGF-19, FGF-21), ингибитор галектина-3, агонист глюкагонового рецептора, агонист глюкагоноподобного пептида 1, агонист связанного с G-белком рецептора желчной кислоты 1, модулятор Hedgehog (Hh), ингибитор протеазы NS3 вируса гепатита C, модулятор ядерного фактора гепатоцитов 4 альфа (HNF4A), модулятор фактора роста гепатоцитов, ингибитор HMG-коА-редуктазы, агонист ИЛ-10, антагонист ИЛ-17, ингибитор натрий-зависимого котранспортера желчных кислот подвздошной кишки, сенсибилизатор инсулина, модулятор интегрин, ингибитор ассоциированной с рецептором интерлейкина-1 киназы 4 (IRAK4), ингибитор Jak2 тирозинкиназы, ингибиторы кетогексокиназы, стимулятор клото бета, ингибитор 5-липноксигеназы, ингибитор липопротеинлипазы, рецептор печени X, стимулятор гена ЛИЛ, антагонист рецептора лизофосфатидата-1, ингибитор гомолога лизилоксилазы 2, ингибитор матриксных металлопротеиназ (ММП), ингибитор протеинкиназы MEKK-5, ингибитор мембранной аминной оксидазы меди (VAP-1), ингибитор метионинаминопептидазы-2, модулятор метил-СpG-связывающего белка 2, ингибитор микроРНК-21(miR-21), митохондриальный разобщающий агент, стимулятор основного белка миелина, ингибитор 3-доменного белка NACHT LRR PYD (NLRP3), стимулятор NAD-зависимой деацетилазы сиртуина, ингибитор оксидазы NADPH (NOX), агонист рецептора никотиновой кислоты 1, стимулятор пуринорецептора P2Y13, ингибитор PDE 3, ингибитор PDE 4, ингибитор PDE 5, модулятор рецептора PDGF бета, ингибитор фосфолипазы C, агонист PPAR альфа, агонист PPAR дельта, агонист PPAR гамма, модулятор PPAR гамма, антагонист активируемого протеазой рецептора-2, модулятор протеинкиназы, ингибитор ассоциированной с Rho протеинкиназы, ингибитор натрий-зависимого транспортера глюкозы-2, ингибитор транскрипционного фактора SREBP, ингибитор STAT-1, ингибитор стеароил-КоА-десатуразы-1, стимулятор супрессора цитокиновой передачи сигналов-1, стимулятор супрессора цитокиновой передачи сигналов-3, трансформирующий фактор роста β (ТФР- β), активируемая трансформирующим фактором роста β киназа 1 (TAK1), агонист рецептора тироидного гормона бета, антагонист TLR-4, ингибитор транслутаминазы, модулятор рецептора тирозинкиназы, модулятор GPCR, модулятор ядерного гормонального рецептора, модуляторы WNT или модулятор YAP/TAZ.

Неограничивающие примеры одного или более дополнительных терапевтических агентов включают

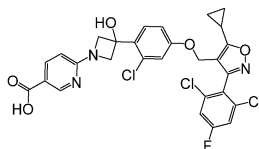
- ингибиторы АПФ, такие как эналаприл;
- ингибиторы ацетил-КоА-карбоксилазы (АКК), такие как DRM-01, гемкабен, PF-05175157 и QLT-091382;
- агонисты аденозиновых рецепторов, такие как CF-102, CF-101, CF-502 и CGS21680;
- агонисты рецепторов адипонектина, такие как ADP-355;
- агонисты рецепторов амилина/кальцитонина, такие как KBP-042;
- стимуляторы АМФ-активируемых протеинкиназ, такие как O-304;
- антагонисты рецепторов ангиотензина II AT-1, такие как ирбесартан;
- ингибиторы аутоаксина, 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 пан-катепсина В, такие как VBY-376;
- ингибиторы пан-катепсина, такие как VBY-825;
- антагонисты хемокинов CCR2/CCR5, такие как ценикривирок;
- антагонисты хемокина CCR2, такие как пропагерманиум;
- антагонисты хемокина CCR3, такие как бертилимумаб;
- 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 бертилимумаб;
- модуляторы белков внеклеточного матрикса, такие как CNX-024;
- ингибиторы синтазы 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 (FGF-21), такой как BMS-986171, BMS-986036;
- агонисты фактора роста фибробластов 21 (FGF-21)/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-белком рецептора желчных кислот 1 (TGR5), такие как RDX-009, INT-777;

ингибиторы белка теплового шока 47 (HSP47), такие как ND-L02-s0201;
ингибиторы HMG-КоА-редуктазы, такие как аторвастатин, флувастатин, питавастатин, правастатин, розувастатин и симвастатин;
агонисты ИЛ-10, такие как пегилодекакин;
ингибиторы натрийзависимого котранспортера желчных кислот в подвздошной кишке, такие как А-4250, воликсибата калия этанолат-гидрат (SHP-262) и GSK2330672;
усилители чувствительности к инсулину, такие как KBP-042, MSDC-0602K, P_x-102, RG-125 (AZD4076) и VVP-100X;
ингибиторы кетогексокиназы, такие как PF-06835919; 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 ЛРЛ, такие как алипоген 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 симтузумаб;
ингибиторы семикарбазид-чувствительной аминоксидазы/белка сосудистой адгезии-1 (SSAO/VAP-1), такие как PXS-4728A;
ингибиторы метионинаминопептидазы-2, такие как ZGN-839;
модуляторы метил-СрG-связывающего белка 2, такие как меркаптамин;
митохондриальные разобщители, такие как 2,4-динитрофенол;
стимуляторы основного белка миелина, такие как олезоксим;
ингибиторы оксидазы NADPH 1/4, такие как GKT-831;
агонисты рецептора никотиновой кислоты 1, такие как ARI-3037MO; нитазоксинид;
ингибиторы 3-доменного белка, содержащего домены NACHT, LRR и PYD (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, пиоглитазон, 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-зависимого транспортера глюкозы-2 (SGLT2), такие как ипраглифлозин, ремоглифлозина этабонат, эртуглифлозин, дапаглифлозин и сотаглифлозин;
ингибиторы транскрипционного фактора SREBP, такие как CAT-2003 и MDV-4463;
ингибиторы стеароил-КоА-десатуразы-1, такие как арамхол;
агонисты бета-рецепторов тиреоидных гормонов (THR), такие как MGL-3196, MGL-3745, VK-2809;
антагонисты TLR-4, такие как JKB-121;
модуляторы тирозинкиназных рецепторов, такие как CNX-025;
модуляторы GPCR, такие как CNX-023; и
модуляторы ядерного гормонального рецептора, такие как P_x-102.

В некоторых конкретных вариантах реализации изобретения один или более дополнительных терапевтических агентов выбран из А-4250, АС-3174, ацетилсалициловой кислоты, АК-20, АKN-083, алипогена типарвовеча, арамхола, ARI-3037MO, ASP-8232, аторвастатина, бертилимумаба, бетаина безводного, BAR-704, BI-1467335, BMS-986036, BMS-986171, BMT-053011, BOT-191, BTT-1023, BWD-100, BWL-200, CAT-2003, ценикривирока, CER-209, CF-102, CGS21680, CNX-014, CNX-023, CNX-024, CNX-025, кобипростона, колесевелама, дапаглифлозина, 16-дегидропрегенолона, дейтерированного R-энантиомера пиоглитазона, 2,4-динитрофенола, DRX-065, DS-102, DUR-928, EDP-305, элафибранора (GFT-505), эмрикасана, эналаприла, EP-024297, эртуглифлозина, эвоглиптина, EYP-001, F-351, фексарамина, GKT-831, GNF-5120, GR-MD-02, гидрохлортиазида, этилового эфира икосапента, IMM-124-E, INT-767, IONIS-DGAT2Rx, INV-33, ипраглифлозина, ирбесарта, пропагерманиума, IVA-337, JKB-121, KB-GE-001, KBP-042, KD-025, M790, M780, M450, метформина, силденафила, LC-280126, линаглиптина, лираглутида, LJM-452, LMB-763, MBX-8025, MDV-4463, меркаптамина, MET-409, MGL-3196, MGL-3745, MSDC-0602K, намацзумаба, NC-101, ND-L02-s0201, NFX-21, NGM-282, NGM-313, NGM-386, NGM-395, NTX-023-1, норурсодезоксихолевой кислоты, O-304, обетихолевой кислоты, 25HC3S, олесоксима, PAT-505, PAT-048, пэг-илодекакина, пиоглитазона, пирфенидона, PRI-724, PX20606, P_x-102, PX-L603, PX-L493,

PXS-4728A, PZ-235, RDX-009, RDX-023, ремоглифлозина этабоната, перепрофилированного трикаприлина, RG-125 (AZD4076), сароглитазара, семаглутида, симтузумаба, SIPI-7623, солитромицина, согаглифлозина, статинов (аторвастатин, флувастатин, питавастатин, правастатин, росувастатин, симвастатин), TCM-606F, TERN-101, TEV-45478, типелукаста (MN-001), TLY-012, тропифексора, TRX-318, TVB-2640, UD-009, урсодезоксихолевой кислоты, VBY-376, VBY-825, VK-2809, висмодегиба, воликсибата калия этанолата-гидрата (SFIP-626), VVP-100X, WAV-301, WNT-974 и ZGN-839.

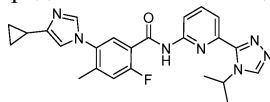
Согласно некоторым вариантам реализации способы и композиции включают терапевтически эффективное количество ингибитора регулирующей сигнал апоптоза киназы 1 (ASK1) и терапевтически эффективное количество агониста фарнезоидного рецептора X (FXR), причем агонист FXR представляет собой соединение формулы (I)



(I)

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

В некоторых вариантах реализации способов и фармацевтических композиций, описанных в настоящем изобретении, ингибитор ASK1 представляет собой соединение формулы (II)

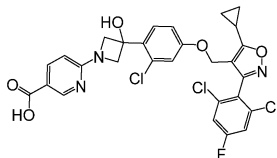


(II)

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

Ингибиторы ASK1, такие как соединение формулы (II), могут быть синтезированы и охарактеризованы с использованием способов, известных специалистам в данной области техники, таких как способы, описанные в документах U.S. 2007/0276050, U.S. 2011/0009410 и U.S. 2013/0197037.

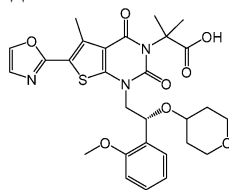
Согласно некоторым вариантам реализации способы и композиции включают терапевтически эффективное количество ингибитора ацетил-КоА-карбоксилазы (АКК) и терапевтически эффективное количество агониста фарнезоидного рецептора X (FXR), где агонист FXR представляет собой соединение формулы (I)



(I)

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

В некоторых вариантах реализации способов и фармацевтических композиций, описанных в настоящем изобретении, ингибитор АКК представляет собой соединение формулы (III)

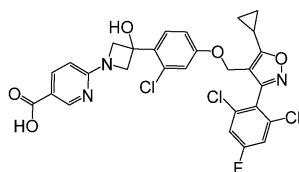


(III)

или его фармацевтически приемлемая соль.

Ингибиторы АКК, такие как соединение формулы (III), могут быть синтезированы и охарактеризованы с использованием способов, известных специалистам в данной области техники, таких как способы, описанные в публикации международной заявки PCT № WO 2013/071169.

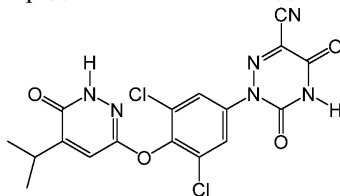
Согласно некоторым вариантам реализации способы и композиции включают терапевтически эффективное количество агониста β рецептора тиреоидного гормона (THR) в комбинации с терапевтически эффективным количеством агониста фарнезоидного рецептора X (FXR), причем агонист FXR представляет собой соединение формулы (I)



(I)

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

В некоторых вариантах реализации способов и фармацевтических композиций, описанных в настоящем изобретении, агонист THR β представляет собой соединение формулы (IV)



(IV)

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

Агонисты THR β , такие как соединение формулы (IV), могут быть синтезированы и охарактеризованы с использованием способов, известных специалистам в данной области техники.

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 варианты его практического применения. Тем не менее, специалистам в данной области техники понятно, что в контексте настоящего изобретения эти примеры являются иллюстративными и не исчерпывающими. 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, раскрытые в настоящем изобретении, 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 изобретении, в сочетании с обычными навыками специалиста в данной области техники можно легко получать дополнительные соединения согласно настоящему изобретению, заявленные в настоящем изобретении. Примеры дополнительно подробно иллюстрируют получение соединений согласно настоящему изобретению. Специалистам в данной области техники понятно, что для получения указанных соединений можно применять 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. В некоторых случаях характеристики конечного продукта могут однозначно определять характеристики необходимых исходных материалов в рамках проверки с учетом примеров, приведенных в настоящем изобретении. Соединения могут быть выделены в форме их фармацевтически приемлемых солей, таких как соли, описанные выше. Соединения, описанные в настоящем изобретении, обычно являются стабильными и выделяемыми при комнатной температуре и давлении.

Ниже проиллюстрировано получение соединений, раскрытых в настоящем изобретении. Если не указано иное, переменные имеют то же значение, что описано выше. Приведенные ниже примеры предназначены для иллюстрации конкретных вариантов реализации согласно настоящему изобретению. Подходящие исходные материалы, структурные элементы и реагенты, применяемые в синтезе, как описано ниже, являются коммерчески доступными, например, от 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", 5-е издание; John Wiley & Sons или в T. Eicher, S. Hauptmann "The Chemistry of Heterocycles; Structures, Reactions, Synthesis and Application", 2-е издание, Wiley-VCH 2003; Fieser et al. "Fieser's Reagents for Organic Synthesis" John Wiley & Sons 2000.

Способы

Порошковая рентгеновская дифракция (ПРД)

Дифрактограммы ПРД регистрировали на дифрактометре PANanalytical XPERT-PRO в условиях окружающей среды при следующих экспериментальных условиях: 45 кВ, 40 мА, $K\alpha_1=1,5406 \text{ \AA}$, диапазон сканирования от 2 до 40° 2 θ , размер шага 0,0084 или 0,0167° 2 θ , время измерения: 5 мин.

Дифференциальная сканирующая calorиметрия (ДСК)

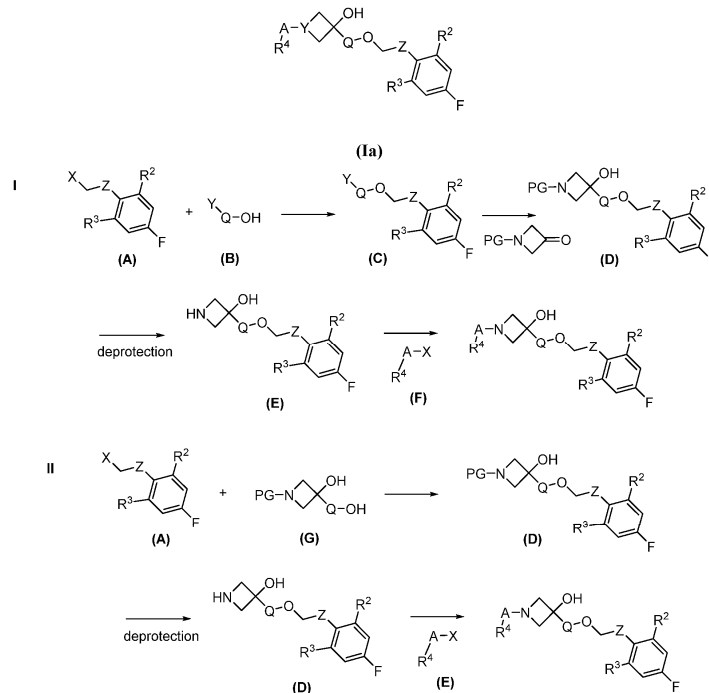
Термограммы ДСК регистрировали на системе TA Instruments Q2000, оснащенной 50-позиционным автоматическим пробоотборником. Калибровку по энергии и температуре проводили с использованием сертифицированного индия. Как правило, 1-5 мг каждого образца в алюминиевом поддоне с отверстиями под штифт нагревали со скоростью 10°C/мин от примерно 25 до примерно 300°C. На протяжении всего измерения над образцом поддерживали продувку сухим азотом со скоростью 50 мл/мин. Начало эндотермы плавления было указано как точка плавления.

Термогравиметрический анализ (ТГА)

Термограммы ТГА регистрировали на системе TA Instruments Q5000, оснащенной 25-позиционным автоматическим пробоотборником. Примерно 1-5 мг каждого образца загружали на предварительно тарированный алюминиевый поддон и нагревали со скоростью 10°C/мин от примерно 25°C до примерно 350°C. На протяжении всего измерения над образцом поддерживали продувку сухим азотом со скоростью 25 мл/мин.

Общая схема синтеза.

Соединения формулы (Ia), где Y представляет собой N, можно получать в соответствии со следующими общими схемами синтеза.



В общих схемах синтеза выше А представляет собой пиридилен или фенилен, каждый из которых необязательно замещен одной или двумя группами, независимо выбранными из галогена, С₁₋₄алкокси, галоген-С₁₋₄алкокси, С₁₋₄алкила и галоген-С₁₋₄алкила; Q представляет собой фенилен или пиридилен, каждый из которых необязательно замещен одним или двумя заместителями, независимо выбранными из галогена, метила, С₁₋₄алкокси, галоген-С₁₋₄алкокси, -СН₂F, -СНF₂ и -СF₃; X представляет собой уходящую группу, Y представляет собой группу, такую как галоген, которая может быть использована для образования металлоорганических соединений, таких как реактив Гриньяра, Z представляет собой изоксазол, замещенный R¹, или пиразол, замещенный С₁₋₄алкилом или С₃₋₆циклоалкилом, R² и R³ независимо выбраны из водорода, галогена, метокси, -CF₃, -СНF₂, -СН₂F, -ОСН₂F, -ОСНF₂, -ОСF₃ и метила; R⁴ представляет собой -CO₂R⁵ или -C(O)NR⁵R⁶; R⁵ представляет собой водород, С₁₋₆алкил или галоген-С₁₋₆алкил; и R⁶ представляет собой водород или С₁₋₆алкил, где указанный С₁₋₆алкил необязательно замещен 1-6 заместителями, независимо выбранными из галогена, -SO₃H и -CO₂H. PG представляет собой защитную группу, и остальные переменные являются такими, как описано в настоящем изобретении. Соединение формулы (C) можно получать путем взаимодействия соединения формулы (A) с соединением формулы (B) в присутствии основания. Соединение формулы (D) получают из соединения формулы (C) путем образования металлоорганических соединений, таких как реактив Гриньяра, с последующей конденсацией с надлежащим образом защищенным 3-кетоазетидином. Соединение формулы (E) получают из соединения формулы (D) при соответствующих условиях снятия защиты. Соединение формулы (E) можно объединять с соединением формулы (F) в присутствии основания с получением соединения формулы (Ia).

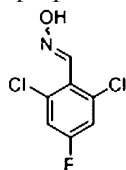
В альтернативном варианте соединение формулы (D) можно получать путем взаимодействия соединения формулы (A) с соединением формулы (G) в присутствии основания.

Подходящие соединения структур (A) и (B) можно получать в соответствии со способами, описанными в следующих примерах, или при помощи способов, известных в данной области техники. Напри-

мер, X может представлять собой галоген (например, фтор, бром, хлор и/или иод), а PG может представлять собой трет-бутилкарбонильную защитную группу (BOC).

Пример 1. Получение формулы (I)

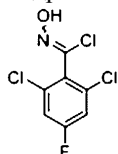
Стадия 1. Получение оксима 2,6-дихлор-4-фторбенальдегида.



Суспензию 2,6-дихлор-4-фторбенальдегида (20 г, 100 ммоль), гидрохлорида гидроксиламина (14 г, 210 ммоль) и карбоната натрия (27 г, 260 ммоль) в этаноле/воде (5:1, 170 мл) обрабатывали ультразвуком в течение примерно 10 мин и затем оставляли при перемешивании в течение ночи при комнатной температуре.

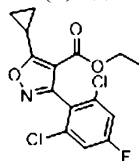
Смесь разбавляли водой и этилацетатом. Водную фазу два раза экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, высушивали над безводным сульфатом магния, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением целевого промежуточного соединения. ЖХМС-ИЭР (m/z): [M+H]⁺ вычисл. для C₇H₅Cl₂FNO: 207,97; найдено: 207,99.

Стадия 2. Получение 2,6-дихлор-4-фтор-N-гидроксибензимидазилхлорида



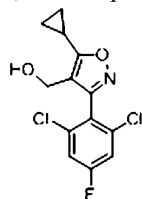
Раствор оксима 2,6-дихлор-4-фторбенальдегида (21 г, 99 ммоль) в N,N-диметилформамиде (200 мл) обрабатывали одной порцией N-хлорсукцинимидом (1,5 г, 11 ммоль). Пары хлористого водорода (приблизительно 40 мл, взятые из парового пространства бутылки с концентрированной соляной кислотой), барботировали через смесь. После добавления еще одной порции N-хлорсукцинимидом (1,5 г, 90 ммоль) вводили еще два объема газообразного хлористого водорода (40 мл x 2). Небольшими порциями добавляли дополнительный N-хлорсукцинимид (12 г, 11 ммоль). При наблюдении экзотермы до 25°C смесь охлаждали на водяной бане при комнатной температуре. Давали температуре снизиться до примерно 23°C и оставшуюся часть N-хлорсукцинимидом добавляли порциями. В конце добавления ЖХ/МС анализ показал сохранение исходного оксима, поэтому добавляли конечную порцию N-хлорсукцинимидом (1,2 г, 9,0 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре и перенесли без обработки на последующую стадию синтеза. ЖХМС-ИЭР+ (m/z): [M+H]⁺ вычисл. для C₇H₄Cl₃FNO: 241,93; обнаружено: 242,20.

Стадия 3. Получение этил-5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-карбоксилата



Раствор этилциклопропил-3-оксопропаноата (19 г, 120 ммоль) в 2-метилтетрагидрофуране при комнатной температуре обрабатывали триэтиламиноом с помощью шприца (55 мл, 400 ммоль). Через 30 мин перемешивания реакционную смесь, содержащую 2,6-дихлор-4-фтор-N-гидроксибензимидазилхлорид (24 г, 99 ммоль), по каплям добавляли через шприц. В конце добавления смесь нагревали при примерно 60°C в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток разбавляли 10% раствором соляной кислоты и этилацетатом. Водную фазу три раза экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические экстракты один раз промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, высушивали над безводным сульфатом магния и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением целевого промежуточного соединения. ЖХМС-ИЭР+ (m/z): [M+H]⁺ вычисл. для C₁₅H₁₃Cl₂FNO₃: 344,02; обнаружено: 344,03.

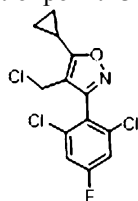
Стадия 4. Получение (5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)-метанола.



Раствор (этил-5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-карбоксилата (15 г, 44

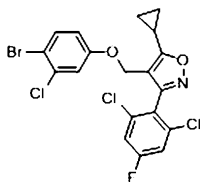
ммоль) помещали в 2-метилтетрагидрофуран (220 мл) и охлаждали с помощью магнитной мешалки в ванне с мокрым льдом/ацетоном до температуры примерно от -12 до -10°C . По каплям добавляли раствор алюмогидрида лития (2,0 М в тетрагидрофуране, 53 ммоль). После 30 мин перемешивания на бане смесь, охлаждаемую на водяной бане со льдом, последовательно гасили водой (2,0 мл, по каплям очень осторожно), 15% водным раствором гидроксида натрия (2,0 мл) и водой (6,0 мл). Суспензию оставляли при перемешивании при комнатной температуре в течение 15 мин перед добавлением безводного сульфата магния, а затем перемешивали еще один час. Суспензию фильтровали; осадок на фильтре промывали этилацетатом, а фильтрат концентрировали досуха при пониженном давлении. Остаток очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением целевого промежуточного соединения. ЖХМС-ИЭР+ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычисл. для $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{Cl}_2\text{FNO}_2$: 302,01; обнаружено: 302,51.

Стадия 5. Получение 4-(хлорметил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазола



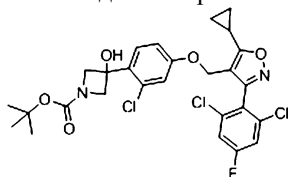
Тионилхлорид (6,6 мл, 90 ммоль) добавляли к смеси (5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метанола (9,1 г, 30 ммоль) в дихлорметане (150 мл) при комнатной температуре. Затем смесь нагревали при примерно 45°C в течение 45 мин. Смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в диэтиловом эфире и повторно концентрировали. Это повторяли еще два раза с получением целевого промежуточного соединения, которое применяли без дополнительной очистки. ЖХМС-ИЭР+ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычисл. для $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{Cl}_3\text{FNO}$: 319,97; обнаружено: 320,50.

Стадия 6. Получение 4-((4-бром-3-хлорфенокси)метил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазола.



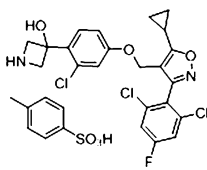
Раствор неочищенного 4-(хлорметил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазола (4,2 г, 13 ммоль) в N,N-диметилформамиде (50 мл) обрабатывали 4-бром-3-хлорфенолом (2,7 г, 13 ммоль), иодидом натрия (3,3 г, 22 ммоль) и безводным карбонатом калия (3,6 г, 26 ммоль). Смесь нагревали при примерно 60°C в течение 25 мин. После охлаждения смесь фильтровали и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением целевого промежуточного соединения. ЖХМС-ИЭР+ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычисл. для $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{BrCl}_3\text{FNO}_2$: 489,91; обнаружено: 490,10.

Стадия 7. Получение трет-бутил-3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата.



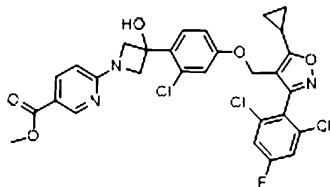
В атмосфере аргона раствор 4-((4-бром-3-хлорфенокси)метил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазола (5,1 г, 10 ммоль) в тетрагидрофуране (27 мл) обрабатывали раствором хлорида изопропилмагния/хлорида лития (1,3 М, 12 мл, 15 ммоль) при помощи шприца. Полученную смесь перемешивали в течение одного часа перед введением дополнительного объема раствора хлорида изопропилмагния/хлорида лития (1,3 М, 4,0 мл, 5,2 ммоль). Через 45 мин перемешивания добавляли еще одну порцию раствора хлорида изопропилмагния/хлорида лития (1,3 М, 1,0 мл, 1,3 ммоль). После одного часа перемешивания к полученной смеси Гриньяра, которую охлаждали на бане влажный лед/ацетон, добавляли одной порцией трет-бутил-3-оксоазетидин-1-карбоксилат (3,8 г, 22 ммоль). Через 30 мин перемешивания добавляли дополнительную порцию трет-бутил-3-оксоазетидин-1-карбоксилата (0,80 г, 4,7 ммоль). Реакционную смесь гасили 10% водным раствором лимонной кислоты (50 мл). Водную фазу три раза экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои один раз промывали водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия, высушивали над безводным сульфатом магния, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением целевого промежуточного соединения. ЖХМС-ИЭР+ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычисл. для $\text{C}_{27}\text{H}_{27}\text{Cl}_3\text{FN}_2\text{O}_5$: 584,86; обнаружено: 483,19.

Стадия 8. Получение тозилатной соли 3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)азетидин-3-ола.



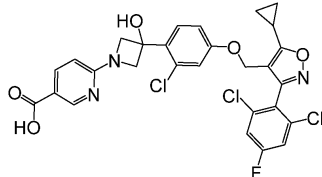
Моногидрат пара-толуолсульфокислоты (3,5 г, 18 ммоль) добавляли к смеси трет-бутил-3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата (5,3 г, 9,1 ммоль) и изопропанола (21 мл). Смесь нагревали в течение ночи при примерно 50°C, а затем охлаждали на бане влажный лед/ацетон при перемешивании с помощью магнитной мешалки. Полученную суспензию нагревали почти до однородности при примерно 50°C. После охлаждения смеси добавляли гексан и полученную суспензию обрабатывали ультразвуком, а затем нагревали до примерно 50°C. Твердое вещество собирали путем фильтрования с отсасыванием, промывали гексаном и сушили в вакуумном шкафу при температуре примерно 75°C с получением тозилатной соли целевого промежуточного соединения. ЖХМС-ИЭР+ (m/z): [M+H]⁺ вычисл. для C₂₂H₁₉Cl₃FN₂O₃: 483,04; обнаружено: 483,19.

Стадия 9. Получение метил-6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотината.



Смесь тозилата 3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)азетидин-3-ола (0,47 г, 0,71 ммоль), метил-6-хлорникотината (0,15 г, 0,90 ммоль) и карбоната калия (0,49 г, 3,6 ммоль) в N,N-диметилформамиде (4 мл) нагревали в течение ночи при 80°C. Смесь распределяли между этилацетатом и водой. Водную фазу три раза экстрагировали этилацетатом. Объединенные экстракты последовательно промывали водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия, высушивали над безводным сульфатом магния, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением целевого промежуточного соединения. ЖХМС-ИЭР+ (m/z): [M+H]⁺ вычисл. для C₂₉H₂₄Cl₃FN₃O₅: 618,07; обнаружено: 618,41.

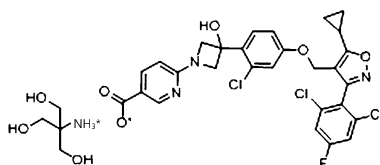
Стадия 10. Получение 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотиновой кислоты.



Смесь метил-6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)изоникотината (0,32 г, 0,51 ммоль) и моногидрата гидроксида лития (43 мг, 1,0 ммоль) в смеси тетрагидрофуран/вода (1:1, 10 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение ночи.

Смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления большей части летучих веществ. Полученную водную смесь дополнительно разбавляли водой и обрабатывали уксусной кислотой, с последующим добавлением 10% водного раствора соляной кислоты. Полученный осадок собирали путем фильтрования с отсасыванием, промывали водой и высушивали в вакуумном шкафу при температуре примерно 50°C, с получением целевого материала в виде свободной кислоты. ЖХМС-ИЭР+ (m/z): [M+H]⁺ вычисл. для C₂₈H₂₂Cl₃FN₃O= 604,05; обнаружено: 604,41.

Стадия 11. Получение трис-соли 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотиновой кислоты.

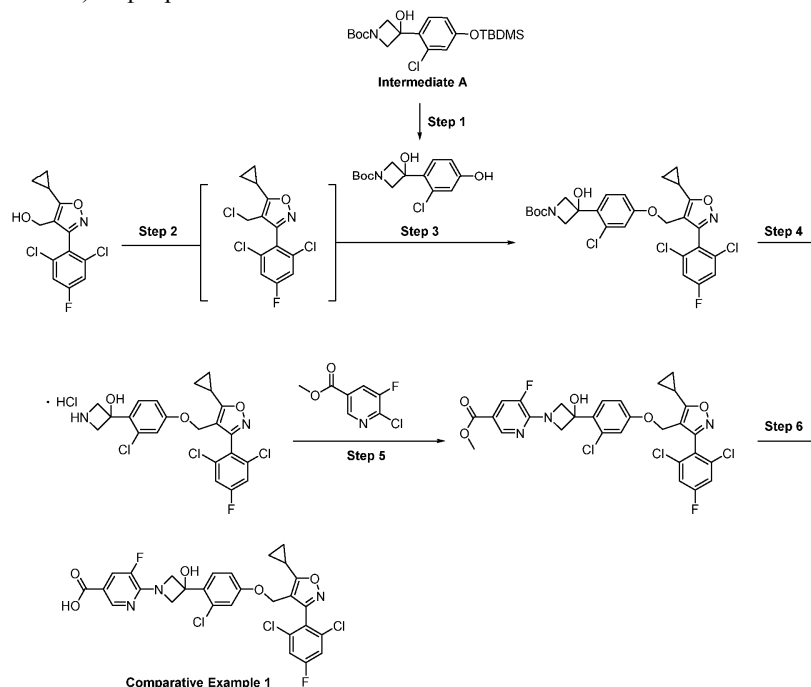


6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотиновую кислоту (0,29 г, 0,48 ммоль) помещали в виде суспензии в Me-

ОН/воду (95:5, 2 мл), обрабатывали трометином (58 мг, 0,48 ммоль), нагревали при 55°C и концентрировали с получением желаемой кислоты в виде соли трометина. ¹H ЯМР (400 МГц, метанол-d₄) δ 8,65 (дд, J=2,2, 0,8 Гц, 1H), 8,05 (дд, J=8,7, 2,2 Гц, 1H), 7,38 (д, J=8,3 Гц, 2H), 7,35 (д, J=8,7 Гц, 1H), 6,87 (д, J=2,6 Гц, 1H), 6,78 (дд, J=8,6, 2,6 Гц, 1H), 6,42 (дд, J=8,8, 0,8 Гц, 1H), 4,92 (с, 2H), 4,57 (дд, J=9,3, 1,1 Гц, 2H), 4,29 (дд, J=9,2, 1,1 Гц, 2H), 3,63 (с, 7H), 2,32 (тт, J=8,0, 5,5 Гц, 1H), 1,25-1,11 (м, 4H).

Пример 2. Синтез сравнительного примера 1

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.



Синтез промежуточного соединения А.

К раствору (4-бром-3-хлорфенокси)-(трет-бутил)диметилсилана (60 г, 187 ммоль) в ТГФ (500 мл) по каплям добавляли n-BuLi (2,5 М, 75 мл) при примерно -78°C в атмосфере N₂. Реакционную смесь перемешивали при температуре примерно -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 примерно 20°C в течение 3 ч. Реакционную смесь выливали в H₂O (1 л) и три раза экстрагировали EtOAc (2 л). Объединенные органические слои промывали водой (1 л), высушивали над Na₂SO₄, 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 примерно -10°C по каплям добавляли 1 М 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 (45 мг, 2,80 ммоль) в ДХМ (28,0 мл) охлаждали до примерно 0°C. Добавляли тионилхлорид (1,02 мл, 14,0 ммоль) и нагревали раствор при примерно 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 нагревали при примерно 60°C в течение 8 ч. Реакционную смесь концентрировали, разбавляли водой и экстрагировали EtOAc (3 раза). Объединенные органические слои промывали водой и солевым раствором, высушивали над MgSO₄, 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):

$[(M+H)-\text{BOC}]^+$ вычисл.: 483,04; обнаружено: 483,04.

Стадия 4: 3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)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-карбоксилата (1,52 г, 2,60 ммоль) в ДХМ (130 мл) добавляли 4 N HCl в 1,4-диоксане (26,0 мл, 104 ммоль). Раствор перемешивали при комнатной температуре 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): $[M+H]^+$ вычисл.: 483,04; обнаружено: 483,03.

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) нагревали при примерно 60°C в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали, разбавляли водой и экстрагировали EtOAc (3 раза). Объединенные органические слои промывали раствором соли, высушивали 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+ (m/z): $[M+H]^+$ вычисл.: 636,07; обнаружено: 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 (сравнительный пример 1).

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 N 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 (сравнительный пример 1). ЖХМС-ИЭР+ (m/z): $[M+H]^+$ вычисл.: 622,05; обнаружено: 622,12. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,84 (уш. с, 1H), 8,44 (т, J=1,7 Гц, 1H), 7,79-7,63 (м, 3H), 7,39 (д, J=8,7 Гц, 1H), 6,95 (д, J=2,5 Гц, 1H), 6,77 (дд, J=8,6, 2,6 Гц, 1H), 6,28 (с, 1H), 4,93 (с, 2H), 4,70 (д, J=9,8 Гц, 2H), 4,34 (д, J=9,5 Гц, 2H), 2,50-2,43 (м, 1H), 1,22-1,08 (м, 4H).

Пример 3. Испытание на активность с использованием FRET

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

Подготовка лиганд-связывающего домена (ЛСД) FXR-альфа человека: ЛСД 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-ЛСД: Выращенную в течение ночи предварительную 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, при комнатной температуре). Клетки повторно суспендировали 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 на льду на 30 мин. Затем клетки обрабатывали ультразвуком и удаляли остатки клеток путем центрифугирования (22000×g, 30 мин, 4°C). На 10 мл надосадочной жидкости добавляли 0,5 мл предварительно промытой суспензии глутатион-4В-сефарозы (Qiagen) и полученную суспензию выдерживали при медленном вращении в течение 1 ч при 4°C. Гранулы глутатион-4В-сефарозы осаждали путем центрифугирования (2000×g, 15 с, 4°C) и два раза промывали в промыточном буфере (25 mM Трис, 50 mM KCl, 4 mM MgCl₂ и 1 M 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 при вращении в течение 15 мин при 4°C, гранулы 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 Hepes (pH 7,5), содержащем 60 mM KCl, 5 mM MgCl₂, а также 1 mM дитиотреита и 10% (об./об.) глицерина. Белок анализировали путем ДНС-ПААГ.

Способ позволяет измерять способность предполагаемых лигандов модулировать взаимодействие между очищенным лиганд-связывающим доменом (ЛСД) FXR, экспрессируемого бактериями, и синте-

тическим 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 (ЛСД) 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 уменьшения фона в технологии LANCE для флуоресценции соединения используют общие флуорофорные метки и анализы с временным разрешением для обнаружения в конечном объеме 25 мкл в 384-луночной планшете в буфере на основе Трис (20 мМ Трис-HCl pH 7,5; 60 мМ KCl, 5 мМ MgCl₂; 35 нг/мкл БСА), содержащем 20-60 нг/луночка рекомбинантно экспрессированного FXR-ЛСД, слитого с GST, 200-600 нМ биотинилированного на N-конец 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 комнатной температуре в черных 384-луночных планшетах для ИФА (Greiner). Сигнал LANCE детектировали при помощи многофункционального счетчика Perkin Elmer VICTOR2VTM. Результаты визуализировали путем построения графика отношения испускаемого света при 665 и 615 нм. Нулевой 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 табл. 1 (FRET EC₅₀). Как указано в табл. 1, соединение примера 1 оценивали вместе со сравнительным примером 1 и сравнительным примером 2 (пример 3 публикации патентной заявки США № 2017/0355685), химические структуры которых изображены в таблице ниже.

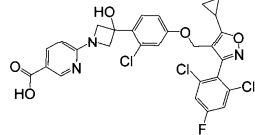
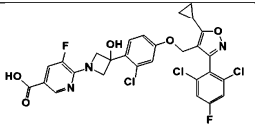
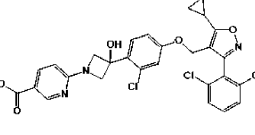
Пример 4. Испытание в одногибридной системе млекопитающих (M1H)

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

Часть кДНК, кодирующую 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 промотор CMV, контролирующий экспрессию люциферазы *Renilla reniformis*. Все анализы Gal4 репортерного гена проводили в клетках HEK293 (полученных от DSMZ, Braunschweig, Germany), выращенных в МПС с L-глутамином и ССР Эрла, дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой, 0,1 мМ заменимыми аминокислотами, 1 мМ пируватом натрия и 100 единицами пенициллин/стрептавидин на мл при примерно 37°C в 5% атмосфере CO₂. Среду и добавки получали от Invitrogen. Для анализа 5×10⁵ клеток на лунку высевали в 96-луночные планшеты в 100 мкл на лунку МПС без фенолового красного и L-глутамин и с ССР Эрла, дополненной ФБС (HyClone, South Logan, Utah), обработанной 10% уголь/декстран, 0,1 мМ заменимыми аминокислотами, 2 мМ глутамином, 1 мМ пируватом натрия и 100 единицами пенициллин/стрептавидин на мл, и инкубировали при температуре примерно 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. МПС 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 МПС (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 (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 М1Н анализе, и результаты приведены ниже в табл. 1 (М1Н EC₅₀).

Таблица 1

Пример		FRET EC ₅₀ (нМ)	М1Н EC ₅₀ (нМ)
Пример 1		14,2	5,5
Сравнительный пример 1		7,5	1,2
Сравнительный пример 2		3,4	2

Пример 5. Оценка фармакодинамики *in vivo* у яванских макак.

Фармакодинамику *in vivo* формулы (I) примера 1, сравнительного примера 1 и сравнительного примера 2 определяли следующим образом.

Испытуемый образец и его получение

Дозы суспензии для перорального приема:

Дозы раствора для перорального приема формулы (I) (пример 1) готовили в концентрациях 1 мг/мл в водных суспензиях 1% лаурилсульфата натрия (ЛСН), 1% этанола и 98% воды при pH 2. Дозы суспензии для перорального приема сравнительного примера 1 и сравнительного примера 2 составляли в концентрациях 2,5 мг/мл в 1% гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ), 0,5% Твин 80 и 98,5% воды.

Внутривенные дозы:

Внутривенные дозы соединений формулы (I) (пример 1), сравнительного примера 1 и сравнительного примера 2 готовили в концентрациях 0,5 мг/мл в носителе, содержащем 5% ДМСО, 15% НМП, 60% ПЭГ 300 и воду с 1,1 эквивалентами NaOH.

Животные:

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

Дозирование:

Испытуемые образцы для перорального приема вводили обезьянам через желудочный зонд в дозе 2 мл/кг или через назогастральную интубацию в дозе 5 мл/кг для получения дозы 5 мг/кг. Испытуемые образцы для внутривенного введения вводили в виде приблизительно 30-минутной инфузии через постопоянный катетер в подкожной или головной вене в дозе приблизительно 2 мл/кг для получения дозы 1 мг/кг.

Отбор образцов:

Образцы венозной крови у 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:

Для анализа на системе API 5000 ЖХ/МС/МС аликвоту 50 мкл каждого образца плазмы обрабатывали 200 мкл ацетонитрила (АЦН), содержащего внутренний стандарт. Указанный выше раствор 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. Аликвоты 10 мкл вводили в систему API 5000 ЖХ/МС/МС.

Для анализа в системе Applied Biosystems API 5500 ЖХ/МС/МС аликвоту 20 мкл каждого образца плазмы обрабатывали 120 мкл ацетонитрила (АЦН), содержащего внутренний стандарт. Указанный выше раствор центрифугировали и 100 мкл надосадочной жидкости переносили в чистый 96-луночный

планшет с последующим добавлением 100 мкл воды. Аликвоты 7-10 мкл вводили в систему API 5500 ЖХ/МС/МС.

Условия ВЭЖХ:

Использовали колонку для ВЭЖХ Zorbax Extend C18 (50×2,1 мм, 3,5 мкм) производства Agilent Technologies (продукт № 735700-902) (сравнительный пример 1 и сравнительный пример 2) или колонку Waters VEN C18 (50×2,1 мм, 1,7 мкм) (пример 1). Для ВЭЖХ Zorbax Extend C18 подвижная фаза А содержала водный раствор 1% ацетонитрила в 10 мМ формиате аммония, доведенный до pH 3,0 муравьиной кислотой, и подвижная фаза В содержала 10% 10 мМ формиата аммония в ацетонитриле, доведенный до pH 4,6 муравьиной кислотой. Для колонки Waters VEN C18 подвижная фаза А содержала 95% воды, 5% ацетонитрила и 0,1% муравьиной кислоты, а подвижная фаза В содержала 50% метанола, 50% ацетонитрила и 0,1% муравьиной кислоты. Для элюирования и разделения применяли мультиплексор Thermo Agia с двумя идентичными бинарными насосами Agilent серии 1200 (P/N G1312A Bin Pump). Применяемые программы элюирования приведены в следующей табл. 2 для колонки ВЭЖХ Zorbax Extend C18 и в табл. 3 для колонки Waters VEN C18.

Таблица 2

<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

Таблица 3

<i>Время (сек)</i>	<i>Стадия</i>	<i>Расход (мл/мин)</i>	<i>Подвижная фаза А (%)</i>	<i>Подвижная фаза В (%)</i>
0	Загрузка образца	0,80	45	55
60	Постепенное изменение состава элюента	0,80	35	65
63	Постепенное изменение состава элюента	0,80	5	95
78	Постепенное изменение состава элюента	0,80	5	95
90	Стадия	0,80	45	55

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

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

Пероральное и в/в введение яванским макакам

Активация фарнезоидного рецептора X в дистальном отделе тонкой кишки, а также системно в таких органах, как печень, непосредственно вызывает экспрессию и секрецию FGF19. Уровни FGF19 в плазме оценивали как фармакодинамический маркер активации FXR у самцов яванских макак после перорального и внутривенного введения доз примера 1, сравнительного примера 1 или сравнительного примера 2. Различия между уровнями FGF19 после перорального введения (п/о) и внутривенного (в/в) введения использовали для сравнения степени кишечного агонизма FXR (посредством анализа данных п/о) и системного агонизма FXR (посредством анализа данных в/в введения) для каждого введенного соединения. Уровни препарата и FGF19 в плазме измеряли в различные моменты времени в течение 24-часового периода для получения фармакокинетических и фармакодинамических кривых.

На фиг. 1 показан график концентрации FGF19 в плазме с течением времени у яванских макак после введения дозы соединения из примера 1.

На фиг. 2 показан график концентрации FGF19 в плазме с течением времени у яванских макак после введения дозы соединения из сравнительного примера 1.

На фиг. 3 показан график концентрации FGF19 в плазме с течением времени у яванских макак после введения дозы соединения из сравнительного примера 2.

Фармакокинетические данные обобщены в табл. 5 ниже.

Таблица 5

Пример	Группа	FGF19 C _{макс} (пг/мл)	FGF19 ППК _{посл} (пг/мл.ч)	GS-ППК _{посл} (нМ.ч)	Отношение ППК _{посл} к FGF19/GS	ПО/ВВ
Пример 1	ВВ	432 +/- 100	5144 +/- 2199	3150 +/- 1030	1,6	7,8
	ПО	6260 +/- 2194	28153 +/- 11539	2250 +/- 1640	12,5	
Сравнительный пример 1	ВВ	2350 +/- 179	22798 +/- 2387	1630 +/- 323	14	1,37
	ПО	3810 +/- 195	32085 +/- 4252	1670 +/- 250	19,2	
Сравнительный пример 2	ВВ	1179 +/- 226	10757 +/- 2551	3140 +/- 167	3,4	8,2
	ПО	3186 +/- 856	18193 +/- 7134	643 +/- 216	28	

Как отражено в результатах, пероральное введение примера 1, сравнительного примера 1 и сравнительного примера 2 вызывало увеличение уровня FGF19 в плазме в течение интервала дозирования по сравнению с исходными уровнями FGF19 перед введением дозы. Это указывает на агонизм кишечного рецептора FXR. В/в введение примера 1 не вызывало увеличения FGF19, что указывает на отсутствие системного агонизма FXR. Напротив, в/в введение сравнительных примеров 1 и 2 повышало уровни FGF19 по сравнению с исходными уровнями FGF19 перед введением дозы, что указывает на системный агонизм FXR.

Эти данные позволяют предположить, что воздействие на подвздошную кишку примера 1 и сравнительного примера 2 вызывает активацию FXR в кишечном эпителии. Данные дополнительно позволяют предположить, что системное воздействие сравнительного примера 1 и сравнительного примера 2 посредством в/в введения вызывает большую системную активацию FXR вне кишечника по сравнению с примером 1.

Пример 6. Ингибирование UGT1A1

Соединение формулы (I) (пример 1) тестировали на ингибирование UGT1A1 и сравнивали со сравнительным примером 1. Для выполнения анализа образец соединения инкубировали с человеческим UGT1A1, экспрессированным Supersomes™ (0,25 мг/мл), аламетицином (25 мкг/мл) и УДФГК (5 мМ) в присутствии маркерного субстрата эстрадиола (10 мкМ) в течение 30 мин при 37°С. Селективный ингибитор UGT1A1, атазанавир, подвергали скринингу вместе с тестируемыми соединениями в качестве положительного контроля. Реакции завершали гашением аликвоты в двух объемах метанола. Образцы центрифугировали при 2500 об./мин в течение 30 мин при 4°С, а аликвоты супернатанта разбавляли муравьиной кислотой в деионизированной воде (конечная концентрация муравьиной кислоты 0,1%) с внутренним стандартом. Для мониторинга образования 3-глюкуронида эстрадиола использовали общие ЖХ-МС/МС условия Suprotex. Снижение образования метаболита по сравнению с контрольным растворите-

лем применяли для расчета значения IC_{50} .

Данные показали, что соединение из примера 1 продемонстрировало наиболее сильное ингибирование UGT1A1 по сравнению с другими соединениями. Пример 1 имел IC_{50} , равную 0,44 мкМ.

Пример 7. Ингибирование CYP2C8, CYP3A4 и CYP2B6

Соединение формулы (I) (пример 1) оценивали на ингибирование CYP2C8, CYP3A4 и CYP2B6 и сравнивали с сравнительным примером 1.

CYP2C8

Шесть концентраций образца соединения (0,1, 0,25, 1, 2,5, 10, 25 мкМ в ДМСО; конечная концентрация ДМСО 0,25%) инкубировали с микросомами печени человека (1 мг/мл) и НАДФН (1 мМ) в присутствии маркерного субстрата толбутамида (120 мкМ) в течение 60 мин при 37°C. Селективный ингибитор CYP2C9, сульфафеназол, подвергали скринингу вместе с исследуемыми соединениями в качестве положительного контроля.

CYP3A4

Шесть концентраций соединения образца (0,1, 0,25, 1, 2,5, 10, 25 мкМ в ДМСО; конечная концентрация ДМСО 0,26%) инкубировали с микросомами печени человека (0,1 мг/мл) и НАДФН (1 мМ) в присутствии маркерного субстрата мидазолама (2,5 мкМ) в течение 5 мин при 37°C. Селективный ингибитор CYP3A4, кетоконазол, подвергали скринингу вместе с исследуемыми соединениями в качестве положительного контроля. В качестве альтернативы, шесть концентраций соединения образца (0,1, 0,25, 1, 2,5, 10, 25 мкМ в ДМСО; конечная концентрация ДМСО 0,275%) инкубировали с микросомами печени человека (0,5 мг/мл) и НАДФН (1 мМ) в присутствии маркерного субстрата тестостерона (50 мкМ) в течение 5 мин при 37°C. Селективный ингибитор CYP3A4, кетоконазол, подвергали скринингу вместе с исследуемыми соединениями в качестве положительного контроля.

CYP2B6

Шесть концентраций исследуемого соединения (0,1, 0,25, 1, 2,5, 10, 25 мкМ в ДМСО; конечная концентрация ДМСО 0,3%) инкубировали с микросомами печени человека (0,1 мг/мл) и НАДФН (1 мМ) в присутствии маркерного субстрата бупропиона (110 мкМ) в течение 5 мин при 37°C. Селективный ингибитор CYP2B6, тиклопидин, подвергали скринингу вместе с исследуемыми соединениями в качестве положительного контроля.

Для каждой из инкубации CYP2B6, CYP2C8 и CYP3A4 реакции останавливали добавлением метанола. Затем образцы центрифугировали и анализировали с помощью ЖХ-МС/МС. Муравьиную кислоту в деионизированной воде (конечная концентрация 0,1%), содержащую внутренний стандарт, добавляли к окончательному образцу перед анализом. Для расчета IC_{50} использовали снижение образования метаболитов по сравнению с контрольным растворителем.

Данные показали, что соединение из примера I не ингибирует CYP2B6, тогда как сравнительный пример 1 ингибирует CYP2B6.

Пример 8. Получение формы I мезилата формулы (I)

Форму I мезилата формулы (I) получали путем объединения 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотиновой кислоты (0,050 г, 0,0827 ммоль) с метансульфоновой кислотой (8 мкл, 0,123 ммоль) во флаконе с изопропиловым спиртом (1 мл) с получением суспензии. Суспензию нагревали до примерно 50°C в течение примерно 30 мин, затем медленно охлаждали до комнатной температуры и оставляли суспензию на примерно 16 ч. Затем суспензию фильтровали и выделенные твердые вещества характеризовали с помощью ПРД, представленной на фиг. 4. Затем твердые вещества высушивали в вакуумном шкафу при примерно 50°C и характеризовали с помощью ПРД, в результате чего получали тот же паттерн. Пики ПРД формы I мезилата формулы (I) включали пики при 3,2, 6,4, 9,6, 12,8, 19,3, 22,1, 22,6, 25,8, 29,1° 2θ. Полученные пики ПРД представлены ниже в таблице.

Таблица

№	Полож. [°2θ]	Отн. Инт. [%]
1	3,2	55
2	6,4	24
3	8,0	4
4	9,6	78
5	10,6	3
6	12,8	46
7	17,3	4
8	18,2	7
9	19,3	59
10	20,1	2
11	22,1	23
12	22,6	100
13	23,7	6
14	24,3	10
15	25,8	20
16	26,5	3
17	27,3	5
18	28,1	3
19	29,1	19
20	32,5	12
21	34,4	3
22	35,5	2
23	36,9	9

Были выполнены анализы ДСК и ТГА. Термограмма ДСК формы I мезилата формулы (I) показала эндотермическое явление при примерно 221°C с последующим экзотермическим явлением, как показано на фиг. 5. Термограмма ТГА формы I мезилата формулы (I) показала потерю массы примерно 0,6% при нагревании до примерно 200°C, как показано на фиг. 6.

Форму I мезилата формулы (I) также получали при взятии 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотиновой кислоты (3,00 г, 4,96 ммоль) в виде суспензии в MeCN/воде (1,5:1 об./об., 15 мл) и обработке водным раствором гидроксида натрия (30% масс, 0,56 мл, 5,95 ммоль). Полученный раствор затем подавали в течение нескольких часов во второй сосуд, содержащий перемешиваемый раствор метансульфоновой кислоты (1,0 мл, 15,9 ммоль) в MeCN (15 мл), предварительно нагретый до примерно 50°C. Полученную суспензию выдерживали при примерно 50°C в течение нескольких часов и затем охлаждали до примерно 20°C. Суспензию фильтровали под вакуумом и полученные твердые вещества высушивали в вакууме при повышенной температуре до примерно 60°C с получением формы I мезилата формулы (I).

Форму I мезилата формулы (I) также получали взятием 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-фторфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотиновой кислоты (0,5 г, 0,83 ммоль) в виде суспензии в смеси ацетон/вода (97:3 об./об., 10 мл) и нагреванием до примерно 55°C. В полученную суспензию добавляли метансульфоновую кислоту (60 мкл, 0,91 ммоль) и выдерживали смесь при примерно 55°C в течение нескольких часов. Суспензию охлаждали до примерно 20°C и фильтровали под вакуумом. Полученные твердые вещества промывали ацетоном и высушивали в вакууме при повышенной температуре до примерно 60°C с получением формы I мезилата формулы (I).

Если не указано иное, все технические и научные термины, применяемые в настоящем изобретении, 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 изобретении, и что такие модификации, улучшения и изменения включены в объем настоящего изобретения. Материалы, способы и примеры, представленные в настоящем изобретении, 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 изобретении. 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 изобретении или нет.

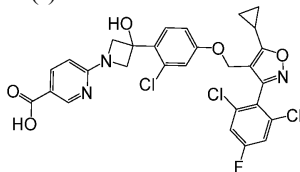
Кроме того, если отличительные признаки или аспекты настоящего изобретения описаны в терминах групп Маркуша, специалистам в данной области техники понятно, что настоящее изобретение также описано в терминах любого отдельного члена или подгруппы членов группы Маркуша.

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 следующей формулы (I):



или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Применение соединения по п.1 или его фармацевтически приемлемой соли для лечения состояния, опосредованного фарнезоидным рецептором X (FXR).

3. Применение соединения по п.2 или его фармацевтически приемлемой соли, отличающееся тем, что указанное состояние, опосредованное FXR, представляет собой заболевание печени.

4. Применение соединения по любому из пп.2 или 3 или его фармацевтически приемлемой соли, отличающееся тем, что указанное состояние, опосредованное FXR, представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).

5. Применение соединения по любому из пп.2, 3 или его фармацевтически приемлемой соли, отличающееся тем, что указанное состояние, опосредованное FXR, представляет собой первичный склерозирующий холангит (ПСХ).

6. Применение соединения по любому из пп.2, 3 или его фармацевтически приемлемой соли, отличающееся тем, что указанное состояние, опосредованное FXR, представляет собой первичный билиарный холангит (ПБХ).

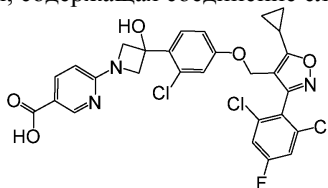
7. Применение соединения по любому из пп.2, 3 или его фармацевтически приемлемой соли, отличающееся тем, что указанное состояние, опосредованное FXR, представляет собой фиброз печени.

8. Применение соединения по п.2 или 3, отличающееся тем, что указанное состояние, опосредованное FXR, выбрано из группы, состоящей из

- хронического внутрипеченочного или внепеченочного холестатического состояния;
- фиброза печени;
- хронического или обструктивного воспалительного расстройства печени;
- цирроза печени;
- стеатоза печени или связанного с ним синдрома;
- холестатического или фиброзного эффекта, связанного с циррозом, вызванным алкоголем, или с вирусными формами гепатита;
- острой или хронической печеночной недостаточности;
- ишемии печени после обширной резекции печени;
- стеатогепатита, ассоциированного с химиотерапией (СГАХ);
- первичного билиарного цирроза (ПБЦ);
- первичного склерозирующего холангита (ПСХ);
- опухолевого заболевания желудочно-кишечного тракта или печени и
- воспалительного заболевания кишечника (ВЗК);
- расстройства липидного обмена или расстройства липопротеинового обмена;
- диабета I типа;
- диабета II типа;
- клинических осложнений диабета I типа и II типа, выбранных из группы, состоящей из диабетической нефропатии, диабетической невропатии, диабетической ретинопатии и других наблюдаемых эффектов клинически проявляющегося долговременного диабета;
- неалкогольной жировой болезни печени (НЖБП);
- неалкогольного стеатогепатита (НАСГ);
- ожирения;
- метаболического синдрома, выбранного из группы, состоящей из комбинированных состояний из дислипидемии, диабета и аномально высокого индекса массы тела;
- острого инфаркта миокарда;
- острого инсульта и
- тромбоза, возникающего как конечная стадия хронического обструктивного атеросклероза;
- незлокачественного гиперпролиферативного расстройства;
- злокачественного гиперпролиферативного расстройства, выбранного из группы, состоящей из гепатоцеллюлярной карциномы, аденомы толстой кишки и полипоза;

аденокарциномы толстой кишки;
рака молочной железы;
аденокарциномы поджелудочной железы и пищевода Барретта.

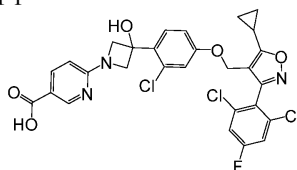
9. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение следующей формулы (I):



или его фармацевтически приемлемую соль, и фармацевтически приемлемый носитель.

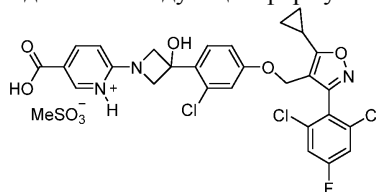
10. Применение соединения или его фармацевтически приемлемой соли по п.1 для получения лекарственного средства для лечения состояния, опосредованного фарнезоидным рецептором X (FXR).

11. Применение терапевтически эффективного количества соединения формулы (I)



или его фармацевтически приемлемой соли для ингибирования UGT1A1 у пациента с заболеванием печени.

12. Кристаллическая форма I соединения следующей формулы:



характеризующаяся дифрактограммой рентгеновской дифракции, содержащей 2 θ -отражения при 9,6, 19,3 и 22,6° 2 θ , плюс-минус 0,2° 2 θ .

13. Кристаллическая форма по п.12, характеризующаяся дифрактограммой рентгеновской дифракции, дополнительно содержащей 2 θ -отражения при 3,2, 6,4 и 12,8° 2 θ , плюс-минус 0,2° 2 θ .

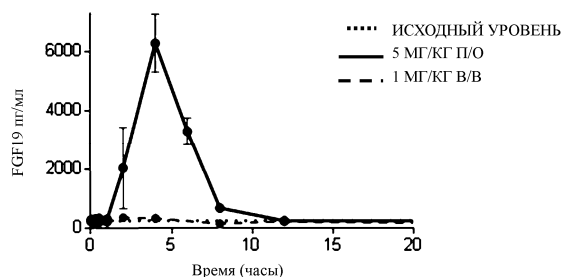
14. Кристаллическая форма по любому из пп.12 или 13, характеризующаяся дифрактограммой рентгеновской дифракции, дополнительно содержащей 2 θ -отражения при 22,1, 25,8, 29,1° 2 θ , плюс-минус 0,2° 2 θ .

15. Кристаллическая форма по любому из пп.12-14, характеризующаяся дифрактограммой рентгеновской дифракции, по существу такой, как показано на фиг. 4.

16. Кристаллическая форма по любому из пп.12-15, характеризующаяся термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии, содержащей эндотермическое явление с началом при температуре примерно 221°C.

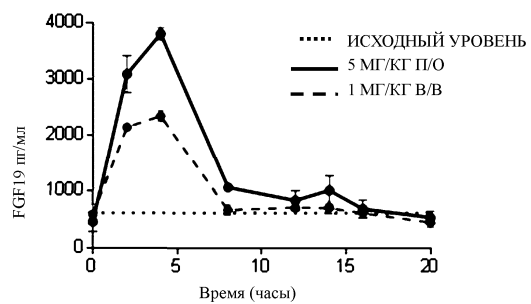
17. Кристаллическая форма по любому из пп.12-16, характеризующаяся термограммой дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу такой, как показано на фиг. 5.

18. Кристаллическая форма по любому из пп.12-17, имеющая по существу такую характеристику термогравиметрического анализа, как показано на фиг. 6.

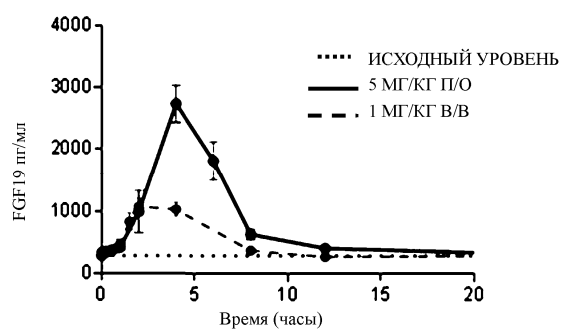


Фиг. 1

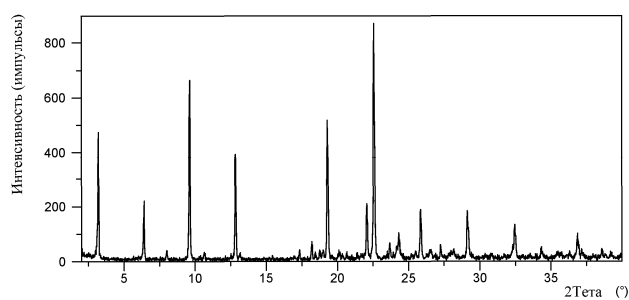
046251



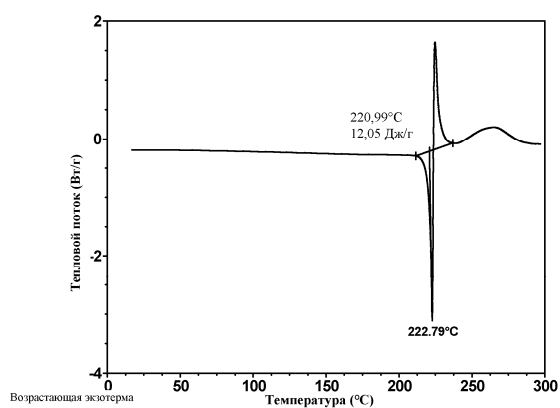
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

