

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **047211**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.06.20

(21) Номер заявки
202290623

(22) Дата подачи заявки
2020.10.16

(51) Int. Cl. **C07D 471/04** (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) **МОДУЛЯТОРЫ СВЯЗАННОГО С ЭСТРОГЕНОМ РЕЦЕПТОРА АЛЬФА (ERR α)**

(31) **19204189.5**

(32) **2019.10.18**

(33) **EP**

(43) **2022.07.18**

(86) **PCT/EP2020/079166**

(87) **WO 2021/074365 2021.04.22**

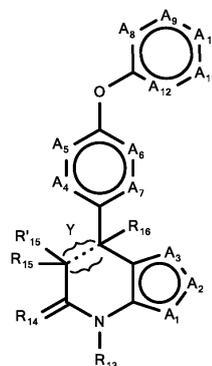
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЛИД ФАРМА ХОЛДИНГ Б.В. (NL)

(72) Изобретатель:
**Леммерс Яп Герардус Хенрикус,
Деретей Эген, Кломп Йоханнес
Петрус Герардус, Калс Йосеф Мария
Герардус, Аубри Артур (NL)**

(74) Представитель:
**Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатьев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)**

(56) **WO-A1-2008109727**
DATABASE REGISTRY [Online];
CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE,
COLUMBUS, OHIO, US; 14 April 2011
(2011-04-14), XP002801594, retrieved from STN,
Database accession no. 1279843-75-2, Compounds
with RN numbers 1279857-55-4 and 1279843-75-2.

(57) Изобретение относится к соединениям согласно формуле I и их фармацевтически приемлемым солям. Эти соединения могут быть использованы в качестве модуляторов связанного с эстрогеном рецептора альфа (ERR α) и применены в лечении ERR α -опосредованных заболеваний или состояний.



(Формула I)

047211
B1

047211
B1

Предшествующий уровень техники

Связанный с эстрогеном рецептор альфа (ERR α) представляет собой белок 45,5 килодальтон (кДа) из 423 аминокислотных остатков, который принадлежит суперсемейству ядерных рецепторов (NR). Это семейство ядерных рецепторов содержит 48 генов, кодирующих ДНК-связывающие транскрипционные факторы, которые вовлечены в регуляцию разнообразных функций, в том числе, среди прочего, гомеостаз, репродукцию, развитие и метаболизм. Семейство ERR, подгруппа NR3B, состоит из ERR α , ERR- β и ERR- γ ; на сегодняшний день эндогенные лиганды не были идентифицированы ни для одной из изоформ ERR, и поэтому они считаются орфанными рецепторами.

В Bookout et al. *Anatomical profiling of nuclear receptor expression reveals a hierarchical transcriptional network*, Cell. 126:789-99 (2006), анализ профиля экспрессии этих трех изоформ ERR в масштабах всего организма выявил, что ERR α широко распространен со значительной экспрессией белка в большинстве тканей взрослых. Нокаутные исследования членов семейства ERR выявили, что каждый рецептор имеет ткане- и функция-специфичные метаболические фенотипы, которые важны для адаптации к энергетическому стрессу на уровне всего организма. Нокаутные исследования также показали ограниченную *in vivo* компенсацию среди членов семейства ERR. В этом контексте можно отметить сведения, изложенные, среди прочего, в Tremblay et al. *The NR3B subgroup: overview*, Nuclear Receptor Signaling, 5:e009 (2007).

Геномные исследования показали, что ERR α регулирует большое количество генов. Следующие источники информации являются иллюстративными в этом отношении: Puigserver et al. *Cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis*, Cell. 92(6):829-839 (1998); Yoon et al. *Control of hepatic gluconeogenesis through transcriptional coactivator PGC-1*, Nature 413(6852): 131-138 (2001); Huss et al. *Estrogen-related receptor alpha directs peroxisome proliferator-activated receptor at signaling in transcriptional control of energy metabolism in cardiac and skeletal muscle*, Mol. Cell Biol. 24(20):9079-9091 (2004); и Mootha et al. *ERR α and Gabpa/b specify PGC-1 alpha-dependent oxidative phosphorylation gene expression that is altered in diabetic muscle*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 101(17):6570-6575 (2004).

Эти источники информации подтверждают физиологическую модель функции ERR α в регуляции энергетического метаболизма и, в частности, в транскрипционной регуляции генов, необходимых для митохондриального биогенеза, цикла трикарбоновых кислот, окислительного фосфорилирования, окисления жирных кислот и метаболизма липидов. В частности, ERR α индуцирует экспрессию ядерного респираторного фактора 1 (NRF1), GA-связывающего белка альфа (GABP α) и активируемого пролифератором пероксисом рецептора альфа (PPAR α). Коактиваторы ядерных рецепторов коактиватор 1-альфа активируемого пролифератором пероксисом рецептора гамма (PGC-1 α), PGC-1 β и связанный с коактиватором активируемого пролифератором пероксисом рецептора гамма белок 1 (PPRC-1) участвуют в регуляции этих генов и в ауторегуляции экспрессии ERR α . PGC-1 α экспрессируется при низких базальных уровнях, но индуцируется голоданием и другими метаболическими стрессами. PGC-1 β , связанный коактиватор, имеет сходные функции, но его экспрессия не может регулироваться так сильно колебаниями энергопотребления. Напротив, корепрессоры, которые связываются с ERR, такие как корепрессор ядерный рецептор-взаимодействующий белок 140 (RIP140), конкурируют с коактиваторами ERR за отрицательную регуляцию ERR-зависимой экспрессии гена.

Плейотропное воздействие активности ERR α на энергетический метаболизм заинтересовал авторов настоящего изобретения в возможности того, что он должен стать мишенью для раскрытия новых терапий для заболеваний, при которых метаболические расстройства или модификации играют центральную роль, таких как диабет 2 типа, прогрессирующая сердечная недостаточность, остеопороз и рак. Особый интерес представляет ERR α в качестве новой мишени для терапии опухолей посредством воздействия на регуляцию энергетического метаболизма опухолевых клеток, ассоциированного с энергетическим стрессом в микроокружении опухоли. И отдельный интерес представляет ERR α в качестве новой мишени для терапевтического лечения видов рака со стволоподобными свойствами, раковыми стволовыми клетками (CSC), опухоль-иницирующими клетками (TIC) и циркулирующими опухолевыми клетками (CTC), которые находятся в зависимости от митохондриального дыхания для удовлетворения своих энергетических потребностей.

Известно, что иницирование и развитие рака связано, в частности, с серьезными метаболическими изменениями, и митохондрии играют ключевую роль в опухолегенезе. Общей аномалией, наблюдаемой при многих типах рака, называемой эффектом Варбурга, является сдвиг в метаболизме глюкозы от окислительного фосфорилирования к аэробному гликолизу, и он характеризуется резким увеличением потребления глюкозы, сопровождающимся повышением темпа экскреции лактата независимо от относительного содержания кислорода; аэробный гликолиз удовлетворяет метаболические потребности в высокой степени пролиферативных клеток, включая обеспечение достаточной энергией и обеспечение накопления предшественников для анаболических реакций. LeBleu et al. (PGC-1 α mediates mitochondrial biogenesis and oxidative phosphorylation in cancer cells to promote metastasis, Nat. Cell Biol. 16(10):992-1 (2014)) продемонстрировали, что опухолевые клетки проявляют метаболическую пластичность для включения либо гликолиза, либо окислительного фосфорилирования в зависимости от окружения опухолей и их пролиферативного или метастазирующего фенотипа во время прогрессирования рака. Таким

образом, очевидно, что направленное воздействие на метастатические предшественники и резистентные опухолевые клетки должно происходить не только гликолитическим путем, но и путем митохондриального окислительного фосфорилирования.

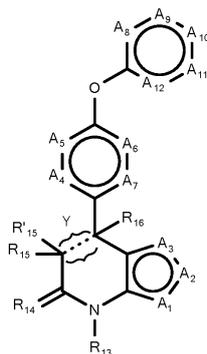
ERR α , вместе с PGC1 α/β , контролирует регуляцию генов, кодирующих ферменты в цикле трикарбоновой кислоты (TCA), и окислительное фосфорилирование. Как обсуждается в Ariazi et al. Estrogen-related receptor alpha and estrogen-related receptor gamma associate with unfavorable and favorable biomarkers, respectively, in human breast cancer, *Cancer Res.* 62(22):6510-8 (2002), ERR α экспрессируется в ряде раковых клеток, включая клетки рака молочной железы и рака предстательной железы, и связан с более инвазивным заболеванием и более высоким риском рецидивов при обоих этих типах рака.

В Chang et al. Metabolic regulator ERR α , downstream target of HER2/IGF-1R, as therapeutic target in breast cancer, *Cancer Cell* 20, 500-510 (2011) и Fujimoto et al. Clinical implication of estrogen-related receptor (ERR) expression in ovarian cancers, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 104, 301-304 (2007) задокументировано, что ERR α экспрессируется в большинстве раковых опухолей, и что повышенная активность этого рецептора связана с негативным исходом как при раке молочной железы, так и при раке яичника. В первом из этих источников информации подтверждается, что этот транскрипционный фактор вовлечен в митохондриальный биогенез, а также в регуляцию окислительного фосфорилирования. Этот последний пункт считается важным, так как устойчивость к ингибированию KRAS пути при раке поджелудочной железы, ингибиторам BRAF при меланоме и оксалиплатину при раке ободочной кишки также связаны со сдвигом к окислительному метаболизму.

Поэтому авторы настоящего изобретения выдвинули предположение, что ингибирование активности ERR α позволит селективно нарушать митохондриальную функцию при раке, в частности при вышеупомянутых типах рака. Для этой цели, но в равной степени для полезности в лечении других ERR α -опосредованных заболеваний и состояний они разработали нековалентные нестероидные обратные агонисты ERR α .

Краткое изложение сущности изобретения

В соответствии с первым аспектом настоящего изобретения предложено соединение согласно формуле I



(Формула I)

или его фармацевтически приемлемая соль, где

Y представляет собой одинарную углерод-углеродную связь или двойную углерод-углеродную связь, при условии, что когда Y представляет собой двойную углерод-углеродную связь, тогда R'₁₅ и R₁₆ отсутствуют;

одно из трех положений A₁-A₃ представляет собой либо S, либо NR_A, остальные два положения A₁-A₃ представляют собой N или CR₁, CR₂, CR₃ соответственно;

R_A представляет собой H или метил;

R₁-R₃ независимо представляют собой H, метил, amino или галоген;

A₄-A₇ представляют собой CR₄, CR₅, CR₆ и CR₇ соответственно;

A₈-A₁₂ представляют собой N или CR₈, CR₉, CR₁₀, CR₁₁ и CR₁₂ соответственно, при условии, что не более чем два из пяти положений A₈-A₁₂ одновременно могут представлять собой N;

R₄-R₇ независимо представляют собой H, галоген, C(1-3)алкокси, C(1-3)алкил;

R₈-R₁₂ независимо представляют собой H, галоген, C(1-3)алкокси, C₍₁₋₄₎алкил, циано, нитро, -C(=O)OR₁₇, гидроксил, C(3-6)циклоалкил, бензил, фенил, -SF₅, бицикло[1.1.1]пентан;

или R₉ и либо R₈, либо R₁₀ конденсированы и образуют ароматическое или неароматическое пятичленное кольцо, содержащее два-семь атомов углерода и ноль-три гетероатома; и все атомы углерода возможно замещены одним или более чем одним метилом, галогеном или гидроксильной группой;

R₁₃ представляет собой H или метил;

R₁₄ представляет собой NH, O или S;

R'₁₅ представляет собой H, галоген, C(1-4)алкил, -C(=O)OR₁₇ или -C(=O)NR₁₇R₁₇;

R₁₅ представляет собой H, галоген или C(1-4)алкил;

R₁₆ представляет собой H; и

R₁₇ представляет собой H, метил или этил,

где атомы углерода в C(1-4)алкиле, C(1-3)алкиле, метиле и этиле возможно замещены одним или более чем одним галогеном или гидроксилом, где атомы углерода в C(3-6)циклоалкиле возможно замещены галогеном или метилом, и где атомы углерода в C(1-3)алкокси возможно замещены одним или более чем одним F или гидроксилом.

В другом воплощении изобретение относится к соединению согласно формуле I, где A₁ представляет собой N, A₂ представляет собой NR_A, и A₃ представляет собой CR₃, в частности, где A₁ представляет собой N, A₂ представляет собой NH и A₃ представляет собой CH.

В другом воплощении изобретение относится к соединению согласно формуле I, где R₅ представляет собой C(1-3)алкокси, и R₄, R₆ и R₇ представляют собой H, в частности, где R₅ представляет собой метокси, и R₄, R₆ и R₇ представляют собой H.

В другом воплощении изобретение относится к соединению согласно формуле I, где A₈-A₁₂ представляют собой CR₈, CR₉, CR₁₀, CR₁₁ и CR₁₂ соответственно.

В другом воплощении изобретение относится к соединению согласно формуле I, где R₈-R₁₂ независимо представляют собой H, C(1-4)алкил, галоген, гидроксил, C(1-3)алкокси, в частности, где R₉ и R₁₁ представляют собой C(1-4)алкил, и R₈, R₁₀ и R₁₂ представляют собой H, в частности, где R₉ и R₁₁ представляют собой CF₃, и R₈, R₁₀ и R₁₂ представляют собой H.

В другом воплощении изобретение относится к соединению согласно формуле I, где R₁₃ представляет собой H.

В другом воплощении изобретение относится к соединению согласно формуле I, где R₁₄ представляет собой O.

В другом воплощении изобретение относится к соединению согласно формуле I, где R₁₅ и R'₁₅ представляют собой H.

В другом воплощении изобретение относится к соединению согласно формуле I, где Y представляет собой одинарную углерод-углеродную связь.

В другом воплощении изобретение относится к соединению согласно формуле I, которое выбрано из группы, состоящей из

4-[3-метокси-4-(3-метилфеноксифенил)-2H,4H,5H,6H,7H-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-

она;

4-(2-метокси-4-{6-оксо-2H,4H,5H,6H,7H-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-4-ил}феноксифенил)-3-

(трифторметил)бензонитрила;

4-[3-метокси-4-(2-нитрофеноксифенил)-2H,4H,5H,6H,7H-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-

она;

4-{3-метокси-4-[2-(трифторметил)феноксифенил]-2H,4H,5H,6H,7H-пиразоло[3,4-

b]пиридин-6-она;

4-{3-метокси-4-[4-(трифторметил)феноксифенил]-2H,4H,5H,6H,7H-пиразоло[3,4-

b]пиридин-6-она;
 4-{3-метокси-4-[3-(трифторметил)фенокси]фенил}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-
b]пиридин-6-она;
 4-[4-(2-бромфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-[3-метокси-4-(2-метилфенокси)фенил]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 2-(2-метокси-4-{6-оксо-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-4-ил}фенокси)бензонитрила;
 4-[4-(2-*трет*-бутилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-
b]пиридин-6-она;
 4-[4-(2-хлорфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-{3-метокси-4-[2-(трифторметокси)фенокси]фенил}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-
b]пиридин-6-она;
 4-[3-метокси-4-(2-метоксифенокси)фенил]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-[4-(3-бромфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-[4-(3-*трет*-бутилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-
b]пиридин-6-она;
 4-[4-(3-хлорфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-{3-метокси-4-[3-(трифторметокси)фенокси]фенил}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-
b]пиридин-6-она;
 4-[3-метокси-4-(3-метоксифенокси)фенил]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 метил-3-(2-метокси-4-{6-оксо-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-4-ил}фенокси)бензоата;
 4-[4-(2-этилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-[4-(3-этилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-[3-метокси-4-(2-пропилфенокси)фенил]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-{3-метокси-4-[2-(пропан-2-ил)фенокси]фенил}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-

- b*]пиридин-6-она;
 4-[3-метокси-4-(2-фенилфенокси)фенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-[4-(2-циклопентилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-[4-(2-бензилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-[4-(2-*трет*-бутил-4-метоксифенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-[4-(2-циклопропилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-[4-(3-*трет*-бутил-4-гидроксифенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-{3-метокси-4-[3-(пропан-2-ил)фенокси]фенил}-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-[4-(3-циклопропилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-[4-(2-*трет*-бутил-4-этилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-[4-(4-бром-2-*трет*-бутилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-[4-(2-*трет*-бутил-4-метилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 метил-3-*трет*-бутил-4-(2-метокси-4-{6-оксо-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-4-ил} фенокси)бензоата;
 метил-4-(2-метокси-4-{6-оксо-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-4-ил} фенокси)нафталин-1-карбоксилата;
 4-[4-(2,4-ди-*трет*-бутилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-{3-метокси-4-[3-метокси-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 3-*трет*-бутил-4-(2-метокси-4-{6-оксо-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-4-ил} фенокси)бензонитрила;
 4-{3-метокси-4-[2-(пентафтор- λ^6 -сульфанил)фенокси]фенил}-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 метил-3-(2-метокси-4-{6-оксо-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-4-

ил}фенокси)-5-(трифторметил)бензоата;
 4-{4-[3-бром-5-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-
 пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-
b]пиридин-6-она;
 4-[4-(3,5-ди-*трет*-бутилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-
b]пиридин-6-она;
 4-[4-(2-{бицикло[1.1.1]пентан-1-ил}фенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-
 пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-(2-метокси-4-{6-оксо-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-4-
 ил}фенокси)нафталин-1-карбонитрила,
 4-[4-(2,3-дигидро-1*H*-инден-4-илокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-
b]пиридин-6-она;
 4-{4-[(2,2-диметил-2,3-дигидро-1-бензофуран-7-ил)окси]-3-метоксифенил}-
 2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-[4-(2,3-дигидро-1*H*-инден-5-илокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-
b]пиридин-6-она;
 метил-8-(2-метокси-4-{6-оксо-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-4-
 ил}фенокси)хинолин-5-карбоксилата;
 4-(3-метокси-4-феноксифенил)-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-{3-бром-4-[3-метокси-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-
 пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 3-*трет*-бутил-4-(4-{6-оксо-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-4-
 ил}фенокси)бензонитрила;
 4-{4-[3-метокси-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-
b]пиридин-6-она;
 3-*трет*-бутил-4-(2-метил-4-{6-оксо-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-4-
 ил}фенокси)бензонитрила;
 4-{4-[3-метокси-5-(трифторметил)фенокси]-3-метилфенил}-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-
 пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-{3-фтор-4-[3-метокси-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-
 пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-{4-[2-(пентафтор- λ^6 -сульфанил)фенокси]-3-(трифторметокси)фенил}-
 2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;
 4-{4-[2-(пентафтор- λ^6 -сульфанил)фенокси]фенил}-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-
b]пиридин-6-она;

4-[3-(трифторметокси)-4-[2-(трифторметил)фенокси]фенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-
 пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;

3-*трет*-бутил-4-(2-метокси-4-{6-оксо-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-4-
 ил}фенокси)бензойной кислоты;

3-(2-метокси-4-{6-оксо-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-4-ил}фенокси)-5-
 (трифторметил)бензойной кислоты;

4-{3-метокси-4-[3-метил-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-
 пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;

4-[4-(3,5-диметилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-
 6-она;

4-{3-метокси-4-[2-метил-4-(трифторметил)фенокси]фенил}-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-
 пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;

4-[4-(2,4-диметилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-
 6-она;

4-[4-(2-*трет*-бутил-4-этилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-
b]пиридин-6-она;

4-[4-(2-*трет*-бутил-4-метоксифенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-
b]пиридин-6-она;

4-[4-(2-*трет*-бутил-4-метилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-
b]пиридин-6-она;

4-[4-(4-бром-2-*трет*-бутилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-
b]пиридин-6-она;

4-(2-метокси-4-{6-оксо-2*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-4-ил}фенокси)-3-
 (трифторметил)бензонитрила;

метил-4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-6-оксо-
 2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-5-карбоксилата;

этил-4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-6-оксо-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-
 пиразоло[3,4-*b*]пиридин-5-карбоксилата;

4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-*N,N*-диметил-6-оксо-
 2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-5-карбоксамид;

4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-*N,N*-диэтил-6-оксо-
 2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-5-карбоксамид;

4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-1*H*, 2*H*, 3*H*, 4*H*, 6*H*-пирроло[3,4-
b]пиридин-2-она;

4-{4-[3-(дифторметил)-5-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2*H*, 4*H*, 5*H*, 6*H*, 7*H*-
 пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;

4-{4-[2-(дифторметил)-4-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;

(+)-4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;

(-)-4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;

(+)-4-[4-(3,5-диметилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;

(-)-4-[4-(3,5-диметилфенокси)-3-метоксифенил]-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;

(+)-4-{3-метокси-4-[3-метил-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;

(-)-4-{3-метокси-4-[3-метил-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она;

(+)-4-{4-[3-(дифторметил)-5-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она; и

(-)-4-{4-[3-(дифторметил)-5-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-она.

В другом воплощении изобретение относится к соединению согласно формуле I, которое представляет собой

(+)-4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-он; или

(-)-4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2*H*,4*H*,5*H*,6*H*,7*H*-пиразоло[3,4-*b*]пиридин-6-он.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к лекарственному средству, содержащему соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к применению соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в терапии.

В одном воплощении применение предназначено для терапевтического и/или профилактического лечения ERR α -опосредованных заболеваний или состояний.

В одном воплощении соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль используют для лечения ERR α -опосредованного рака.

В еще одном воплощении терапия представляет собой терапевтическое лечение: (а) по меньшей мере одного состояния, выбранного из рака легкого, меланомы, рака эндометрия и острого миелоидного лейкоза; (б) по меньшей мере одного состояния, выбранного из рака молочной железы, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы, колоректального рака и рака яичника; или (в) сахарного диабета II типа.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов.

В одном воплощении фармацевтическая композиция дополнительно содержит по меньшей мере один дополнительный терапевтически активный агент.

Приведенные выше воплощения, когда они относятся к предпочтительной форме разных заместителей в формуле (I), не являются взаимоисключающими. Скорее, комбинации этих воплощений рассмотрены в объеме настоящего изобретения, и в некоторых обстоятельствах такие комбинации представляют собой предпочтительные структуры для соединения формулы I. В этом отношении может быть сделано конкретное упоминание соединений согласно формуле I, в которой: A₁ представляет собой N, A₂ представляет собой NH, и A₃ представляет собой CH; A₄-A₇ представляют собой CR₄, CR₅, CR₆ и CR₇ соответственно, где R₅ представляет собой C(1-3)алкокси и R₄, R₆ и R₇ представляют собой H; A₈-A₁₂ представляют собой CR₈, CR₉, CR₁₀, CR₁₁ и CR₁₂ соответственно, где R₉ и R₁₁ независимо представляют собой C(1-4)алкил, галоген, гидроксил или C₍₁₋₃₎алкокси, и R₈, R₁₀ и R₁₂ представляют собой H; R₁₃ представляет собой H; R₁₄ представляет собой O; R₁₅ и R'₁₅ оба представляют собой H; Y представляет собой одинарную углерод-углеродную связь и R₁₆ представляет собой H.

Можно упомянуть также соединения согласно формуле I, в которой A₁ представляет собой N, A₂

представляет собой NH и A₃ представляет собой CH; A₄-A₇ представляют собой CR₄, CR₅, CR₆ и CR₇ соответственно, где R₅ представляет собой C(1-3)алкокси и R₄, R₆ и R₇ представляют собой H; A₈-A₁₂ представляют собой CR₈, CR₉, CR₁₀, CR₁₁ и CR₁₂ соответственно, где R₉ и R₁₁ независимо представляют собой C(1-4)алкил и R₈, R₁₀ и R₁₂ представляют собой H; R₁₃ представляет собой H; R₁₄ представляет собой O; R₁₅ и R'₁₅ оба представляют собой H; Y представляет собой одинарную углерод-углеродную связь и R₁₆ представляет собой H.

Определения

Используемые в данном документе формы единственного числа включают себя определяемые объекты во множественном числе, если контекст четко не диктует иное.

Термины "содержащий", "содержит" и "состоящий из", используемые в данном документе, являются синонимами терминов "включающий", "включает", "содержащий" или "содержит", и являются инклюзивными или неокончательными и не исключают дополнительных, не процитированных членов, элементов или стадий способов. Если использована фраза "состоящий из", то она является законченной и исключает все дополнительные элементы. Дополнительно фраза "состоящий по существу из" исключает дополнительные материальные элементы, но допускает включение нематериальных элементов, которые не изменяют значительно характер изобретения.

Когда количества, концентрации, размеры и другие параметры выражены в форме диапазона, предпочтительного диапазона, значения верхнего предела, значение нижнего предела или предпочтительные значения верхнего предела и нижнего предела, следует понимать, что любые диапазоны, получаемые при комбинировании любого верхнего предела или предпочтительного значения с любым нижним пределом или предпочтительным значением также конкретно раскрыты независимо от того, упомянуты ли четко полученные диапазоны в контексте.

Слова "предпочтительный", "предпочтительно", "желательно" и "конкретно" или их синонимы часто могут быть использованы в данном документе со ссылкой на воплощения изобретения, которые могут давать особые преимущества в некоторых обстоятельствах. Однако перечисление одного или более предпочитаемых, предпочтительных, желаемых или конкретных воплощений не подразумевает, что другие воплощения не являются полезными, и не предназначено для исключения тех других воплощений из объема изобретения.

Используемое по всему тексту этой заявки слово "может" употребляется в разрешительном смысле, то есть имеется в виду иметь возможность, а не в обязательном смысле.

В данном документе "комнатная температура" равна 23°C±2°C.

Если не утверждается иное, термины "галогено" или "галоген" или "галогенид", используемые в данном документе сами по себе или как часть другого заместителя, означают атом фтора, хлора, брома или йода. Отмечается предпочтение фтора, хлора или брома.

Термин "гетероатом", используемый в данном документе, означает атом азота, кислорода или серы.

В данном документе группа "C(1-n)алкил" относится к одновалентной группе, которая содержит от 1 до n атомов углерода, то есть радикал алкана, и включает в себя прямоцепочечные и разветвленные органические группы. Как таковая, группа "C₁-C₃₀-алкил" будет относиться к одновалентной группе, которая содержит от 1 до 30 атомов углерода, то есть к радикалу алкана, и включает в себя прямоцепочечные и разветвленные органические группы. В настоящем изобретении такие алкильные группы могут быть незамещенными или могут представлять собой замещенные группы, упомянутые ниже. В частности, галогенированные производные углеводородных радикалов можно упомянуть в качестве примеров подходящих замещенных алкильных групп.

Термин "C₍₁₋₄₎алкил", используемый в данном документе, означает алкильную группу, имеющую 1-4 атомов углерода, т.е. метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил или трет-бутил. Все атомы углерода возможно могут быть замещены одним или более чем одним галогеном или гидроксильной группой.

Термин "C(1-3)алкил", используемый в данном документе, означает алкильную группу, имеющую 1-3 атома углерода, т.е. метил, этил, пропил или изопропил. Все атомы углерода возможно могут быть замещены одним или более чем одним галогеном или гидроксильной группой.

Термин "C(3-6)циклоалкил", используемый в данном документе, означает насыщенный циклический углеводород, имеющий 3-6 атомов углерода, т.е. циклопропил, циклобутил, циклопентил или циклогексил. Все атомы углерода возможно могут быть замещены одним или более чем одним галогеном или метилом.

Термин "C(1-3)алкокси" означает группу алкокси, имеющую 1-3 атома углерода, причем алкильная группировка является разветвленной или неразветвленной. Все атомы углерода возможно могут быть замещены одним или более чем одним F или гидроксильной группой.

Термин "циано", используемый в данном документе, означает группу формулы -CN.

Используемая в данном документе "нитрогруппа" или "нитро" относится к -NO₂.

Термин "замещенный" означает, что один или более атомов водорода на обозначенном(ых) атоме(ах) заменен/заменены выбором из указанной группы, при условии, что нормальная валентность обозначенного атома в существующих условиях не превышена и замещение приводит к стабильному соеди-

нению. Комбинации заместителей также допустимы, если только такие комбинации приводят к стабильным соединениям. Термин "стабильное соединение" или "стабильная структура" относится к соединению или структуре, которое(ая) является достаточно прочным(ой), чтобы пережить как выделение до полезной степени чистоты из реакционной смеси, так и приготовление эффективного терапевтического агента.

Термин "возможно замещенный" означает возможное замещение конкретными группами, радикалами или группировками.

Используемая в данном документе "защитная группа" относится к группировке, присоединенной к функциональной группе для предотвращения протекания нежелательной реакции. Предпочтительно защитная группа может быть легко удалена после того, как защита этой функциональной группы больше не требуется.

Соединения формулы I могут образовывать соли, которые также входят в объем данного изобретения. Понятно, что ссылка на соединение формулы I в данном документе включает в себя ссылку на его соли, если не указано иное.

Термин "фармацевтически приемлемая соль", используемый в соответствии с его стандартным в данной области определением, означает те соли, которые в рамках медицинского суждения являются подходящими для применения в контакте с тканями людей и низших животных без, в частности, излишней токсичности, раздражения и/или аллергической реакции, и это применение должно быть соизмеримо с разумным соотношением пользы и риска. Фармацевтически приемлемые соли известны в данной области. Они могут быть получены в процессе конечного выделения и очистки соединений по изобретению, или они могут быть получены отдельно в результате взаимодействия функциональной группы свободного основания с подходящей минеральной кислотой, включая, но без ограничения, соляную кислоту, фосфорную кислоту или серную кислоту; или с органической кислотой, включая, но без ограничения, аскорбиновую кислоту, лимонную кислоту, винную кислоту, молочную кислоту, малеиновую кислоту, малоновую кислоту, фумаровую кислоту, гликолевую кислоту, янтарную кислоту, пропионовую кислоту, уксусную кислоту или метансульфоновую кислоту. Кислотная функциональная группа соединений по изобретению может быть подвергнута взаимодействию с органическим или минеральным основанием, таким как гидроксид натрия, гидроксид калия или гидроксид лития. Для полной ясности, органические основания включают самые распространенные соли углеводородных и гетероциклических аминов, такие как диэтиламино, морфолиновые и пиперидиновые соли, например.

Соединения формулы I могут содержать асимметрические или хиральные центры и поэтому существуют в различных стереоизомерных формах. Предполагается, что все стереоизомерные формы соединений формулы I, а также их смеси, в том числе рацемические смеси, составляют часть настоящего изобретения. В частности, стереоизомерные формы соединений формулы I, которые, следуя системе номенклатуры Кана-Ингольда-Прелога, находятся в S-конфигурации на хиральном центре рядом с пятичленным гетероциклическим кольцом, определены составляют часть настоящего изобретения.

Как будет понятно специалисту, энантиомеры могут быть разделены путем превращения энантиомерной смеси в диастереомерную смесь в результате реакции с соответствующим оптически активным соединением, например хиральным вспомогательным соединением, таким как хиральный спирт или хлорангидрид Мошера; путем разделения диастереомеров; и путем превращения посредством гидролиза, например, индивидуальных диастереомеров в соответствующие чистые энантиомеры. Энантиомеры также могут быть разделены с использованием хиральной ВЭЖХ колонки.

Понятно также, что могут быть возможны различные таутомеры соединений формулы I, поэтому предполагается, что все таутомерные формы соединений формулы I составляют часть изобретения. Для полной ясности, используемый в данном документе термин "таутомер" относится к миграции протонов между соседними одинарными и двойными связями. Процесс таутомеризации является обратимым: таутомеры обычно достигают равновесного состояния, когда двойная связь резонансно распределена между длинами двух связей.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение, имеющее общую формулу I, или его фармацевтически приемлемую соль в смеси с фармацевтически приемлемыми эксципиентами и возможно другими терапевтически активными агентами. Эксципиенты должны быть "приемлемыми" в смысле совместимости с другими ингредиентами композиции и не вредными для их реципиентов.

Изобретение также включает в себя соединение формулы I в комбинации с одним или более другими лекарственными средствами.

Композиции включают, но без ограничения, те композиции, которые являются подходящими для перорального, сублингвального, подкожного, внутривенного, внутримышечного, назального, местного или ректального введения, все в стандартных лекарственных формах для введения. Для перорального введения активный ингредиент может быть представлен в виде дискретных единиц, таких как таблетки, капсулы, порошки, гранулы, растворы, суспензии и т.п.

Для парентерального введения фармацевтическая композиция по изобретению может быть представлена в однодозовых или многодозовых контейнерах, например в виде жидкостей для инъекций в

предопределенных количествах, присутствующих, например, в запаянных флаконах и ампулах. Фармацевтическую композицию можно также хранить в высушенном замораживанием (лиофилизированном) состоянии, требующем только добавления стерильного жидкого носителя, такого как вода, перед применением.

Активный агент, смешанный с такими фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами, может быть спрессован в твердые дозирочные единицы, такие как пилюли, таблетки, или может быть помещен в капсулы или суппозитории. С помощью фармацевтически приемлемых жидкостей активный агент можно применять в виде жидкой композиции, например в форме раствора, суспензии или эмульсии, которая может быть включена в инъекционный препарат или в спрей, такой как назальный спрей.

Для изготовления твердых дозирочных единиц предусматриваются использование традиционных добавок, таких как наполнители, красители, полимерные связующие и т.п. Как правило, может быть использована любая фармацевтически приемлемая добавка, которая не нарушает функцию активного соединения. Подходящие носители, с которыми можно вводить активный агент по изобретению в виде твердой композиции, включают лактозу, крахмал, производные целлюлозы и т.п., или их смеси, когда их используют в подходящих количествах. Для парентерального введения могут быть использованы водные суспензии, изотонические солевые растворы и стерильные инъекционные растворы, причем суспензии или растворы могут содержать фармацевтически приемлемые диспергирующие агенты и/или смачивающие агенты, такие как пропиленгликоль или бутиленгликоль.

Изобретение также охватывает фармацевтическую композицию, как она описана выше, совместно с упаковочным материалом, подходящим для указанной композиции, причем указанный упаковочный материал включает в себя инструкции по применению композиции в целях, описанных выше.

Точная доза и режим введения активного ингредиента или его фармацевтической композиции могут варьироваться в зависимости от конкретного соединения, пути введения и возраста и состояния индивидуального субъекта, которому назначено лекарственное средство.

Как правило, парентеральное введение требует более низких дозировок, чем другие способы введения, которые в большей степени зависят от всасывания. Тем не менее, дозировка для людей предпочтительно составляет от 0,0001 до 100 мг на кг массы тела. Желаемую дозу можно вводить в виде однократной дозы или в виде множества субдоз через соответствующие интервалы времени на протяжении суток.

Соединения по изобретению или их фармацевтически приемлемые соли можно применять в качестве лекарственного средства в терапии.

В другом аспекте изобретение относится к применению соединений, имеющих общую формулу I, или их фармацевтически приемлемых солей для терапевтического и/или профилактического лечения ERR α -опосредованных заболеваний или ERR α -опосредованных состояний. В частности, согласно изобретению предложено применение соединений, имеющих общую формулу I, или их фармацевтически приемлемых солей для лечения ERR α -опосредованного рака.

Соединения, имеющие общую формулу I, или их фармацевтически приемлемые соли можно применять в терапии для лечения по меньшей мере одного состояния, выбранного из рака легкого, меланомы, рака эндометрия и острого миелоидного лейкоза. Без намерения ограничить этот аспект настоящего изобретения, соединения, имеющие общую формулу I, или их фармацевтически приемлемые соли можно применять, в частности, в терапии для лечения поверхностной распространяющейся меланомы, злокачественного лентиго, акральной лентигенозной меланомы, нодулярной меланомы, амеланотической меланомы, глазной меланомы, меланомы вульвы или вагинальной меланомы.

В другом аспекте соединения, имеющие общую формулу I, или их фармацевтически приемлемые соли можно применять в терапии для лечения по меньшей мере одного состояния, выбранного из рака молочной железы, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы, колоректального рака и рака яичника.

В другом аспекте соединения, имеющие общую формулу I, или их фармацевтически приемлемые соли можно применять для лечения сахарного диабета II типа.

Подробное описание изобретения

Как показано в примерах, приведенных ниже, в некоторых иллюстративных воплощениях соединения получают в соответствии с нижеследующими общими методиками. Следует понимать, что, хотя общие способы изображают синтез некоторых соединений по изобретению, нижеследующие общие способы и другие способы, известные специалисту в данной области техники, могут быть применены ко всем соединениям и подклассам и видам каждого из этих соединений, как описано в настоящем документе.

Общие способы получения

Соединения, описанные в данном документе, в том числе соединения общей формулы I, Структурная единица I и Структурная единица II, получают по реакционным схемам, изображенным ниже. Кроме того, понятно, что на нижеследующих схемах, где упомянуты конкретные кислоты, основания, реагенты, агенты сочетания, катализаторы, растворители и т.п., могут быть использованы другие подходящие кислоты, основания, реагенты, агенты сочетания, катализаторы, растворители и т.д., и они входят в объем

настоящего изобретения. Модификации реакционных условий, например температуры, продолжительности реакции или их комбинации, охвачены как часть настоящего изобретения.

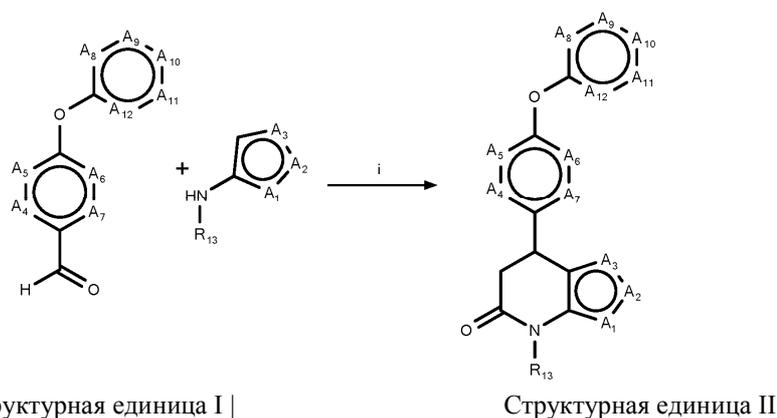
Соединения, полученные с использованием общих последовательностей реакций, могут не иметь достаточной чистоты. Соединения могут быть очищены любыми способами очистки органических соединений, например кристаллизацией или колоночной хроматографией на силикагеле или оксиде алюминия с использованием разных растворителей в подходящих соотношениях. Все возможные стереоизомеры входят в объем изобретения.

Сокращения для веществ, указанных на реакционных схемах и в примерах, следующие:

AcOH: уксусная кислота; ACN: ацетонитрил; DAST: трифторид (диэтиламино)серы; DCM: дихлорметан; DDQ: 2,3-дихлор-5,6-дициано-1,4-бензохинон; DIAD: диизопропилазодикарбоксилат; DiBAL-H: диизобутилалюмогидрид; DMAP: 4-диметиламинопиридин; DMF: N,N-диметилформамид; DMSO: диметилсульфоксид; EDC: 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодимид; Et₂O: диэтиловый эфир; EtOAc: этилацетат; EtOH: этанол; ВЭЖХ: высокоэффективная жидкостная хроматография MeOH: метанол; PhSCu(I): фенилсульфанильмедь; PPh₃: трифенилфосфин; SFC: сверхкритическая флюидная хроматография; tBuOK: трет-бутоксид калия; tBuONO: трет-бутилнитрит; TEMPO: 2,2,6,6-тетраметилпиперидинилоксил; TFA: трифторуксусная кислота; THF: тетрагидрофуран; TOSMIC: тозилметилизоцианат.

Химические названия представляют собой предпочтительные названия согласно номенклатуре IUPAC (Международный союз теоретической и прикладной химии), созданные с использованием Marvin Sketch 17.24.1. Если химическое соединение упоминается с использованием как химической структуры, так и химического названия, и существует неоднозначность между структурой и названием, то структура преобладает.

Схема 1:



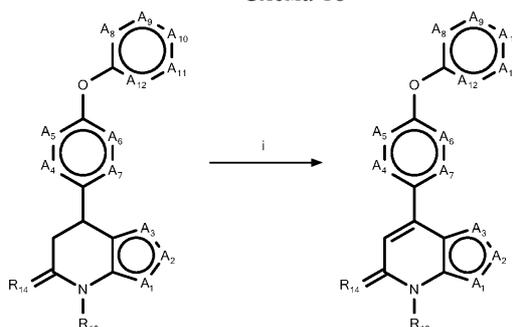
Условия: i) Кислота Мельдрума, MeOH

На схеме 1 изображен общий синтез производных по изобретению, имеющих формулу I, где R₁₄ представляет собой кислород, R₁₅, R₁₅ и R₁₆ представляют собой H, и Y представляет собой одинарную углерод-углеродную связь. Производные могут быть получены способами, известными в области органической химии. Соединения по изобретению могут быть получены в результате реакции между производным бенальдегида структурной единицей I, где A₄, A₅, A₆, A₇, A₈, A₉, A₁₀, A₁₁ и A₁₂, имеют значения, описанные ранее, и производным структурной единицы II, где R₁₃, A₁, A₂ и A₃ имеют значения, описанные ранее, и кислотой Мельдрума.

Для получения производных формулы I, где R₁₄ представляет собой серу, производные формулы I, где R₁₄ представляет собой кислород, могут быть подвергнуты взаимодействию с, например, реагентом Лавессона.

Для получения производных формулы I, где R₁₄ представляет собой азот, производные формулы I, где R₁₄ представляет собой серу, могут быть подвергнуты взаимодействию, например, с аммиаком в MeOH.

Схема 1b

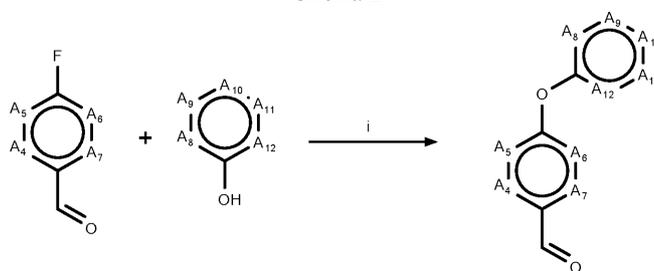


Условия: i) DDQ 1,4-диоксан

На схеме 1b изображен общий путь получения аналогов формулы I, где Y представляет собой двойную углерод-углеродную связь, R₁₅ представляет собой H, и R₁₃, R₁₄, A₁, A₂, A₃, A₄, A₅, A₆, A₇, A₈, A₉, A₁₀, A₁₁ и A₁₂ имеют значения, которые описаны ранее.

Производные формулы I, где Y представляет собой одинарную углерод-углеродную связь и R₁₅, R'₁₅ и R₁₆ представляют собой H, могут быть окислены с использованием, например, DDQ в подходящем растворителе с получением производных формулы I, где Y представляет собой двойную углерод-углеродную связь.

Схема 2

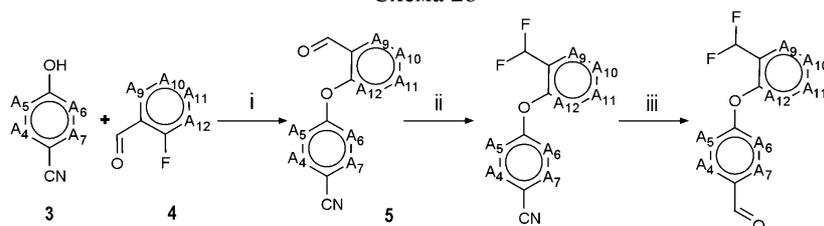


Условия: i) K₂CO₃, DMF

На схеме 2 изображен общий способ получения производных бензальдегида структурной единицы I, где A₄, A₅, A₆, A₇, A₈, A₉, A₁₀, A₁₁ и A₁₂ имеют значения, которые описаны ранее.

Ароматическое замещение 4-фторбензальдегида 1 фенолом 2 с использованием K₂CO₃ в DMF при 110°C приводит к получению производных структурного элемента I. Для некоторых замещений на A₄-A₁₂ может быть полезным использование 4-производного гидроксибензальдегида с производным фторбензола для осуществления ароматического замещения.

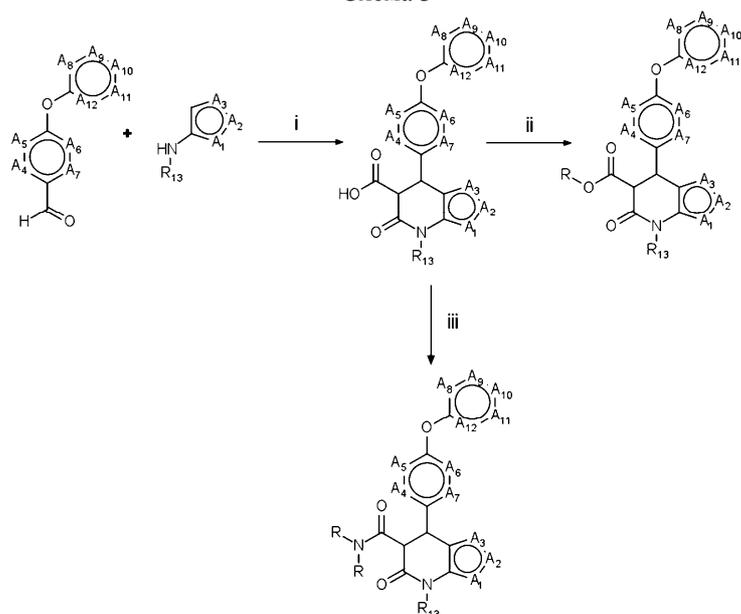
Схема 2b



Условия: i) K₂CO₃, DMF; ii) DAST, DCM; iii) DiBAL-H, толуол.

На схеме 2b изображен общий способ получения производных бензальдегида структурного элемента I, где A₈ представляет собой C-CF₂, а A₄, A₅, A₆, A₇, A₉, A₁₀, A₁₁ и A₁₂ имеют значения, которые описаны ранее. Ароматическое замещение фторбензальдегида 4 4-гидроксибензонитрилом 3 в основных условиях с использованием, например, K₂CO₃, приводит к получению соответствующего бензонитрила 5. Альдегидная группировка может быть превращена в группу CF₂ с использованием фторирующего агента, например DAST. В результате последующего восстановления нитрила с использованием, например, DiBAL-H в толуоле, могут быть получены производные бензальдегида структурного элемента I. На схеме 2b это иллюстрируется для R₈, но эти превращения могут быть также применены для альдегидной группировки в любом из положений R₄-R₁₂. Для некоторых замещений на A₄-A₁₂ может быть полезным использование производного 4-фторбензонитрила с производным гидроксибензальдегида для осуществления ароматического замещения.

Схема 3



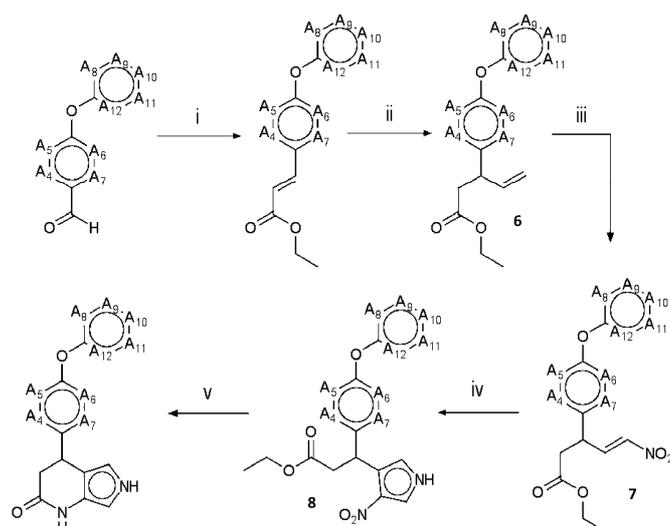
Условия:

- i) кислота Мельдрума, MeOH;
- ii) ROH, DIAD, PPh₃, THF; и
- iii) R₂NH, EDC, DMAP, DCM.

На схеме 3 изображен общий путь получения аналогов формулы I, где Y представляет собой одинарную углерод-углеродную связь, R₁₄ представляет собой кислород, R₁₅ представляет собой COOH, и каждый из R₁₅ и R₁₆ представляет собой H. Соединения по изобретению могут быть получены в результате реакции между производным структурным элементом I, где A₄, A₅, A₆, A₇, A₈, A₉, A₁₀, A₁₁ и A₁₂ имеют значения, которые описаны ранее, производным структурным элементом II, где R₁₃, A₁, A₂, A₃ имеют значения, которые описаны ранее, и кислотой Мельдрума при комнатной температуре.

Когда R₁₅ представляет собой COOH, тогда эта карбоновокислотная группировка может быть функционализирована в сложный эфир с использованием, например, спирта, DIAD и PPh₃ в THF. Или же она может быть функционализирована в амид с использованием, например, первичного или вторичного амина, EDC и DMAP в DCM.

Схема 4



Условия: i) CH₃CH₂OCOCH₂P(Ph)₃Br, tBuOK, Et₂O; ii) CH₂CHMgBr, PhSCu(I), THF; iii) TEMPO, tBuONO, 1,4-диоксан; iv) TOSMIC, tBuOK, THF; и, v) Zn, AcOH.

Схема 4 иллюстрирует общий путь образования аналогов формулы I, где A₁ и A₃ представляют собой CH, A₂ представляет собой NH, Y представляет собой одинарную углерод-углеродную связь, R₁₄ представляет собой кислород, R₁₃ представляет собой H, каждый из R₁₅, R₁₅ и R₁₆ представляет собой H, а A₄, A₅, A₆, A₇, A₈, A₉, A₁₀, A₁₁ и A₁₂ имеют значения, которые описаны ранее.

Промежуточное соединение 6 может быть получено в результате реакции Виттига структурного элемента I с использованием, например, CH₃CH₂OCOCH₂P(Ph)₃Br и tBuOK в Et₂O, с последующим взаи-

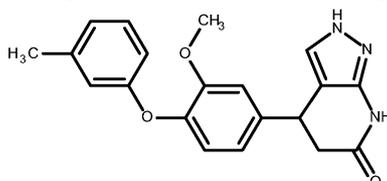
модействием, например, с бромидом винилмагния и PhSCu(I) в THF. Последующее введение нитрогруппы в E-конформации может быть осуществлено с использованием, например, TEMPO и $t\text{BuONO}$ в 1,4-диоксане. Пиррольное промежуточное соединение 8 было получено посредством [3+2]циклоприсоединения промежуточного соединения 7 с использованием, например, TOSMIC и $t\text{BuOK}$ в THF. Восстановление нитро с последующей циклизацией с получением аналога формулы I осуществляли в одну стадию с использованием, например, цинковой пыли в AcOH .

Примеры

Все использованные структурные элементы имеются в продаже, известны или получены способами, известными специалистам в данной области.

Примеры 1-86.

1: 4-[3-метокси-4-(3-метилфенокси)фенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он

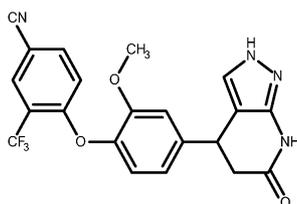


i) В раствор мета-крезола. (44 мкл) в DMF (4 мл) добавляли K_2CO_3 (175) и 4-фтор-3-метоксибензальдегид (65 мг). Реакционную смесь нагревали до 110°C и перемешивали в течение ночи. После охлаждения до комнатной температуры растворитель удаляли при пониженном давлении. Полученное масло распределяли между DCM и водой. Водный слой экстрагировали более двух раз DCM, и объединенные органические слои сушили над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали. После обращенно-фазовой хроматографии с использованием градиента от 10 до 100% ACN в воде, был получен 3-метокси-4-(3-метилфенокси)бензальдегид (66 мг).

ii) Полученный на предыдущей стадии продукт (66 мг) растворяли в 4 мл MeOH. Добавляли кислоту Мельдрума (39 мг) и 3-аминопиразол (23 мг), и реакционную смесь перемешивали 6 ч при 65°C . Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, добавляли целит, и растворитель выпаривали. После обращенно-фазовой хроматографии с использованием нанесения твердого вещества был получен 4-[3-метокси-4-(3-метилфенокси)фенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он (25 мг). МС(ES^+) (масс-спектрометрия (электрораспылительная ионизация с регистрацией положительных ионов)) с m/z 350,2 ($\text{M}+\text{H}^+$)

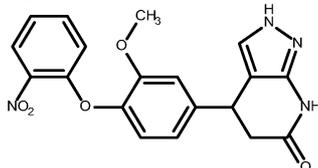
Следуя методике, аналогичной методике, описанной в примере 1, используя соответствующие исходные вещества, были получены следующие соединения:

2: 4-(2-метокси-4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил}фенокси)-3-(трифторметил)бензонитрил



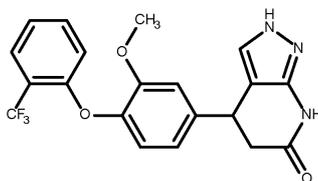
МС(ES^+) m/z 429,2 ($\text{M}+\text{H}^+$)

3: 4-[3-метокси-4-(2-нитрофенокси)фенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



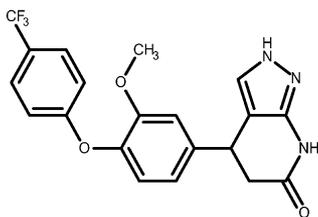
МС(ES^+) m/z 381,2 ($\text{M}+\text{H}^+$)

4: 4-{3-метокси-4-[2-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



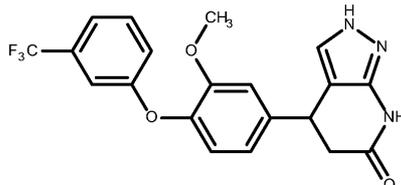
МС(ES^+) m/z 404,2 ($\text{M}+\text{H}^+$)

5: 4-{3-метокси-4-[4-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



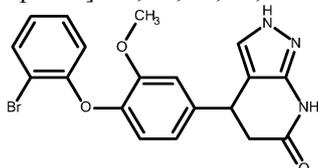
MC(ES⁺) m/z 404,2 (M+H)⁺

6: 4-{3-метокси-4-[3-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



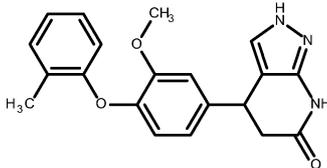
MC(ES⁺) m/z 404,2 (M+H)⁺

7: 4-[4-(2-бромфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



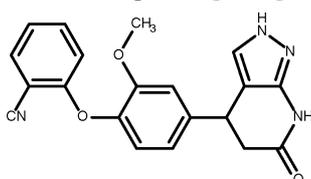
MC(ES⁺) m/z 414,2 (M+H)⁺

8: 4-[3-метокси-4-(2-метилфенокси)фенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



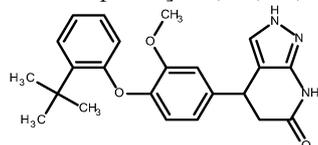
MC(ES⁺) m/z 350,2 (M+H)⁺

9: 2-(2-метокси-4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-4-ил} фенокси)бензонитрил



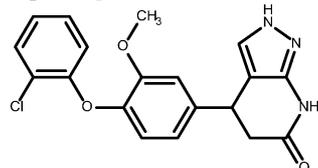
MC(ES⁺) m/z 361,2 (M+H)⁺

10: 4-[4-(2-трет-бутилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



MC(ES⁺) m/z 392,2 (M+H)⁺

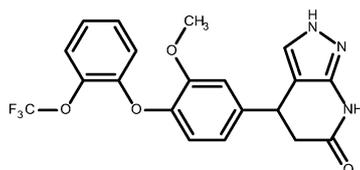
11: 4-[4-(2-хлорфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



MC(ES⁺) m/z 370,2 (M+H)⁺

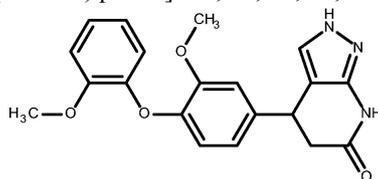
12: 4-{3-метокси-4-[2-(трифторметокси)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он

047211



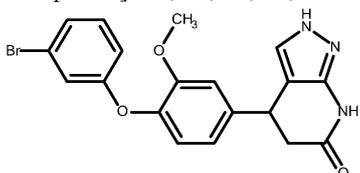
MC(ES⁺) m/z 420,2 (M+H)⁺

13: 4-[3-метокси-4-(2-метоксифенокси)фенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



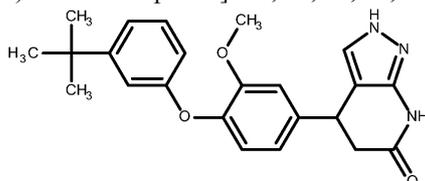
MC(ES⁺) m/z 366,2 (M+H)⁺

14: 4-[4-(3-бромфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



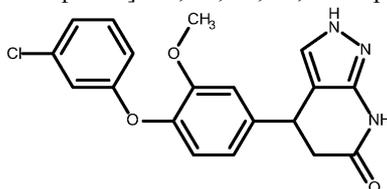
MC(ES⁺) m/z 414,2 (M+H)⁺

15: 4-[4-(3-трет-бутилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



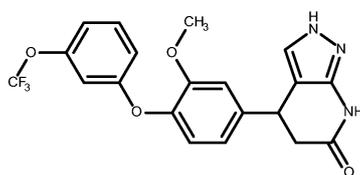
MC(ES⁺) m/z 392,2 (M+H)⁺

16: 4-[4-(3-хлорфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



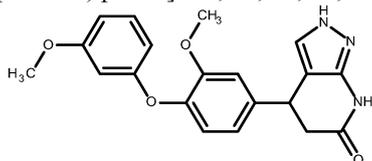
MC(ES⁺) m/z 370,2 (M+H)⁺

17: 4-{3-метокси-4-[3-(трифторметокси)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



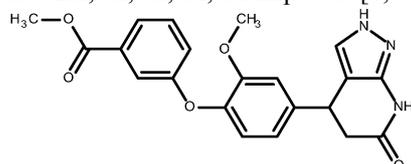
MC(ES⁺) m/z 420,2 (M+H)⁺

18: 4-[3-метокси-4-(3-метоксифенокси)фенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



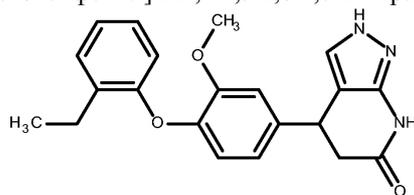
MC(ES⁺) m/z 366,2 (M+H)⁺

19: метил-3-(2-метокси-4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил} фенокси)бензоат



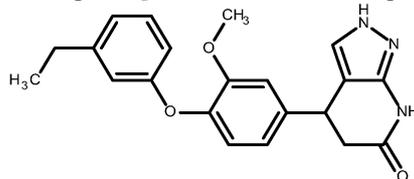
MC(ES⁺) m/z 394,2 (M+H)⁺

20: 4-[4-(2-этилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



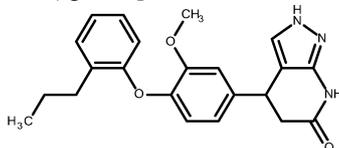
MC(ES⁺) m/z 364,2 (M+H)⁺

21: 4-[4-(3-этилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



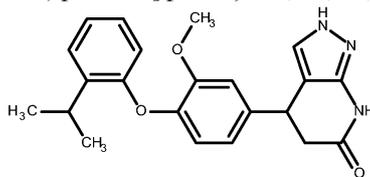
MC(ES⁺) m/z 364,2 (M+H)⁺

22: 4-[3-метокси-4-(2-пропилфенокси)фенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



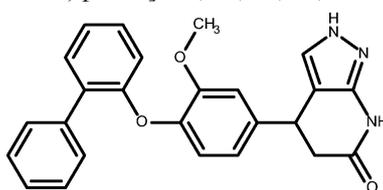
MC(ES⁺) m/z 378,2 (M+H)⁺

23: 4-{3-метокси-4-[2-(пропан-2-ил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



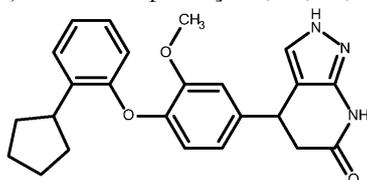
MC(ES⁺) m/z 378,2 (M+H)⁺

24: 4-[3-метокси-4-(2-фенилфенокси)фенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



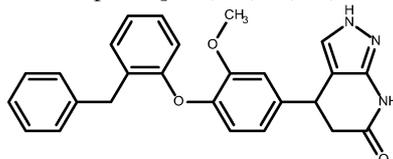
MC(ES⁺) m/z 412,2 (M+H)⁺

25: 4-[4-(2-циклопентилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



MC(ES⁺) m/z 404,2 (M+H)⁺

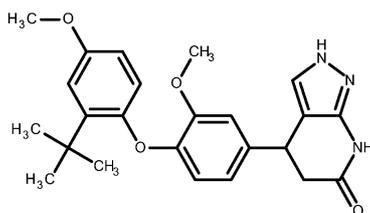
26: 4-[4-(2-бензилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



MC(ES⁺) m/z 426,2 (M+H)⁺

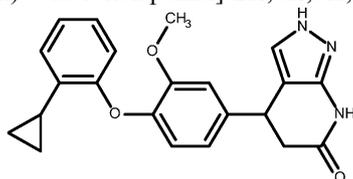
27: 4-[4-(2-трет-бутил-4-метоксифенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он

047211



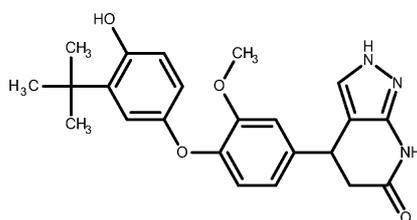
MC(ES⁺) m/z 422,2 (M+H)⁺

28: 4-[4-(2-циклопропилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



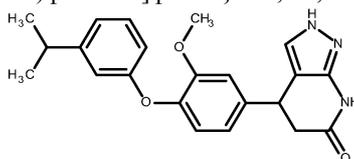
MC(ES⁺) m/z 376,2 (M+H)⁺

29: 4-[4-(3-трет-бутил-4-гидроксифенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



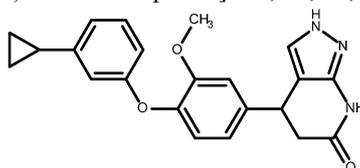
MC(ES⁺) m/z 408,2 (M+H)⁺

30: 4-{3-метокси-4-[3-(пропан-2-ил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



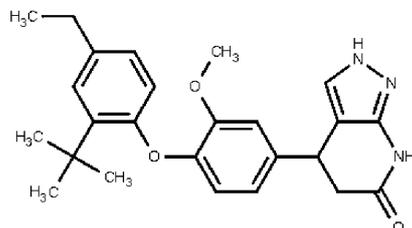
MC(ES⁺) m/z 378,2 (M+H)⁺

31: 4-[4-(3-циклопропилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



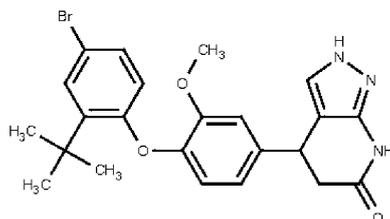
MC(ES⁺) m/z 376,2 (M+H)⁺

32: 4-[4-(2-трет-бутил-4-этилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



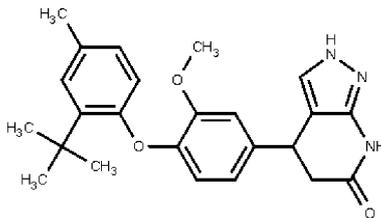
MC(ES⁺) m/z 420,2 (M+H)⁺

33: 4-[4-(4-бром-2-трет-бутилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



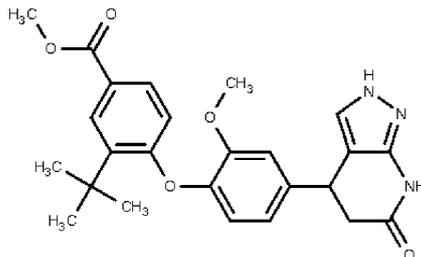
MC(ES⁺) m/z 470,1 (M+H)⁺

34: 4-[4-(2-трет-бутил-4-метилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



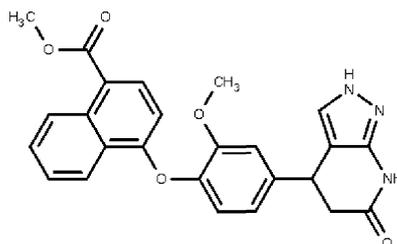
MC(ES⁺) m/z 406,2 (M+H)⁺

35: метил-3-трет-бутил-4-(2-метокси-4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-4-ил} фенокси)бензоат



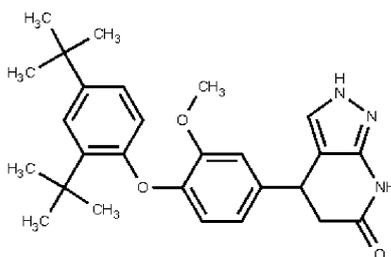
MC(ES⁺) m/z 450,2 (M+H)⁺

36: метил-4-(2-метокси-4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-4-ил} фенокси)нафталин-1-карбоксилат



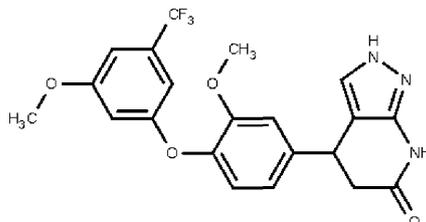
MC(ES⁺) m/z 444,1 (M+H)⁺

37: 4-[4-(2,4-ди-трет-бутилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



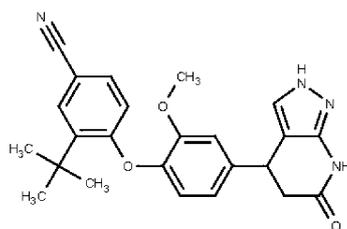
MC(ES⁺) m/z 448,3 (M+H)⁺

38: 4-{3-метокси-4-[3-метокси-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



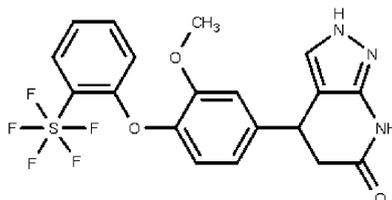
MC(ES⁺) m/z 434,1 (M+H)⁺

39: 3-трет-бутил-4-(2-метокси-4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-4-ил} фенокси)бензонитрил



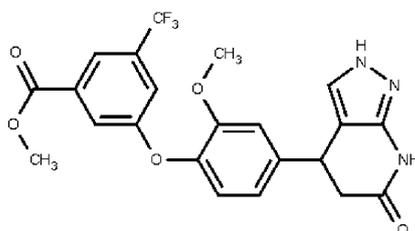
MC(ES⁺) m/z 417,2 (M+H)⁺

40: 4-{3-метокси-4-[2-(пентафтор-λ⁶-сульфанил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



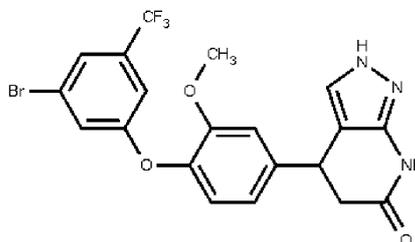
MC(ES⁺) m/z 462,1 (M+H)⁺

41: метил-3-(2-метокси-4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-4-ил}фенокси)-5-(трифторметил)бензоат



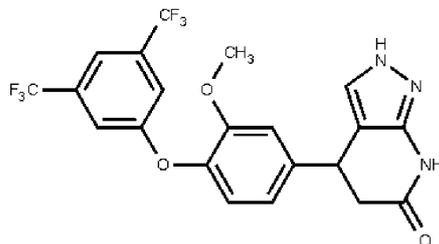
MC(ES⁺) m/z 462,1 (M+H)⁺

42: 4-{4-[3-бром-5-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



MC(ES⁺) m/z 482,0 (M+H)⁺

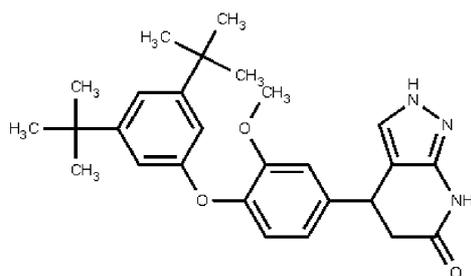
43: 4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



MC(ES⁺) m/z 472,1 (M+H)⁺

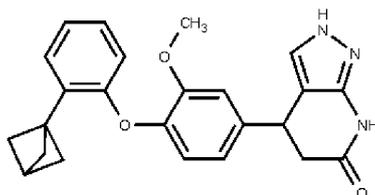
44: 4-[4-(3,5-ди-трет-бутилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он

047211



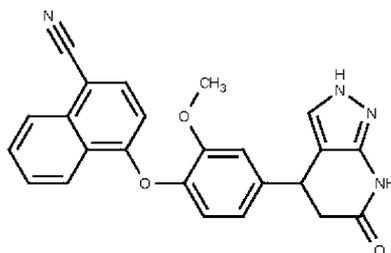
MC(ES⁺) m/z 448,3 (M+H)⁺

45: 4-[4-(2-{бицикло[1.1.1]пентан-1-ил}фенокси)-3-метоксифенил]-2H,4H,5H,6H,7H-пирозоло[3,4-b]пиридин-6-он



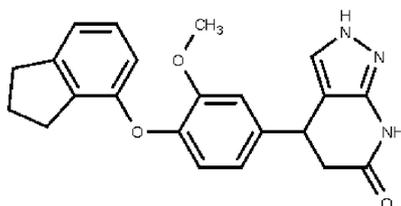
MC(ES⁺) m/z 402,2 (M+H)⁺

46: 4-(2-метокси-4-{6-оксо-2H,4H,5H,6H,7H-пирозоло[3,4-b]пиридин-4-ил}фенокси)нафталин-1-карбонитрил



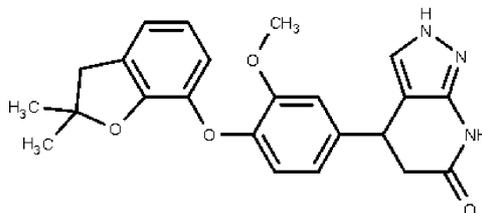
MC(ES⁺) m/z 411,1 (M+H)⁺

47: 4-[4-(2,3-дигидро-7H-инден-4-илокси)-3-метоксифенил]-2H,4H,5H,6H,7H-пирозоло[3,4-b]пиридин-6-он



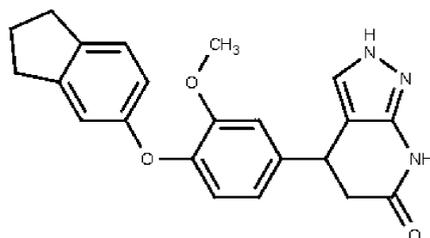
MC(ES⁺) m/z 376,2 (M+H)⁺

48: 4-[4-(2,2-диметил-2,3-дигидро-1-бензофуран-7-ил)окси]-3-метоксифенил]-2H,4H,5H,6H,7H-пирозоло[3,4-b]пиридин-6-он



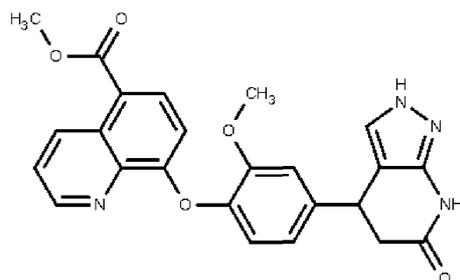
MC(ES⁺) m/z 406,2 (M+H)⁺

49: 4-[4-(2,3-дигидро-7H-инден-5-илокси)-3-метоксифенил]-2H,4H,5H,6H,7H-пирозоло[3,4-b]пиридин-6-он



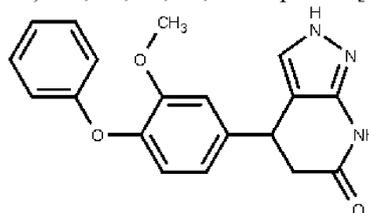
MC(ES⁺) m/z 376,2 (M+H)⁺

50: метил-8-(2-метокси-4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил} фенокси)хинолин-5-карбоксилат



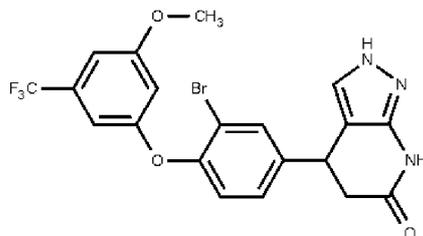
MC(ES⁺) m/z 445,1 (M+H)⁺

51: 4-(3-метокси-4-феноксифенил)-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



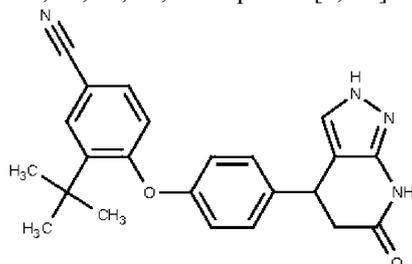
MC(ES⁺) m/z 336,1 (M+H)⁺

52: 4-{3-бром-4-[3-метокси-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



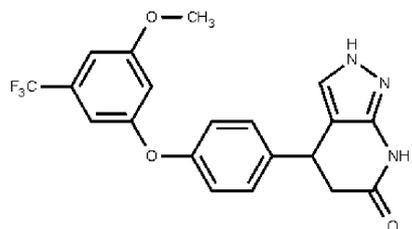
MC(ES⁺) m/z 482,0 (M+H)⁺

53: 3-трет-бутил-4-(4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил} фенокси)бензонитрил



MC(ES⁺) m/z 387,2 (M+H)⁺

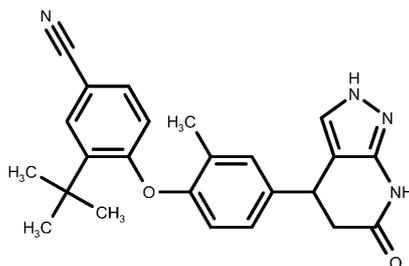
54: 4-{4-[3-метокси-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



MC(ES⁺) m/z 404,1 (M+H)⁺

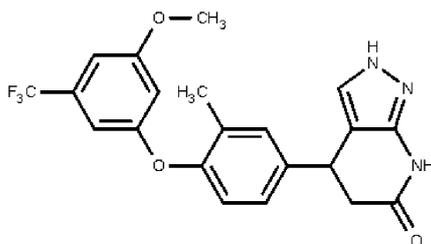
55: 3-трет-бутил-4-(2-метил-4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил} фенокси)бензонитрил

047211



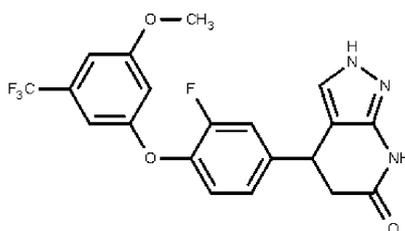
MC(ES⁺) m/z 400,2 (M+H)⁺

56: 4-{4-[3-метокси-5-(трифторметил)фенокси]-3-метилфенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



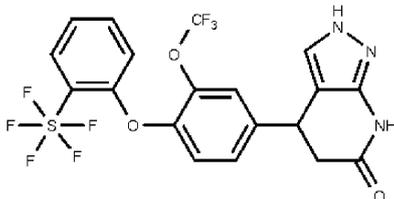
MC(ES⁺) m/z 418,1 (M+H)⁺

57: 4-{3-фтор-4-[3-метокси-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



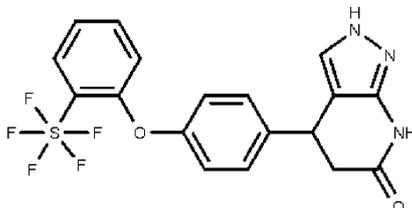
MC(ES⁺) m/z 422,1 (M+H)⁺

58: 4-{4-[2-(пентафтор-λ⁶-сульфанил)фенокси]-3-(трифторметокси)фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



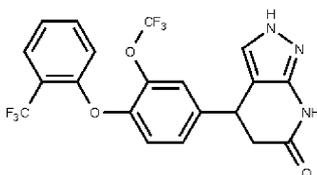
MC(ES⁺) m/z 516,1 (M+H)⁺

59: 4-{4-[2-(пентафтор-λ⁶-сульфанил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



MC(ES⁺) m/z 432,1 (M+H)⁺

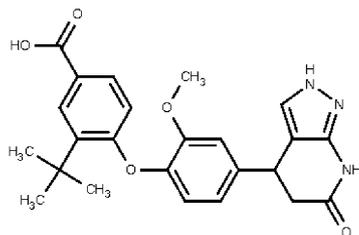
60: 4-{3-(трифторметокси)-4-[2-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



MC(ES⁺) m/z 458,1 (M+H)⁺

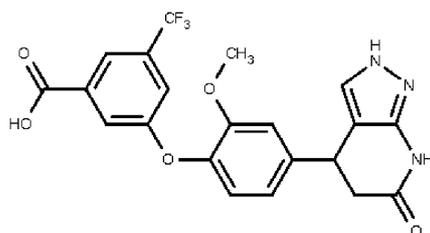
61: 3-трет-бутил-4-(2-метокси-4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил}феноксифенил)-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он

си)бензойная кислота



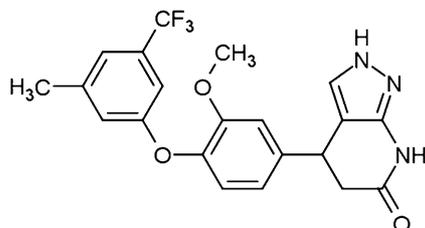
MC(ES⁺) m/z 436,2 (M+H)⁺

62: 3-(2-метокси-4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-4-ил} фенокси)-5-(трифторметил)бензойная кислота



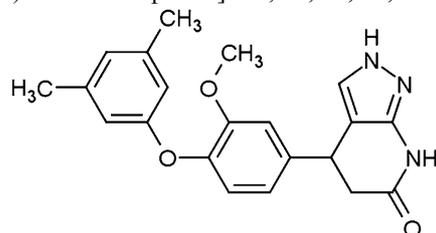
MC(ES⁺) m/z 448,1 (M+H)⁺

63: 4-{3-метокси-4-[3-метил-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



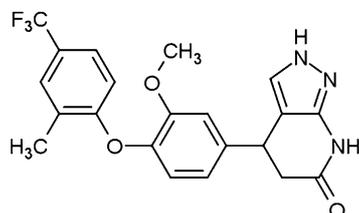
MC(ES⁺) m/z 418,4 (M+H)⁺

64: 4-[4-(3,5-диметилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



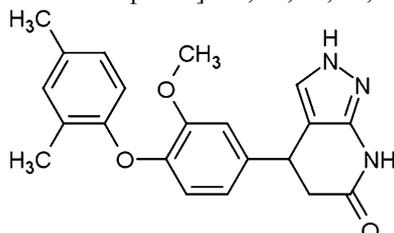
MC(ES⁺) m/z 364,4 (M+H)⁺

65: 4-{3-метокси-4-[2-метил-4-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



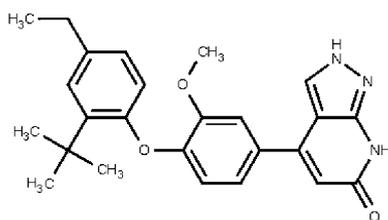
MC(ES⁺) m/z 418,4 (M+H)⁺

66: 4-[4-(2,4-диметилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



MC(ES⁺) m/z 364,4 (M+H)⁺

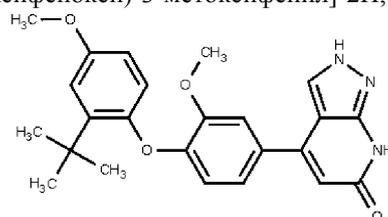
67: 4-[4-(2-трет-бутил-4-этилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он



i) Соединение примера 32 (32 мг) растворяли в 1,5 мл 1,4-диоксана и добавляли DDQ (17 мг). Реакционную смесь нагревали до 50°C и перемешивали в течение 1 ч. Растворитель выпаривали и добавляли насыщ. водн. NaHCO₃ с получением суспензии. Суспензию обрабатывали ультразвуком и твердое вещество отфильтровывали и промывали водой три раза. Твердое вещество сушили в вакуумном шкафу с получением 4-[4-(2-tert-бутил-4-этилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-она (23 мг). МС(ES⁺) m/z 418,2 (M+H)⁺

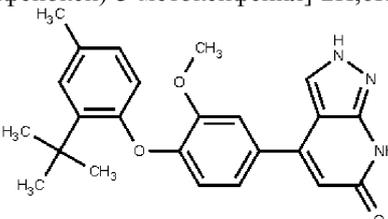
Следуя методике, аналогичной методике, описанной в примере 67, используя соответствующие исходные вещества, были получены следующие соединения:

68: 4-[4-(2-tert-бутил-4-метоксифенокси)-3-метоксифенил]-2Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



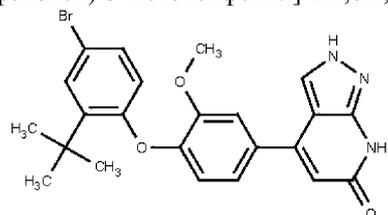
МС(ES⁺) m/z 420,2 (M+H)⁺

69: 4-[4-(2-tert-бутил-4-метилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



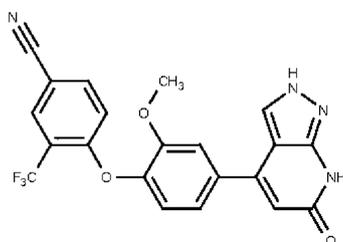
МС(ES⁺) m/z 404,2 (M+H)⁺

70: 4-[4-(4-бром-2-tert-бутилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



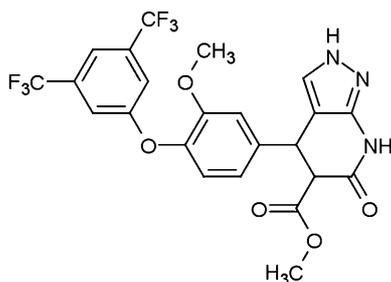
МС(ES⁺) m/z 468,1 (M+H)⁺

71: 4-(2-метокси-4-{6-оксо-2Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил}фенокси)-3-(трифторметил)бензонитрил



МС(ES⁺) m/z 427,1 (M+H)⁺

72: метил-4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-5-карбоксилат



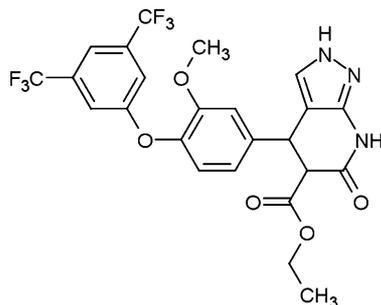
i) Следуя методике, аналогичной методике, описанной в примере 1, стадия i, используя соответствующие исходные вещества, был получен 4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксибензальдегид.

ii) Полученный на предыдущей стадии продукт (211 мг), кислоту Мельдрума (85 мг) и 3-аминопиразол (48 мг) растворяли в MeOH (5 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 3,5 ч при комнатной температуре и растворитель выпаривали в потоке азота. Это привело к получению 4-(4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил)-6-оксо-2H,4H,5H,6H,7H-пиразоло[3,4-b]пиридин-5-карбоновой кислоты (200 мг).

iv) DIAD (23 мкл) добавляли по каплям в атмосфере азота в раствор PPh₃ (31,4 мг), MeOH (40 мкл) и полученного на предыдущей стадии продукта (50 мг) в безводном THF (1 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Добавляли воду и продукт экстрагировали DCM три раза. Объединенные органические слои сушили над MgSO₄ и концентрировали. Неочищенный продукт очищали обращенно-фазовой хроматографией, используя градиент от 40 до 75% ACN в воде (содержащей 0,1% TFA), с получением метил-4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-6-оксо-2H,4H,5H,6H,7H-пиразоло[3,4-b]пиридин-5-карбоксилата (16,6 мг). MC(ES⁺) m/z 530,4 (M+H)⁺

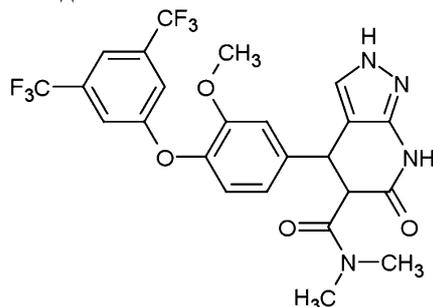
Следуя методике, аналогичной методике, описанной в примере 72, используя соответствующие исходные вещества, были получены следующие соединения:

73: этил-4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-6-оксо-2H,4H,5H,6H,7H-пиразоло[3,4-b]пиридин-5-карбоксилат



MC(ES⁺) m/z 544,4 (M+H)⁺

74: 4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-N,N-диметил-6-оксо-2H,4H,5H,6H,7H-пиразоло[3,4-b]пиридин-5-карбоксамид

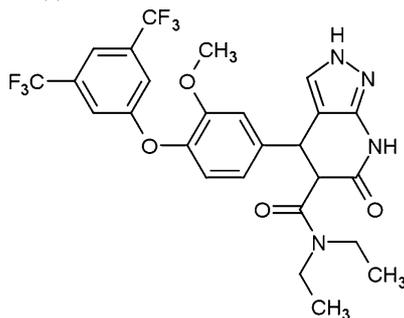


i) Продукт, полученный в примере 72, стадия и, (50 мг), DMAP (20 мг) и диметиламин·HCl (12 мг) растворяли в DCM (1 мл). Добавляли EDC (30 мг), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли воду и продукт экстрагировали DCM три раза. Объединенные органические слои сушили над MgSO₄ и концентрировали. Неочищенный продукт очищали обращенно-фазовой хроматографией, используя градиент от 40 до 75% ACN в воде (содержащей 0,1% TFA), с получением 4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-N,N-диметил-6-оксо-2H,4H,5H,6H,7H-пиразоло[3,4-b]пиридин-5-карбоксамид (9,3 мг). MC(ES⁺) m/z 543,4 (M+H)⁺

Следуя методике, аналогичной методике, описанной в примере 74, используя соответствующие исходные вещества, были получены следующие соединения:

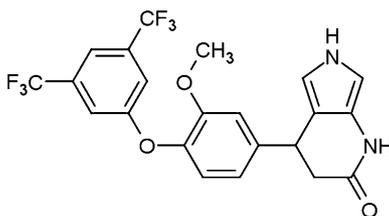
75: 4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-N,N-диэтил-6-оксо-2H,4H,5H,6H,7H-

пироло[3,4-*b*]пиридин-5-карбоксамид



MC(ES⁺) m/z 571,5 (M+H)⁺

76: 4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-1H,2H,3H,4H,6H-пироло[3,4-*b*]пиридин-2-он



i) Следуя методике, аналогичной описанной в примере 1, стадия i, используя соответствующие исходные вещества, был получен 4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксибенальдегид.

ii) Этоксикарбонилметилтрифенилфосфония бромид (3,54 г) добавляли в суспензию *t*BuOK (1,03 г) в Et₂O (30 мл). Полученную смесь перемешивали при 50°C в течение 30 мин и затем охлаждали до комнатной температуры. Полученное на предыдущей стадии соединение (1,50 г), растворенное в Et₂O (10 мл), добавляли в реакционную смесь. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, затем гасили водой и водный слой экстрагировали Et₂O три раза. Объединенные органические слои сушили над MgSO₄ и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали на колонке с диоксидом кремния, используя градиент от 0 до 20% EtOAc в гептане, с получением этил-(*E*)-3-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}проп-2-еноата (1,42 г).

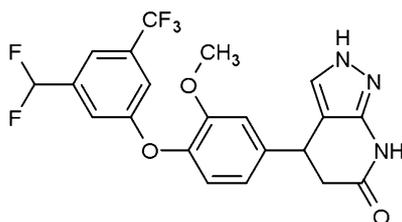
iii) Винилмагния бромид (1,0 М в THF, 9,67 мл) добавляли по каплям в суспензию фенилсульфанилмеди (558 мг) в безводном THF (15 мл) при -40°C в атмосфере азота. Реакционной смеси давали возможность достичь -25°C и снова охлаждали до -40°C. Добавляли по каплям полученное на предыдущей стадии соединение (1,4 г) в безводном THF (15 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при -40°C. Реакционную смесь гасили вливанием смеси в насыщ. водн. NH₄Cl. Образовавшееся твердое вещество отфильтровывали, и фильтрат экстрагировали EtOAc дважды. Объединенные органические слои сушили над MgSO₄ и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали на колонке с диоксидом кремния, используя градиент от 0 до 30% EtOAc в гептане, с получением этил-3-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}пент-4-еноата (279 мг).

iv) Полученный на предыдущей стадии продукт (275 мг), TEMPO (38 мг) и *t*BuONO (157 мкл) растворяли в 1,4-диоксане (5 мл), нагревали до 80°C и перемешивали в течение ночи. В реакционную смесь добавляли воду и водный слой экстрагировали DCM три раза. Объединенные органические слои сушили над MgSO₄ и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали на колонке с диоксидом кремния, используя градиент от 0 до 30% EtOAc в гептане, с получением этил-(*E*)-3-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-5-нитропент-4-еноата (95 мг).

v) TOSMIC (37 мг) добавляли в раствор *t*BuOK (42 мг) в безводном THF (1 мл) при -78 °C и перемешивали в течение 10 мин. Полученное на предыдущей стадии соединение (95 мг) растворяли в безводном THF (4 мл) и добавляли по каплям в реакционную смесь. После перемешивания в течение 10 мин при -78°C реакционную смесь вливали в насыщ. водн. NH₄Cl, и водный слой экстрагировали EtOAc три раза. Объединенные органические слои сушили над MgSO₄ и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали на колонке с диоксидом кремния, используя градиент от 0 до 70% EtOAc в гептане, с получением этил-3-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-3-(4-нитро-1H-пиррол-3-ил)пропаноата (48 мг).

vi) В раствор полученного на предыдущей стадии соединения (45 мг) в AcOH (1,5 мл) добавляли цинковую пыль (54 мг). Реакционную смесь нагревали до 50°C и перемешивали в течение 30 мин. Реакционную смесь фильтровали через целит и осадок на фильтре промывали EtOAc. Фильтрат промывали насыщ. водн. NaHCO₃ и водой и затем сушили над MgSO₄ и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали обращенно-фазовой хроматографией, используя градиент от 40 до 90% ACN в воде, с получением 4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-1H,2H,3H,4H,6H-пироло[3,4-*b*]пиридин-2-она (8,7 мг). MC(ES⁺) m/z 471,4 (M+H)⁺

77: 4-{4-[3-(дифторметил)-5-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



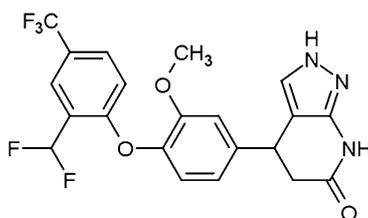
i) 4-фтор-3-метоксибензонитрил (250 мг), 3-гидрокси-5-(трифторметил)бензальдегид (0,23 мл) и K_2CO_3 (457 мг) суспендировали в DMF (10 мл). Реакционную смесь нагревали до $90^\circ C$ и перемешивали в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и распределяли между водой и EtOAc. Водный слой экстрагировали более двух раз EtOAc и объединенные органические слои промывали рассолом, сушили над $MgSO_4$ и концентрировали. Неочищенный продукт очищали обращенно-фазовой хроматографией, используя градиент от 10 до 100% ACN в воде, с получением 4-[3-формил-5-(трифторметил)фенокси]-3-метокси-бензонитрила (46 мг).

ii) Полученный на предыдущей стадии продукт (96 мг) растворяли в DCM (6 мл) в атмосфере азота. Добавляли по каплям DAST (0,14 мл), и реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь помещали на водную баню и добавляли насыщ. водн. $NaHCO_3$ (15 мл). Смесь перемешивали интенсивно в течение 10 мин. Водный слой экстрагировали DCM дважды. Объединенные органические слои сушили над $MgSO_4$ и концентрировали с получением 4-[3-(дифторметил)-5-(трифторметил)фенокси]-3-метокси-бензонитрила (102 мг).

iii) Полученное на предыдущей стадии соединение (101 мг) растворяли в толуоле (4,5 мл) в атмосфере азота и охлаждали до $0^\circ C$. Добавляли по каплям 1,2М раствор DiBAL-H в толуоле (0,37 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 1,5 ч. Добавляли 6 н. водный раствор HCl (1,5 мл) и смесь перемешивали до прекращения образования газовых пузырей. Смесь нагревали до комнатной температуры и распределяли между EtOAc и полунасыщ. водн. $NaHCO_3$. Водный слой экстрагировали более двух раз EtOAc и объединенные органические слои промывали рассолом, сушили над $MgSO_4$ и концентрировали. Неочищенный продукт очищали на колонке с диоксидом кремния, используя градиент от 0 до 25% EtOAc в гептане, с получением 4-[3-(дифторметил)-5-(трифторметил)фенокси]-3-метокси-бензальдегида (71 мг).

iv) По аналогии с методикой, описанной в примере 1, стадия и, полученное на предыдущей стадии соединение превращали в 4-{4-[3-(дифторметил)-5-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он (28 мг). $MC(ES^+) m/z 454,4 (M+H)^+$

78: 4-{4-[2-(дифторметил)-4-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он



i) 4-гидрокси-3-метоксибензонитрил (250 мг), 2-фтор-5-(трифторметил)бензальдегид (322 мг) и K_2CO_3 (463 мг) суспендировали в DMF (8 мл) и перемешивали при $90^\circ C$ в течение 2,5 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и распределяли между водой и EtOAc. Водный слой экстрагировали более двух раз EtOAc и объединенные органические слои промывали рассолом, сушили над $MgSO_4$ и концентрировали. Неочищенный продукт очищали на колонке с диоксидом кремния, используя градиент от 0 до 30% EtOAc в гептане, с получением 4-[2-формил-4-(трифторметил)фенокси]-3-метокси-бензонитрила (402 мг).

ii) По аналогии с методикой, описанной в примере 77, стадия ii-стадия iv, полученное на предыдущей стадии соединение превращали в 4-{4-[2-(дифторметил)-4-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он (78 мг). $MC(ES^+) m/z 454,4 (M+H)^+$

Единственные энантимеры соединения примера 43 могут быть получены путем хирального разделения. 2 г рацемического соединения примера 43 растворяли в EtOH (50 мг/мл). Раствор впрыскивали несколько раз на хиральную SFC, используя препаративную IG колонку (доступную от Daicel, хиральная стационарная фаза амилоза-трис(3-хлор-5-метилфенилкарбамат)) и изократический градиент 30% EtOH и 70% жидкого CO_2 , с получением: 0,9 г (+)энантиомера (пример 79) с энантиомерным избытком 99,6%; и 0,9 г (-)энантиомера (пример 80) с энантиомерным избытком 99,0%. Оптическую чистоту энантимеров определяли хиральной ВЭЖХ.

Абсолютная конфигурация соединений примеров 79-86 не известна. Эти соединения растворяли в

DMSO (10 мг/мл) и характеризовали их оптическим вращением, используя поляриметр Jasco P-2000, имеющий следующую конфигурацию: вольфрамово-галогеновый (WI) источник света; поляризатор Глана-Тейлора; кварцевая ячейка Фарадея и длина волны 589 нм.

79: (+)-4-[4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он

80: (-)-4-[4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он

Следуя методике, аналогичной методике, описанной в примерах 79 и 80, используя соответствующие исходные вещества и метод ВЭЖХ, были получены следующие соединения:

81: (+)-4-[4-(3,5-диметилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он

82: (-)-4-[4-(3,5-диметилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он

83: (+)-4-[3-метокси-4-[3-метил-5-(трифторметил)фенокси]фенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он

84: (-)-4-[3-метокси-4-[3-метил-5-(трифторметил)фенокси]фенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он

85: (+)-4-[4-[3-(дифторметил)-5-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он

86: (-)-4-[4-[3-(дифторметил)-5-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-он

Пример 87. Анализ ERR α AlphaScreen

Этот анализ основан на знании, что ядерные рецепторы взаимодействуют с кофакторами лиганд-зависимым образом. Сайты взаимодействия были картированы с привязкой к мотивам LXXLL, которые присутствуют в последовательностях коактиваторов. Короткие пептидные последовательности, содержащие мотив LXXLL, имитируют поведение полноразмерных коактиваторов.

Описанный здесь анализ ERR α AlphaScreen основан на взаимодействии пептида-коактиватора с очищенным бактериально экспрессированным лиганд-связывающим доменом ERR α (ERR α -LBD); после связывания лиганда белок ERR α может претерпевать конформационные изменения, приводящие к потере связывания коактиватора.

Соединения по настоящему изобретению тестировали на их способность нарушать связывание белка ERR α -LBD с пептидом-коактиватором с использованием технологии AlphaScreen® (Perkin Elmer). Белок ERR α -LBD экспрессировали в E.coli в виде слияния 6xHis небольшой убиквитиноподобный модификатор (Small Ubiquitin-like Modifier (SUMO)). Бактериально экспрессированный белок 6His-SUMO-ERR α -LBD очищали с использованием аффинной хроматографии. Все эксперименты проводили при комнатной температуре в 384-луночных белых планшетах с несвязывающей поверхностью (Greiner) с использованием 50 мМ трис-НСl pH 7,5, 100 ММNaCl, 0,1% Pluronic F-127, 0,05% BSA и 5 мМ ТСЕР в качестве буфера. Итоговая концентрация DMSO составляла 1% в анализе. Соединения анализировали в трех повторах и инкубировали с 0,81 нМ белка ERR α -LBD и 10 мкг/мл стрептавидиновых донорных шариков и 10 мкг/мл Ni-хелатных акцепторных шариков в течение 1 ч при комнатной температуре с последующим 2-часовым инкубированием с 15 нМ пептида биотина-PGC1 α -3 (QRRPCSELLKYLTNDPP), соответствующего аминокислотам 202-220.

Сигнал AlphaScreen измеряли с использованием планшет-ридера Envision Xcite (Perkin Elmer). Данные нормализовали, и анализ аппроксимации кривой осуществляли в GraphPad Prism 7 с использованием четырехпараметрической аппроксимации кривой доза-ответ.

Было установлено, что все проиллюстрированные соединения формулы I (примеры 1-86) имеют средние значения pIC₅₀ выше и равные 5.

Было установлено, что соединения примеров 1, 2, 4, 5, 6, 7, 14, 17, 20, 21, 22, 24, 25, 26, 49, 59, 60, 65, 66, 71, 72, 79, 81, 83 и 85 имеют средние значения pIC₅₀ выше или равные 6, но ниже 7.

Примеры 10, 12, 15, 23, 28, 30, 31, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 61, 64, 76, 77, 78 и 82 имеют средние значения pIC₅₀ выше или равные 7, но ниже 8.

Было установлено, что соединения примеров 27, 29, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 63, 67, 68, 69, 70, 80, 84 и 86 имеют средние значения pIC₅₀ выше или равные 8.

Пример 88. Анализ гена-репортера полноразмерного ERR α

Ингибиторы примеров 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85 и 86 были протестированы на их способность ингибировать активность ERR α в анализе гена-репортера полноразмерного ERR α .

Был разработан метод количественного скрининга силы действия соединений с обратной агонистической активностью по отношению к ядерному рецептору ERR α человека. Анализ позволяет проводить внутриклеточный скрининг обратных агонистов ERR α в клетках SK-BR-3 с использованием сверхэкспрессионной конструкции, кодирующей полноразмерный ERR α , и репортерной конструкции, содержа-

шей (RE) элемент ответа (RE) ERR α и ген люциферазы для считывания данных. Активность выражается в значениях logIC50 и может быть использована для определения SAR (соотношение структура/активность) семейств соединений или для отмены выбора соединений.

В этом анализе репортерные клетки получают путем транзитивной котрансфекции двух конструкций в клетках SK-BR-3 с использованием стандартных методов трансфекции. Первая конструкция содержит элемент ответа ядерного рецептора ERR α (плазмида pLP2175, репортерная конструкция ERR α -RE/luc2P, клонированный вариант ERR α _v2_synthRE, Switchgear Genomics, каталожный номер S900089). Эта последовательность управляет транскрипцией гена-репортера люциферазы в ответ на связывание белка ERR α , кодируемого второй конструкцией (плазмида pLP2124: конструкция экспрессии полноразмерного ERR α с использованием pcDNA3.1/Hygro(+) в качестве фона, каталожный номер Invitrogen V87020). Сверхэкспрессированный полноразмерный ERR α является конститутивно активным, поэтому экспрессия люциферазы снижается обратными агонистами ядерного рецептора ERR α .

На следующий день после трансфекции клетки высевали в 96-луночные планшеты, добавляли тестируемое соединение, и планшеты инкубировали в течение ночи. После этого количественно определяли активность люциферазы светлячка с использованием реагента детекции люциферазы и считывали люминесценцию.

Подробное описание анализа

Трансфекцию осуществляют на предварительно высеянных клетках SK-BR-3 в колбе T175. Одной трансфицированной колбы T175 достаточно для засева 3-4 планшетов MW96 на следующий день, в зависимости от конfluenceности трансфицированных клеток.

В этом протоколе используют две разные среды для обработки клеток: 1) культуральную среду, т.е. среду МакКоя 5а (McCoy's 5a Medium) с феноловым красным (BioWhittaker, номер поставщика 12-688F), 10% FBS и 1x Penstrep (пенициллин и стрептомицин); и 2) среду для анализа, т.е. среду МакКоя 5а без фенолового красного (HyClone, код продукта SH30270.01) с 2% очищенного на активированном угле FBS и 1x Penstrep. Разведения соединения подготавливают в среде для анализа.

Клетки высевают заранее по меньшей мере за 2 суток, чтобы клетки хорошо прикрепились к стенкам колбы перед трансфекцией. Клетки должны быть на 50-80% конfluenceными в день трансфекции.

Клетки SKBR3 трансфицировали транскрипционной репортерной конструкцией pLP2175 и конструкцией экспрессии ERR α pLP2124 (как описано выше).

68 мкл трансфекционного реагента Lipofectamin LTX (Invitrogen, каталожный номер 15338-100) добавляли по каплям к 8,9 мл неполной сывороточной среды Opti-MEM I Reduced Serum Medium (Gibco, каталожный номер 51985-026) и инкубировали при комнатной температуре в течение 5-20 мин. 8,9 мл этой смеси реагентов добавляли к 22 мкг pLP2175 + 22 мкг pLP2124 (соотношение 1:1 и общий объем 10 мл) и инкубировали при комнатной температуре в течение 25 мин.

За 10 мин до добавления трансфекционной смеси к клеткам SKBR3 в колбе T175 культуральную среду подкрепляли 20 мл культуральной среды. После этого 10 мл смеси DNA-Opti-MEM-Lipofectamine осторожно добавляли к клеткам и затем инкубировали в течение ночи (16-24 ч) при 37°C и 5% CO₂.

Для сбора клеток SKBR3 из колбы T175 сначала удаляли среду. Затем клетки промывали забуференным фосфатами солевым раствором (PBS) (Lonza), после чего PBS удаляли. Для отделения клеток 2 мл TrypLE Express (Invitrogen) добавляли в колбу и затем инкубировали при 37°C в течение 5 мин. Колбу постукивали до тех пор, пока клетки не отделялись от дна. Клетки собирали в 8 мл культуральной среды (среда МакКоя 5а, 10% FBS, Penstrep) для получения одноклеточной суспензии. После подсчета клеток клетки крутили в течение 5 мин при 300 g. Затем клеточную массу ресуспендировали до 25000 клеток/80 мкл среды для анализа (среда МакКоя 5а без фенолового красного, 2% очищенного на активированном угле FBS, Penstrep).

Для скрининга соединений клетки собирали (как описано выше). 80 мкл клеточной суспензии (25000 клеток) на лунку высевали в белый, с плоским дном, обработанный культурой ткани 96-луночный планшет для скрининга (Greiner).

Тестируемое соединение разводили, начиная с 10 mM исходного раствора диметилсульфоксида (DMSO), 3 стадиями разведения. Первая стадия разведений представляла собой 12-точечное последовательное разведение 4-кратно в DMSO. Эти разведения дополнительно разводили 10 раз в среде для анализа без фенолового красного, содержащей 2% очищенного на активированном угле FBS и Penstrep. Последняя стадия представляла собой другое 20-кратное разведение в среде для анализа до получения 5x концентрированного разведения с концентрацией DMSO 0,5%. В качестве последней стадии разведения соединения разводили 5x в планшете с клетками.

Серии разведений в DMSO состояли из 12 концентраций с конечной концентрацией в планшете с клетками в диапазоне от 10 мкМ до 2,4 фМ.

Планшеты инкубировали в течение ночи (16-24 часов) при 37°C и 5% CO₂.

Для считывания показателей люциферазы люциферазный реагент (BriteLite Plus, Perkin Elmer) доводили до комнатной температуры. В каждую тестируемую лунку планшетов для скрининга добавляли 100 мкл 2,5-кратно разведенного реагента BriteLite Plus, после чего инкубировали при комнатной темпе-

ратуре в течение 5 мин. Сигнал люминесценции люциферазы измеряли с использованием микропланшет-ридера Wallac Victor Microplate Reader (Perkin Elmer).

Значения полумаксимальной ингибирующей концентрации (IC50) для тестируемых соединений вычисляли из сигнала люциферазы с использованием программного обеспечения GraphPad Prism (GraphPad Software).

Было обнаружено, что из проиллюстрированных соединений формулы I соединения примеров 10, 29, 32, 33, 34, 35, 37, 38, 39, 40, 41, 43, 63, 67, 68, 69, 70, 84 и 86 имеют средние значения pIC50 выше и равные 6,5.

Пример 89. Мышиная модель сингенной меланомы B16F10

Ингибитор примера 80 тестировали в отношении его способности ингибировать рост опухоли в мышиной модели сингенной меланомы B16F10.

Клеточная линия и опухоль: клеточная линия меланомы B16F10 из модели аллотрансплантата в мышах C57BL/6.

Мышиные клетки меланомы B16F10 были получены из Американской коллекции типовых культур (ATCC), США. Клетки выращивали в DMEM (среда Игла, модифицированная по Дульбекко) (Invitrogen, каталожный номер 31600-034), дополненной 10% FBS (Invitrogen, каталожный номер 10438-026) и 1% пенициллин-стрептомицина (Thermo Fisher Scientific, каталожный номер 15140-122). Для установления аллотрансплантатов клетки собирали трипсинизацией, когда они достигали примерно 70-80% конfluence, и 0,1 млн клеток B16F10 суспендировали в 50 мкл не содержащей сыворотку среды и смешивали в соотношении 1:1 с матригелем, после чего имплантировали подкожно в дорсальный правый бок мышей с использованием шприца BD на 1 мл, присоединенного к игле 24 калибра.

Трансплантаты опухоли B16F10 измеряли после 5 суток инокуляции клеток, как только они становились пальпируемыми. При достижении среднего объема опухоли около 58 мм³ животным вводили дозу после рандомизации по разным группам лечения, сохраняя объем опухоли и количество животных таким образом, чтобы средний объем опухоли в каждой группе оставался одинаковым по группам. Введение доз выполняли в расчете на килограмм массы тела перорально (per os, p.o.) один раз в день (quaque die, q.d).

Размеры опухолей, длину (l) и ширину (b), измеряли штангенциркулем в день рандомизации животных на основе объема опухоли (День 1) и три раза в неделю после этого до окончания исследования. Объемы опухолей рассчитывали с использованием формулы: $b^2 * l * 0,52$, где l = длина, b = ширина (Dusan Djokovic et al., BMC Cancer, 2010, 10:641). Ингибирование роста опухоли рассчитывали после нормализации объема опухоли в данный день к объему в День 1.

Введение тестируемых соединений начинали при достижении среднего значения объема опухоли 58 мм³.

Введение тестируемых соединений проводили до Дня 14, и измерение объема опухоли проводили до Дня 13 для вычисления процента ингибирования роста опухоли (TGI). Результаты исследования приведены в таблице ниже.

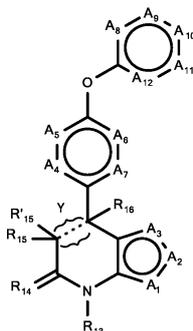
Таблица

Пример	Доза Микрограмм на килограмм массы тела (mg/kg) [p.o., q.d]	Объем опухоли (мм ³) День 13	Ингибирование роста опухоли (%)
Контроль носитель		1801 ± 241	-
80	30	684 ± 82	64

Принимая во внимание вышеизложенные описание и примеры, специалистам в данной области будет понятно, что эквивалентные модификации могут быть сделаны, не выходя за рамки объема притязаний.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение согласно формуле I



(Формула I)

или его фармацевтически приемлемая соль, где

Y представляет собой одинарную углерод-углеродную связь или двойную углерод-углеродную связь, при условии, что когда Y представляет собой двойную углерод-углеродную связь, тогда R¹⁵ и R¹⁶ отсутствуют;

одно из трех положений A₁-A₃ представляет собой либо S, либо NR_A, остальные два положения A₁-A₃ представляют собой N или CR₁, CR₂, CR₃ соответственно;

R_A представляет собой H или метил;

R₁-R₃ независимо представляют собой H, метил, amino или галоген;

A₄-A₇ представляют собой CR₄, CR₅, CR₆ и CR₇ соответственно;

A₈-A₁₂ представляют собой N или CR₈, CR₉, CR₁₀, CR₁₁ и CR₁₂ соответственно, при условии, что не более чем два из пяти положений A₈-A₁₂ одновременно могут представлять собой N;

R₄-R₇ независимо представляют собой H, галоген, C(1-3)алкокси, C(1-3)алкил;

R₈-R₁₂ независимо представляют собой H, галоген, C(1-3)алкокси, C(1-4)алкил, циано, нитро, -C(=O)OR₁₇, гидроксил, C(3-6)циклоалкил, бензил, фенил, -SF₅, бицикло[1.1.1]пентан;

или R₉ и либо R₈, либо R₁₀ конденсированы и образуют ароматическое или неароматическое пяти-семичленное кольцо, содержащее два-семь атомов углерода, и

ноль-три гетероатома; и все атомы углерода возможно замещены одним или более чем одним метилом, галогеном или гидроксилом;

R₁₃ представляет собой H или метил;

R₁₄ представляет собой NH, O или S;

R¹⁵ представляет собой H, галоген, C(1-4)алкил, -C(=O)OR₁₇ или -C(=O)NR₁₇R₁₇;

R₁₅ представляет собой H, галоген или C(1-4)алкил;

R₁₆ представляет собой H и

R₁₇ представляет собой H, метил или этил,

где атомы углерода в C(1-4)алкиле, C(1-3)алкиле, метиле и этиле возможно замещены одним или более чем одним галогеном или гидроксилом, где атомы углерода в C(3-6)циклоалкиле возможно замещены галогеном или метилом и где атомы углерода в C(1-3)алкокси возможно замещены одним или более чем одним F или гидроксилом.

2. Соединение по п.1, где A₁ представляет собой N, A₂ представляет собой NR_A, и A₃ представляет собой CR₃, в частности где A₁ представляет собой N, A₂ представляет собой NH, и A₃ представляет собой CH.

3. Соединение по любому из пп.1, 2, где R₅ представляет собой C(1-3)алкокси и R₄, R₆ и R₇ представляют собой H, в частности, где R₅ представляет собой метокси, и R₄, R₆ и R₇ представляют собой H.

4. Соединение по любому из пп.1-3, где A₈-A₁₂ представляют собой CR₈, CR₉, CR₁₀, CR₁₁ и CR₁₂ соответственно.

5. Соединение по п.4, где R₈-R₁₂ независимо представляют собой H, C(1-4)алкил, галоген, гидроксил, C(1-3)алкокси, в частности, где R₉ и R₁₁ представляют собой C(1-4)алкил, и R₈, R₁₀ и R₁₂ представляют собой H, в частности, где R₉ и R₁₁ представляют собой CF₃, и R₈, R₁₀ и R₁₂ представляют собой H.

6. Соединение по любому из пп.1-5, где R₁₃ представляет собой H.

7. Соединение по любому из пп.1-6, где R₁₄ представляет собой O.

8. Соединение по любому из пп.1-7, где R₁₅ и R¹⁵ представляют собой H.

9. Соединение по любому из пп.1-8, где Y представляет собой одинарную углерод-углеродную связь.

10. Соединение по п.1, которое выбрано из группы, состоящей из

4-[3-метокси-4-(3-метилфенокси)фенил]-2H,4H,5H,6H,7H-пиразоло[3,4-b]пиридин-6-она;

бонитрила;

4-[4-(2,3-дигидро-7Н-инден-4-илокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-{4-[(2,2-диметил-2,3-дигидро-1-бензофуран-7-ил)окси]-3-метоксифенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-[4-(2,3-дигидро-7Н-инден-5-илокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

метил-8-(2-метокси-4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-4-ил} фенокси)хинолин-5-карбоксилата;

4-(3-метокси-4-феноксифенил)-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-{3-бром-4-[3-метокси-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

3-трет-бутил-4-(4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-4-ил} фенокси)бензонитрила;

4-{4-[3-метокси-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

3-трет-бутил-4-(2-метил-4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-4-ил} фенокси)бензонитрила;

4-{4-[3-метокси-5-(трифторметил)фенокси]-3-метилфенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-{3-фтор-4-[3-метокси-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-{4-[2-(пентафтор-λ⁶-сульфанил)фенокси]-3-(трифторметокси)фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-{4-[2-(пентафтор-λ⁶-сульфанил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-[3-(трифторметокси)-4-[2-(трифторметил)фенокси]фенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

3-трет-бутил-4-(2-метокси-4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-4-ил} фенокси)бензойной кислоты;

3-(2-метокси-4-{6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-4-ил} фенокси)-5-(трифторметил)бензойной кислоты;

4-{3-метокси-4-[3-метил-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-[4-(3,5-диметилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-{3-метокси-4-[2-метил-4-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-[4-(2,4-диметилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-[4-(2-трет-бутил-4-этилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-[4-(2-трет-бутил-4-метоксифенокси)-3-метоксифенил]-2Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-[4-(2-трет-бутил-4-метилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-[4-(4-бром-2-трет-бутилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-(2-метокси-4-{6-оксо-2Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-4-ил} фенокси)-3-(трифторметил)бензонитрила;

метил-4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-5-карбоксилата;

этил-4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-5-карбоксилата;

4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-N,N-диметил-6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-5-карбоксамида;

4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-N,N-диэтил-6-оксо-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-5-карбоксамида;

4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-1Н,2Н,3Н,4Н,6Н-пирроло[3,4-в]пиридин-2-она;

4-{4-[3-(дифторметил)-5-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

4-{4-[2-(дифторметил)-4-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

(+)-4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

(-)-4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

(+)-4-[4-(3,5-диметилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

(-)-4-[4-(3,5-диметилфенокси)-3-метоксифенил]-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

(+)-4-{3-метокси-4-[3-метил-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

(-)-4-{3-метокси-4-[3-метил-5-(трифторметил)фенокси]фенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она;

(+)-4-{4-[3-(дифторметил)-5-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она; и

(-)-4-{4-[3-(дифторметил)-5-(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-она.

11. Соединение по п.1, которое представляет собой

(+)-4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он или

(-)-4-{4-[3,5-бис(трифторметил)фенокси]-3-метоксифенил}-2Н,4Н,5Н,6Н,7Н-пиразоло[3,4-в]пиридин-6-он.

12. Лекарственное средство, характеризующееся тем, что оно содержит соединение формулы I по любому из пп.1-11 или его фармацевтически приемлемую соль.

13. Применение соединения по любому из пп.1-11 или его фармацевтически приемлемой соли в терапии.

14. Применение соединения по любому из пп.1-11 или его фармацевтически приемлемой соли для терапевтического и/или профилактического лечения ERР α -опосредованных заболеваний или состояний.

15. Применение по п.14, где соединение по любому из пп.1-11 или его фармацевтически приемлемую соль используют для лечения ERР α -опосредованного рака.

16. Применение по п.13, где терапия представляет собой терапевтическое лечение: (а) по меньшей мере одного состояния, выбранного из рака легкого, меланомы, рака эндометрия и острого миелоидного лейкоза; (б) по меньшей мере одного состояния, выбранного из рака молочной железы, рака мочевого пузыря, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы, колоректального рака и рака яичника; или (в) сахарного диабета II типа.

17. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы I по любому из пп.1-11 или его фармацевтически приемлемую соль и один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов.

18. Фармацевтическая композиция по п.17, дополнительно содержащая по меньшей мере один дополнительный терапевтически активный агент.

