

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **033642**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2019.11.12

(21) Номер заявки
201791002

(22) Дата подачи заявки
2015.12.14

(51) Int. Cl. **C07D 401/14** (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)
A61K 31/454 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) СОЕДИНЕНИЯ, МОДУЛИРУЮЩИЕ FXR (NR1H4)

(31) **14004260.7**

(32) **2014.12.17**

(33) **EP**

(43) **2018.06.29**

(86) **PCT/EP2015/002512**

(87) **WO 2016/096116 2016.06.23**

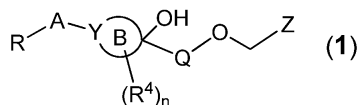
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ДЖИЛИД САЙЭНС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Кинцель Олаф, Кремозер Клаус
(DE), Бломгрэн Питер А., Карри
Кевин С., Кропф Джеффри И., Шмитт
Аарон, Уоткинс Уильям Дж., Сюй
Цзяньцзюнь (US), Геге Кристиан (DE)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) WO-A1-2013007387
WO-A1-2012087521
WO-A1-2012087520
WO-A1-2009012125
WO-A1-2009081197

(57) Изобретение относится к соединениям формулы (1)



которые связываются с рецептором NR1H4 (FRX) и действуют в качестве агонистов FRX. Изобретение дополнительно относится к применению соединений для получения лекарственного средства для лечения заболеваний и/или состояний за счет связывания указанного ядерного рецептора указанными соединениями, а также к способу синтеза указанных соединений.

B1**033642****033642****B1**

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

Многочлеточные организмы находятся в зависимости от сложных механизмов передачи информации между клетками и частями тела. Передаваемая информация может быть весьма сложной, и результатом ее передачи может являться изменение генетических программ, участвующих в дифференцировке, пролиферации или репродукции клеток. Сигналы или гормоны часто представляют собой низкомолекулярные соединения, такие как пептиды, жирные кислоты или производные холестерина.

Многие из данных сигналов оказывают действие за счет изменения в конечном счете транскрипции конкретных генов. Одной хорошо изученной группой белков, которые опосредуют ответ клетки на множество сигналов, является семейство факторов транскрипции, известных как ядерные рецепторы, в дальнейшем часто обозначаемые в настоящей заявке как "ЯР". Члены данной группы включают рецепторы стероидных гормонов, витамина D, экдизона, цис- и транс-ретиноевой кислоты, тиреоидного гормона, желчных кислот, производных холестерина, жирных кислот (и других пролифераторов пероксисом), так же как и так называемые "сиротские" рецепторы, представляющие собой белки, которые структурно сходны с другими членами данной группы, но лиганды для которых неизвестны. Сиротские рецепторы могут указывать на неизвестные сигнальные пути в клетке или могут представлять собой ядерные рецепторы, функционирующие без активации лигандом. Активация транскрипции некоторыми из данных сиротских рецепторов может происходить в отсутствие экзогенного лиганда и/или через пути сигнальной трансдукции, начинающиеся от поверхности клетки (D.J. Mangelsdorf et al., *Cell* 1995, 83, 835; R.M. Evans, *Mol. Endocrinol.*, 2005, 19, 1429).

В общем случае, в ЯР выделяют три функциональных домена. Предполагается, что аминоконцевой домен, как полагают, обладает некоторой регуляторной функцией. За ним следует ДНК-связывающий домен, в дальнейшем называемый в настоящей заявке "ДСД", который обычно содержит два цинковых пальца и распознает специфический элемент гормонального ответа, в дальнейшем называемый в настоящей заявке "ЭГО", в промоторах генов, отвечающих за указанный ответ. Было показано, что конкретные аминокислотные остатки в "ДСД" обеспечивают специфичность связывания с последовательностью ДНК (M. Schena and K.R. Yamamoto, *Science*, 1988, 241, 965).

Лигандсвязывающий домен, в дальнейшем называемый в настоящей заявке "ЛСД", расположен в карбоксиконцевом участке известных ЯР.

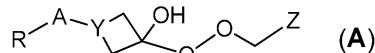
Оказалось, что в отсутствие гормона ЛСД препятствует взаимодействию ДСД с ЭГО. Связывание гормона, по-видимому, приводит к конформационному изменению в ЯР и, таким образом, обуславливает такое препятствование (A.M. Brzozowski et al., *Nature*, 1997, 389, 753). ЯР без ЛСД конститутивно активирует транскрипцию, но на низком уровне. Предполагается, что коактиваторы или транскрипционные активаторы выступают связующим звеном между специфичными к последовательности факторами транскрипции, основным аппаратом транскрипции, и, кроме того, влияют на структуру хроматина целевой клетки. Несколько белков, таких как SRC-1, ACTR и Grip1, взаимодействуют с ЯР способом, при котором взаимодействие усиливается за счет лиганда (D.M. Heery et al., *Nature*, 1997, 387, 733; T. Heinzel et al., *Nature*, 1997, 387, 43; K.W. Nettles and G.L. Greene, *Annu. Rev. Physiol.*, 2005, 67, 309).

Модуляторы ядерных рецепторов, такие как стероидные гормоны, влияют на рост и функционирование конкретных клеток за счет связывания с внутриклеточными рецепторами и образования комплексов ядерных рецепторов с лигандами. Комплексы ядерных рецепторов с гормонами затем взаимодействуют с элементом гормонального ответа (ЭГО) в контрольной области определенных генов и изменяют экспрессию определенных генов (A. Aranda and A. Pascual, *Physiol. Rev.*, 2001, 81, 1269). Фарнезоидный X-рецептор альфа (в дальнейшем также часто упоминаемый в настоящей заявке как NR1H4 касательно рецептора человека) представляет собой прототипный ядерный рецептор типа 2, который активирует гены при связывании с промоторным участком целевых генов гетеродимерным образом с ретиноидным X-рецептором (B.M. Forman et al., *Cell*, 1995, 81, 687). Соответствующими физиологическими лигандами NR1H4 являются желчные кислоты (D.J. Parks et al., *Science*, 1999, 284, 1365; M. Makishima et al., *Science* 1999, 284, 1362). Наиболее сильным лигандом является хенодезоксихолевая кислота (ХДХК), которая регулирует экспрессию нескольких генов, участвующих в гомеостазе желчных кислот. Первоначально было описано, что фарнезол и его производные, вместе называемые фарнезоидами, активируют крысиный ортолог в высокой концентрации, но они не активируют рецептор человека или мыши. FXR экспрессируется в печени, во всем желудочно-кишечном тракте, включая пищевод, желудок, двенадцатиперстную кишку, тонкий кишечник, толстую кишку, в яичниках, надпочечниках и почках. Предполагается, что помимо контролирования внутриклеточной экспрессии генов, FXR также участвует в паракринной и эндокринной передаче сигналов посредством повышающей регуляции экспрессии цитокина - фактора роста фибробластов 15 (грызуны) или 19 (обезьяны, люди J.A. Holt et al., *Genes Dev.*, 2003, 17, 1581; T. Inagaki et al., *Cell Metab.*, 2005, 2, 217).

Низкомолекулярные соединения, действующие как модуляторы FXR, раскрыты в следующих публикациях: WO 2000/037077, WO 2003/015771, WO 2004/048349, WO 2007/076260, WO 2007/092751, WO

2007/140174, WO 2007/140183, WO 2008/051942, WO 2008/157270, WO 2009/005998, WO 2009/012125, WO 2008/025539, WO 2008/025540, WO 2009/005998, WO 2009/012125, WO 2011/020615, WO 2012/087519, WO 2012/087520 и WO 2012/087521. Также недавно обсуждались дополнительные низкомолекулярные модуляторы FXR (M.L. Crawley, Expert Opin Ther. Pat., 2010, 20, 1047; D. Merk et al., Future Med. Chem., 2012, 4, 1015 и C. Gege et al., Curr. Top. Med. Chem., 2014, 14, 2143).

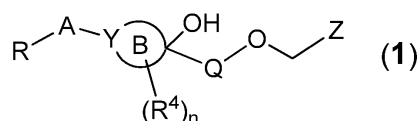
В документе WO 2013/007387 авторы настоящего изобретения раскрыли гидроксисодержащие производные циклобутила и азетидина, имеющие следующую общую формулу:



где переменные определены таким же образом, как и в настоящей заявке.

Хотя на настоящий момент раскрыто множество агонистов FXR, все еще существует потребность в обеспечении улучшенного агониста FXR.

Указанная задача была решена с помощью соединения согласно следующей формуле (1) или его фармацевтически приемлемой соли:



где R выбран из группы, состоящей из CO₂H, C(O)NH₂, тетразол-5-ила, C(O)NHCH₂CO₂H и C(O)NH(CH₂)₂SO₃H;

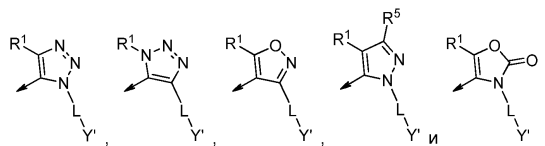
A представляет собой фенил, пиридил, тиазолил, бензо[d]тиазол-2,6-диил или 1-изопропил-пирозолил-3,5-диил, причем фенил и пиридил являются незамещенными или замещенными одной группой, выбранной из группы, состоящей из фтора, метокси и трифторметила;

B представляет собой пиперидинил, пирролидинил, 8-азабицикло[3.2.1]октанил или циклопентил, причем заместитель Q не является расположенным непосредственно рядом с заместителем A;

Q представляет собой фенил, замещенный хлором, или метил;

Y представляет собой N или CH;

Z выбран из



где L выбран из группы, состоящей из связи, -(CH₂)₂- и -CH₂O-;

Y' выбран из фенила, 3,5-дихлоропиридил-4-ила и 1-оксо-3,5-дихлоропиридил-4-ила, где фенил замещен одной или двумя группами, выбранными из хлора, дифторметокси, трифторметокси и метила;

R¹ выбран из группы, состоящей из циклопропила, 2-фторпроп-2-ила, 2-гидроксипроп-2-ила и изо-пропила;

R⁵ представляет собой водород.

Согласно другому варианту реализации настоящее изобретение относится к применению соединения согласно формуле (1) в качестве лекарственного средства для профилактики и/или лечения заболеваний, опосредованных FXR.

Согласно другому варианту реализации изобретения в комбинации с любым из вариантов реализации изобретения, приведенными выше или ниже в настоящей заявке, указанное заболевание выбрано из хронических внутрипеченочных или некоторых форм внепеченочных холестатических состояний; фиброза печени; обструктивных или хронических воспалительных расстройств печени; цирроза печени; стеатоза печени и ассоциированных с ним синдромов, холестатических и фибротических эффектов, которые связаны с вызванным алкоголем циррозом, или с передаваемыми вирусами формами гепатита; печеночной недостаточности или ишемии печени после обширной резекции печени; стеатогепатита, связанного с химиотерапией (CASH); острой печеночной недостаточности и/или воспалительных заболеваний кишечника.

Согласно другому варианту реализации изобретения в комбинации с любым из вариантов реализации изобретения, приведенными выше или ниже в настоящей заявке, указанное заболевание выбрано из липидных и липопротеиновых расстройств; диабета II типа и клинических осложнений диабета I и II типов, включая диабетическую нефропатию, диабетическую нейропатию, диабетическую ретинопатию и другие наблюдаемые эффекты клинического проявления длительного диабета; состояний и заболеваний, возникающих в результате хронической жировой и фиброзной дегенерации органов вследствие усиленного накопления липидов и особенно триглицеридов и последующей активации профиброзных путей, таких как неалкогольная жировая болезнь печени (НЖБП) или неалкогольный стеатогепатит (НАСГ); ожирения или метаболического синдрома (комбинированные состояния дислипидемии, диабета или аномально высокого индекса массы тела) и/или острого инфаркта миокарда, острого инсульта или тром-

боза, возникающего в качестве конечной стадии хронического обструктивного атеросклероза.

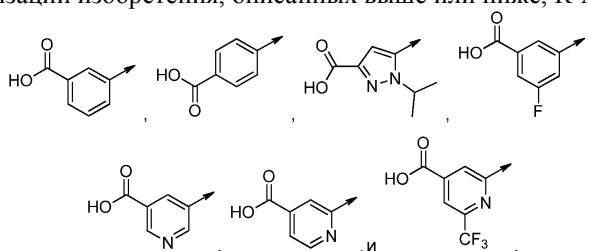
Согласно другому варианту реализации изобретения в комбинации с любым из вариантов реализации изобретения, приведенными выше или ниже в настоящей заявке, заболевание выбрано из незлокачественных гиперпролиферативных расстройств и злокачественных гиперпролиферативных расстройств, в частности гепатоцеллюлярной карциномы, аденомы и полипоза толстой кишки, аденокарциномы толстой кишки, рака груди, аденокарциномы поджелудочной железы и пищевода Барретта.

Соединения согласно настоящему изобретению описываются общей химической структурой согласно формуле (1) в п. 1.

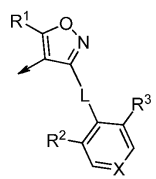
Согласно предпочтительному варианту реализации изобретения в комбинации с любым из вариантов реализации изобретения, приведенными выше или ниже в настоящей заявке, R в формуле (1) представляет собой CO_2H .

Согласно предпочтительному варианту реализации изобретения в комбинации с любым из вариантов реализации изобретения, приведенными выше или ниже в настоящей заявке, А представляет собой пиридил.

Согласно дополнительному предпочтительному варианту реализации изобретения в комбинации с любым из вариантов реализации изобретения, описанных выше или ниже, R-A выбран из



Согласно дополнительному предпочтительному варианту реализации изобретения в комбинации с любым из вариантов реализации изобретения, описанных выше или ниже, Z представляет собой



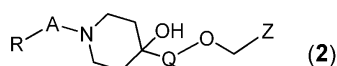
где L представляет собой связь;

Х представляет собой СН;

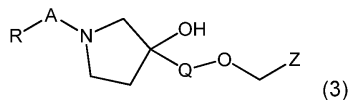
R^2 выбран из группы, состоящей из хлоро, дифторметокси, трифторметокси и метила;

R^3 выбран из группы, состоящей из водорода, хлора, дифторметокси, трифторметокси и метила.

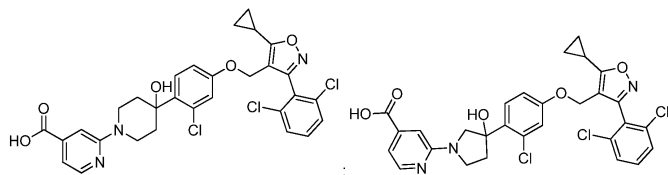
В более предпочтительном варианте реализации изобретения предложено соединение согласно формуле (2)

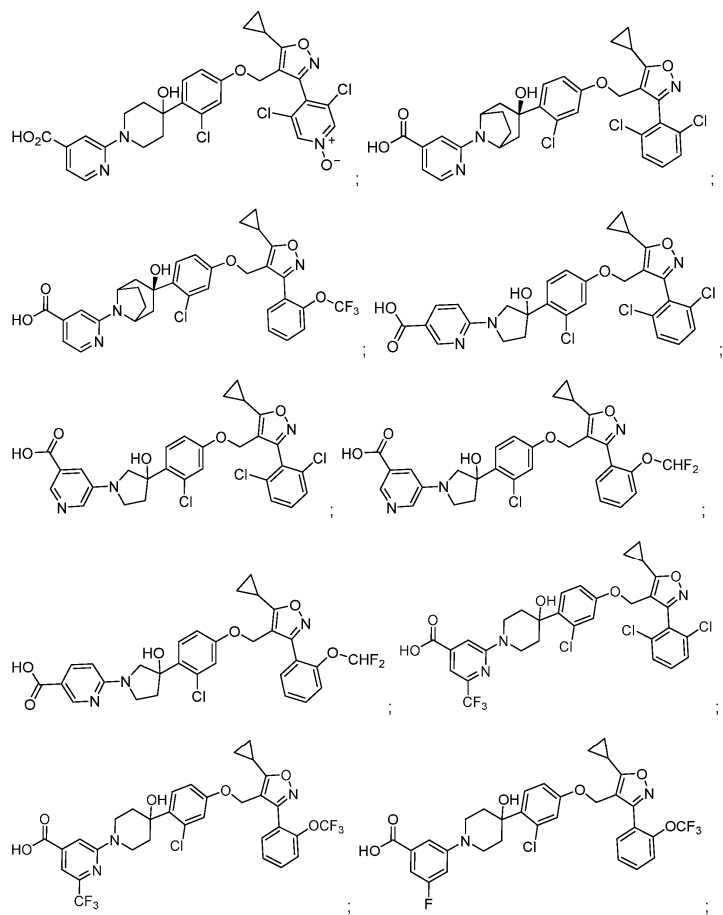


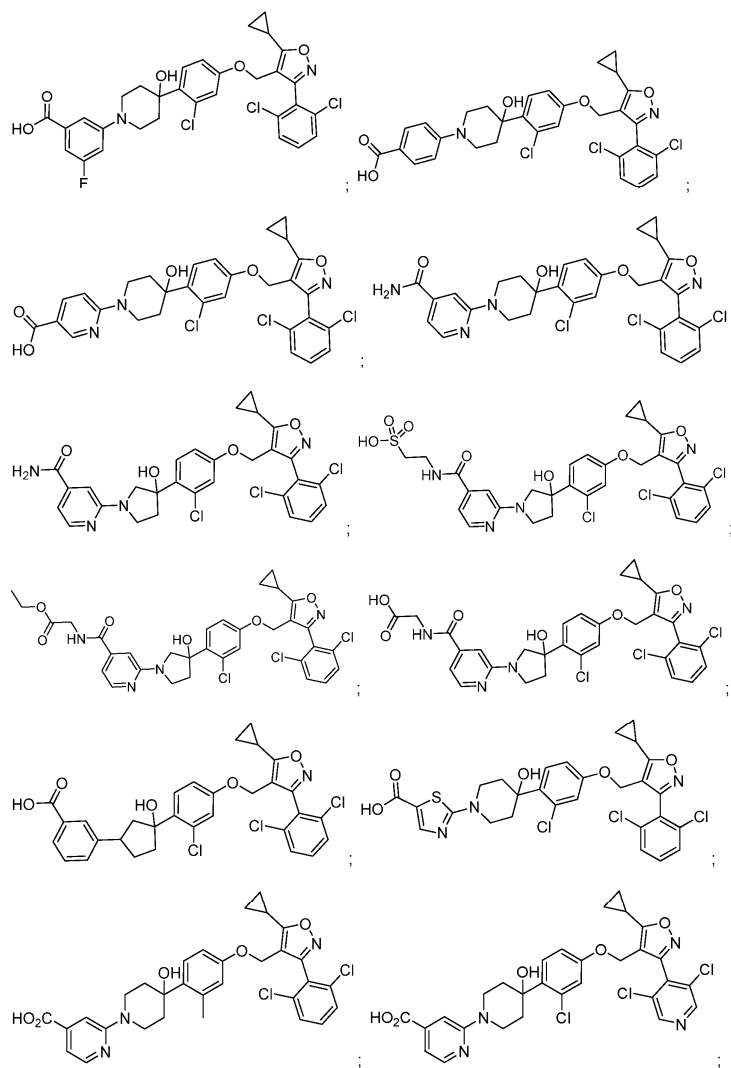
Согласно другому предпочтительному варианту реализации изобретения предложено соединение формулы (3)

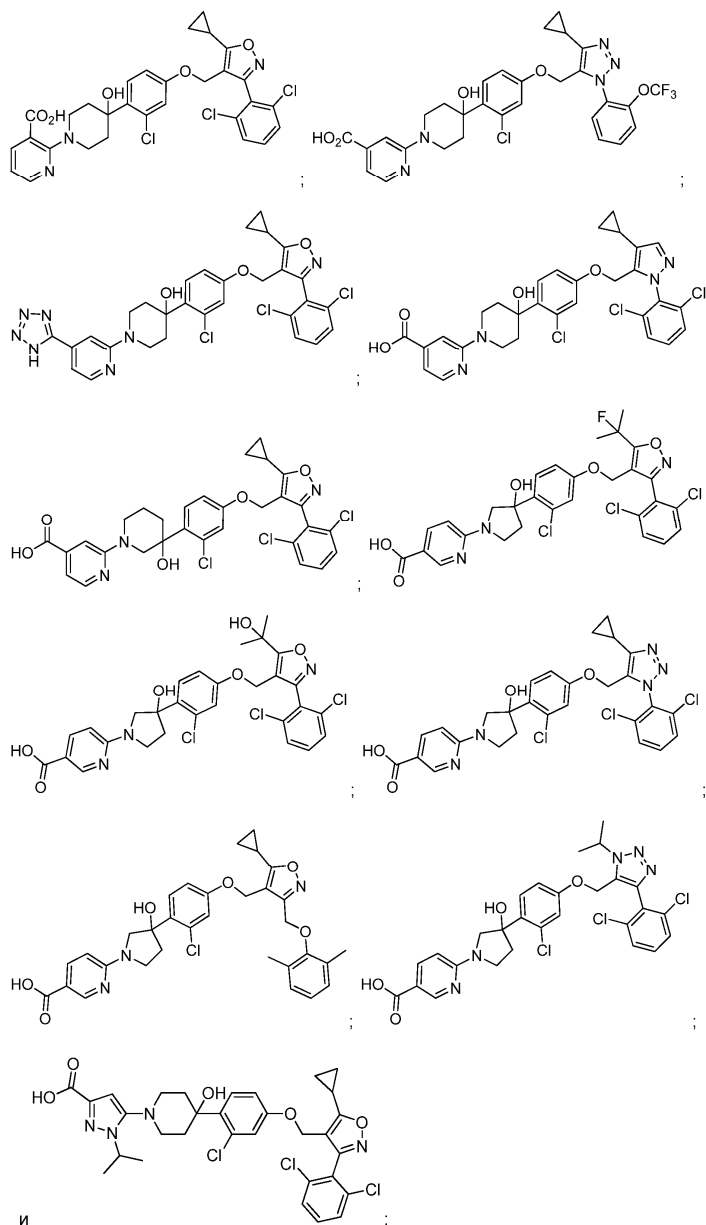


Согласно другому варианту реализации настоящее изобретение относится к соединению, выбранному из группы, состоящей из









и

или его фармацевтически приемлемой соли.

В контексте настоящего изобретения "C₁₋₆-алкил" означает насыщенную алкильную цепь, содержащую от 1 до 6 атомов углерода, которая может быть прямой или разветвленной. Примеры C₁₋₆-алкилов включают метил, этил, пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, трет-бутил, н-пентил, изопентил, неопентил и гексил.

Термин "галоген-C₁₋₆-алкил" означает, что один или более атомов водорода в алкильной цепи заменен галогеном. Предпочтительным примером галоген-C₁₋₆-алкила является CF₃.

"C₂₋₆-Алкенил" означает алкильную цепь, содержащую от 1 до 6 атомов углерода, которая может быть прямой или разветвленной, содержащей по меньшей мере одну углерод-углеродную двойную связь. Примеры C₂₋₆-алкенилов включают этенил, пропенил, бутенил, пентенил, гексенил или (1E,3Z)-2-метилпента-1,3-диен-1-ил. Предпочтительными примерами являются этенил, пропенил или (1E,3Z)-2-метилпента-1,3-диен-1-ил.

"C₂₋₆-Алкинил" означает алкильную цепь, содержащую от 1 до 6 атомов углерода, которая может быть прямой или разветвленной, содержащей по меньшей мере одну углерод-углеродную тройную связь. Примеры C₂₋₆-алкинилов включают этинил, пропинил, 1-бутинил, 2-бутинил, 1-пентинил, 2-пентинил, 1-гексинил, 2-гексинил или 3-гексинил. Предпочтительные примеры C₂₋₆-алкинилов включают этинил и пропинил.

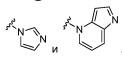
"C₀₋₆-Алкилен" означает, что указанная группа является двухвалентной и соединяет присоединенный остаток с оставшейся частью молекулы. Более того, предполагается, что в контексте настоящего изобретения "C₀-алкилен" представляет связь.

C₅₋₁₀-Циклоалкильная группа означает насыщенную или частично ненасыщенную моно-, би- или

спироциклическую систему, содержащую от 5 до 10 атомов углерода. Соединенные мостиковой связью карбоциклические кольцевые системы содержат две или более кольцевых систем, которые имеют общие несоседние кольцевые атомы. Примеры включают циклопентил, циклогексил, циклогексенил, бицикло[2,2,2]октил, бицикло[3,2,1]октанил, спиро[3,3]гептил, бицикло[2,2,1]гептил, адамантил и пентацикло[4,2,0,0^{2,5},0^{3,8},0^{4,7}]октил.

C_{3-10} -Гетероциклоалкильная группа означает насыщенное или частично ненасыщенное 3-10-членное углеродное моно-, би- или спироциклическое кольцо, где 1, 2 или 3 атома углерода замещены 1, 2 или 3 гетероатомами соответственно, причем указанные гетероатомы независимо выбраны из N, O, S, SO и SO₂. Такие примеры включают эпоксидил, оксетанил, пирролидинил, тетрагидрофуранил, пиперидинил, пиперазинил, тетрагидропиранил, 1,4-диоксанил, морфолинил, 4-хинуклидинил, 1,4-дигидропиридинил и 3,6-дигидро-2Н-тиопиранил. C_{3-10} -Гетероциклоалкильная группа может быть присоединена к оставшейся части молекулы посредством атома углерода или азота.

5-10-членная моно- или бициклическая гетероароматическая кольцевая система (также в настоящей заявке называемая гетероарил), содержащая до 4 гетероатомов, означает моноциклическое гетероароматическое кольцо, такое как пирролил, имидазол, фуранил, тиофенил, пиридинил, пиримидинил, пирозинил, пиразолил, оксазолил, изоксазолил, триазолил, оксадиазолил и тиадиазолил. Дополнительно это означает бициклическую кольцевую систему, где гетероатом(ы) может присутствовать в одном или обоих кольцах, включая атомы в голове мостика. Такие примеры включают хинолинил, изохинолинил, хиноксалинил, бензимидазолил, бензизоксазолил, бензофуранил, бензоксазолил, индолил, индолизинил и пиразоло[1,5-а]пиримидинил. Атом азота или серы в гетероарильной системе также может быть необязательно окислен до соответствующего N-оксида, S-оксида или S,S-диоксида. Если не указано иное, гетероарильная система может быть соединена посредством атома углерода или азота. Примеры N-

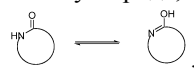
соединенных гетероциклов представляют собой .

6-10-членная моно- или бициклическая ароматическая кольцевая система (также в настоящей заявке называемая арилом) означает ароматический углеродный цикл, такой как фенил или нафталенил.

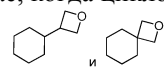
Термин "N-оксид" обозначает соединения, где азот в гетероароматической системе (предпочтительно пиридиниле) является окисленным. Такие соединения могут быть получены известным образом путем проведения реакции соединения согласно настоящему изобретению (такого как пиридинильная группа) с H₂O₂ или пероксикислотой в инертном растворителе.

Галоген выбран из фтора, хлора, брома и йода, более предпочтительно фтора или хлора и наиболее предпочтительно фтора.

Дополнительно, соединения согласно настоящему изобретению частично подвержены таутомерии. Например, если гетероароматическая группа, содержащая атом азота в кольце, замещена гидроксильной группой на атоме углерода, соседнем к указанному атому азота, возможно возникновение следующей

таутомерии: .

C_{3-6} -Циклоалкильная или C_{3-6} -гетероциклоалкильная группа может быть соединена прямым или спироциклическим образом, например, в случае, когда циклогексан замещен гетероциклоалкильной группой

оксетан, возможны следующие структуры: .

Специалисту в данной области техники будет понятно, что, когда перечисление альтернативных заместителей включают члены, которые из-за их необходимых валентностей или по другим причинам не могут использоваться как заместители для конкретной группы, указанное перечисление следует понимать в соответствии со знаниями специалиста как включающий только те члены из этого перечисления, которые могут быть использованы в качестве заместителей для конкретной группы.

Соединения согласно настоящему изобретению могут быть представлены в форме пролекарств. "Пролекарство" означает производное, которое превращается в соединение согласно настоящему изобретению посредством реакции с ферментом, желудочным соком и т.п. при физиологических условиях в живом организме, например посредством реакций окисления, восстановления, гидролиза и т.п., каждая из которых осуществляется ферментативным путем. Примерами пролекарств являются соединения, в которых аминогруппа в соединении согласно настоящему изобретению ацилирована, алкилирована или фосфорилирована с образованием, например, эйкозаноиламина, аланиламина, пивалоилоксиметиламина, или в которых гидроксильная группа ацилирована, алкилирована, фосфорилирована или превращена в борат, например ацетилокси, пальмитоилокси, пивалоилокси, сукцинилокси, фумарилокси, аланилокси, или у которых карбоксильная группа этерифицирована или амидирована. Данные соединения могут быть получены из соединений согласно настоящему изобретению в соответствии с хорошо известными способами. Другие примеры пролекарств представляют собой соединения, где карбоксилат в соединении согласно настоящему изобретению превращен, например, в алкил-, арил-, холин-, amino-, ацилоксиметиловый сложный эфир, линоленоиловый сложный эфир.

В печени человека УДФ-глюкуронсульфотрансферазы воздействуют на определенные соединения,

содержащие amino, карбамил, тιο(сульфгидрильные) или гидроксильные группы, с конъюгированием уридиндифосфат- α -D-глюкуроновой кислоты посредством гликозидных связей, или этерификации соединений с карбоксильными или гидроксильными группами в процессе II фазы метаболизма. Соединения согласно настоящему изобретению могут быть глюкуронидированными, то есть конъюгированными с глюкуроновой кислотой с образованием глюкуронидов, в частности (β -D)глюкуронидов.

Метаболиты соединений согласно настоящему изобретению также включены в настоящее изобретение.

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

Там, где возможна таутомерия, такая как, например, кето-енольная таутомерия, соединений согласно настоящему изобретению или их пролекарств, индивидуальные формы, такие как, например, кето- и енольная форма, каждая включена в настоящее изобретение, так же как и их смеси в любом соотношении. То же справедливо для стереоизомеров, таких как, например, энантиомеры, цис/транс-изомеры, конформеры и т.п.

При необходимости изомеры могут быть разделены с помощью способов, хорошо известных в данной области техники, например с помощью жидкостной хроматографии. Разделение также выполнено для энантиомеров путем применения, например хиральных неподвижных фаз. Кроме того, энантиомеры могут быть выделены путем превращения их в диастереомеры, т.е. соединения с энантиомерно чистым вспомогательным соединением, последующим разделением полученных диастереомеров и отщеплением вспомогательного остатка. В качестве альтернативы любой энантиомер соединения согласно настоящему изобретению может быть получен в результате стереоселективного синтеза с применением оптически чистых исходных веществ. Другой путь получения чистых энантиомеров из рацемических смесей заключается в применении энантиоселективной кристаллизации с хиральными противоионами.

Соединения согласно настоящему изобретению могут быть представлены в форме фармацевтически приемлемой соли или сольвата. Термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к солям, полученным из фармацевтически приемлемых нетоксичных оснований или кислот, включая неорганические основания или кислоты и органические основания или кислоты. В случае, если соединения согласно настоящему изобретению содержат одну или более кислотных или основных групп, изобретение также включает их соответствующие фармацевтически или токсикологически приемлемые соли, в частности их соли, применимые в фармации. Таким образом, соединения согласно настоящему изобретению, которые содержат кислотные группы, могут быть представлены данными группами и могут быть применены согласно изобретению, например, в виде солей щелочных металлов, солей щелочноземельных металлов или аммониевых солей. Более точные примеры таких солей включают натриевые соли, калиевые соли, кальциевые соли, магниевые соли или соли с аммиаком или органическими аминами, такими как, например, этиламин, этаноламин, триэтаноламин или аминокислоты. Соединения согласно настоящему изобретению, которые содержат одну или более основных групп, то есть групп, которые могут быть протонированы, могут быть представлены и могут быть применены согласно изобретению в форме их аддитивных солей с неорганическими или органическими кислотами. Примеры подходящих кислот включают хлороводород, бромоводород, фосфорную кислоту, серную кислоту, азотную кислоту, метансульфоновую кислоту, п-толуолсульфоновую кислоту, нафталиндисульфоновые кислоты, щавелевую кислоту, уксусную кислоту, винную кислоту, молочную кислоту, салициловую кислоту, бензойную кислоту, муравьиную кислоту, пропионовую кислоту, триметилуксусную кислоту, диэтилуксусную кислоту, малоновую кислоту, янтарную кислоту, пимелиновую кислоту, фумаровую кислоту, малеиновую кислоту, яблочную кислоту, сульфаминовую кислоту, фенилпропионовую кислоту, глюконовую кислоту, аскорбиновую кислоту, изоникотиновую кислоту, лимонную кислоту, адипиновую кислоту и другие кислоты, известные специалисту в данной области техники. Если соединения согласно настоящему изобретению одновременно содержат кислотные и основные группы в молекуле, изобретение также включает, наряду с упомянутыми формами солей, внутренние соли или бетаины (цвиттер-ионы). Соответствующие соли могут быть получены с помощью обычных способов, которые известны специалисту в данной области техники, таких как, например, взаимодействие соединений согласно изобретению с органической или неорганической кислотой или основанием в растворителе или диспергирующем агенте или анионный обмен или катионный обмен с другими солями. Настоящее изобретение также включает все соли соединений согласно настоящему изобретению, которые вследствие низкой физиологической совместимости непосредственно не подходят для применения в лекарственных средствах, но которые могут быть применены, например, в качестве промежуточных продуктов для химических реакций или для получения фармацевтически приемлемых солей.

Кроме того, соединения согласно настоящему изобретению могут быть представлены в форме сольватов, таких как те, которые включают в качестве сольвата воду или фармацевтически приемлемые сольваты, такие как спирты, в частности этанол.

Дополнительно согласно настоящему изобретению предложены фармацевтические композиции,

содержащие по меньшей мере одно соединение согласно настоящему изобретению, или его пролекарство, или его фармацевтически приемлемую соль или сольват в качестве активного ингредиента совместно с фармацевтически приемлемым носителем.

"Фармацевтическая композиция" означает один или более активных ингредиентов и один или более инертных ингредиентов, которые составляют носитель, так же как и любой продукт, который получается, прямо или опосредованно, в результате объединения, комплексообразования или агрегации любых двух или более ингредиентов, или в результате диссоциации одного или более ингредиентов, или в результате других типов реакций или взаимодействий одного или более ингредиентов. Соответственно фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению включают любую композицию, полученную путем смешивания по меньшей мере одного соединения согласно настоящему изобретению и фармацевтически приемлемого носителя.

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

Указанные композиции подходят для перорального, ректального, местного, парентерального (включая подкожное, внутримышечное и внутривенное), глазного (офтальмологического), легочного (назальная или буккальная ингаляция) или назального введения, хотя наиболее подходящий путь введения в любом данном случае будет зависеть от природы и тяжести состояний, подвергаемых лечению, и от природы активного ингредиента. Они могут быть удобно представлены в дозированной форме для однократного введения и получены любым из способов, хорошо известных в области фармацевтики.

Настоящее изобретение дополнительно относится к применению указанных соединений в лечении и/или профилактике заболеваний и/или состояний посредством связывания указанного ядерного рецептора указанными соединениями. Дополнительно настоящее изобретение относится к применению указанных соединений в приготовлении лекарственного средства для лечения и/или профилактики заболеваний и/или состояний посредством связывания указанного ядерного рецептора указанными соединениями. В частности, настоящее изобретение относится к применению соединений согласно формуле (1) в приготовлении лекарственного средства для профилактики и/или лечения хронических внутрипеченочных или некоторых форм внепеченочных холестатических состояний, фиброза печени, острых внутрипеченочных холестатических состояний, обструктивных или хронических воспалительных расстройств, которые являются результатом неправильного состава желчи, желудочно-кишечных состояний со сниженным поглощением входящего в рацион жира и жирорастворимых входящих в рацион витаминов, воспалительных заболеваний кишечника, липидных и липопротеиновых расстройств, диабета II типа и клинических осложнений диабета I и II типов, состояний и заболеваний, возникающих в результате хронической жировой и фиброзной дегенерации органов из-за усиленного накопления липидов и особенно триглицеридов и последующей активации профиброзных путей, ожирения и метаболического синдрома (общие состояния дислипидемии, диабета и аномально высокого индекса массы тела), острого инфаркта миокарда, острого инсульта, тромбоза, который случается как конечная стадия хронического обструктивного атеросклероза, хронических инфекций, вызываемых внутриклеточными бактериями или простейшими паразитами, незлокачественных гиперпролиферативных расстройств, злокачественных гиперпролиферативных расстройств, аденокарциномы толстой кишки и гепатоцеллюлярной карциномы, в частности стеатоза печени и связанных синдромов, печеночной недостаточности или нарушения функции печени как результата хронических заболеваний печени или хирургической резекции печени, инфекции гепатита В, инфекции гепатита С и/или холестатических и фиброзных эффектов, которые связаны с вызванным алкоголем циррозом или с передаваемыми вирусами формами гепатита.

Лекарственные средства, описанные в настоящей заявке, могут быть получены традиционными способами, включая объединение соединения согласно настоящему изобретению и фармацевтически приемлемого носителя.

Предполагается, что FXR является ядерным рецептором желчных кислот. В результате, он модулирует как синтетическую выработку желчных кислот в печени, так и их циркуляцию в кишечнике (путем регулирования белков, связывающих желчные кислоты). Однако помимо участия в физиологии желчных кислот, FXR, по-видимому, участвует в регуляции многих разнообразных физиологических процессов, которые соответствуют в этиологии и для лечения заболеваний, таких разнообразных, как холестериновые желчные камни, метаболические расстройства, такие как диабет II типа, дислипидемия или ожирение, хронические воспалительные заболевания, такие как воспалительные заболевания кишечника или хронические внутрипеченочные формы холестаза, и многие другие заболевания (T. Claudel et al., *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005, 25, 2020; Y.D. Wang et al., *Cell Res.*, 2008, 18, 1087).

FXR регулирует сложный набор генов ответа в печени и желудочно-кишечном тракте. Продукты генов оказывают влияние на разнообразные физиологические процессы. В ходе функционального анализа FXR первой проанализированной регуляторной сетью была регуляция синтеза желчных кислот. Тогда как печеночные X-рецепторы (LXR) индуцируют ключевой фермент превращения холестерина в желчные кислоты, цитохром P450 7A1 (Cyp7A1), посредством индукции регуляторного ядерного рецептора LRH-1, FXR репрессирует индукцию Cyp7A1 посредством положительной регуляции mPNC, кодирую-

шей малый гетеродимерный партнер (SHP), дополнительный ядерный рецептор, который доминантно репрессирует LXR-1. Поскольку FXR связывает конечные продукты данного пути, первичные желчные кислоты, такие как холевая кислота (ХК) или хенодезоксихолевая кислота (ХДХК), этот процесс можно рассматривать в качестве примера ингибирования по принципу обратной связи на уровне экспрессии генов (B. Goodwin et al., *Mol. Cell*, 2000, 6, 517; T.T. Lu et al., *Mol. Cell*, 2000, 6, 507). Параллельно репрессии синтеза желчных кислот посредством SHP, FXR индуцирует ряд так называемых АТФ-связывающих кассетных транспортеров (ABC-транспортеров), которые отвечают за экспорт токсичных желчных кислот из цитозоля гепатоцита в каналцы, маленькие ответвления желчного протока, где образуется желчь. Данная гепатопротекторная функция FXR впервые стала очевидной с помощью анализа мышей с выключенным геном FXR (C.J. Sinai et al., *Cell*, 2000, 102, 731), где была показана пониженная или повышенная экспрессия нескольких ABC-транспортеров в печени. В результате дальнейшего детального анализа обнаружили, что главный экскреторный насос солей желчных кислот BSEP или ABCB11 (M. Ananthanarayanan et al., *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 28857; J.R. Plass et al., *Hepatology*, 2002, 35, 589) так же, как и ключевой фермент, который опосредует перенос липидов от липопротеинов к фосфолипидам, PLTP (N.L. Urizar et al., *J. Biol. Chem.*, 2000, 275, 39313), и два ключевых канальцевых мембранных транспортера для фосфолипидов, MRP-2 (ABCC4) (H.R. Kast et al., *J. Biol. Chem.*, 2002, 277, 2908) и MDR-3 (ABCB4) (L. Huang et al., *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, 51085) являются прямыми мишенями для управляемой лигандом активации транскрипции посредством FXR (обобщенно представлено в M. Miyata, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2005, 312, 759; G. Rizzo et al., *Curr. Drug Targets Immune Endocr. Metabol. Disord.*, 2005, 5, 289).

Тот факт, что FXR, по-видимому, является главным рецептором метаболитов и регулятором синтеза, экспорта и рециркуляции желчных кислот, позволил предложить применение лигандов FXR для индукции выделения желчи и изменения состава желчных кислот в сторону более гидрофильного состава. С разработкой первого синтетического лиганда FXR GW4064 (P.R. Maloney et al., *J. Med. Chem.*, 2000, 43, 2971; T.M. Willson et al., *Med. Res. Rev.*, 2001, 21, 513) в качестве модельного соединения и полусинтетического искусственного лиганда на основе желчной кислоты 6-альфа-этил-ХДХК могут быть проанализированы эффекты сверхстимуляции FXR мощными агонистами. Показано, что оба лиганда индуцируют выделение желчи у животных с перевязанными желчными протоками. Более того, кроме желчегонных эффектов также могут быть показаны гепатопротекторные эффекты (R. Pellicciari et al., *J. Med. Chem.*, 2002, 45, 3569; Y. Liu et al., *J. Clin. Invest.*, 2003, 112, 1678). Данный гепатопротекторный эффект был далее сужен до противофиброзного эффекта, который является результатом репрессии тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ, TIMP-1 и 2, индукции матриксной металлопротеиназы 2 (MMP-2), расщепляющей отложения коллагена в звездчатых клетках печени, и последующего снижения уровня мРНК альфа-коллагена и мРНК трансформирующего ростового фактора бета (TGF-beta), которые оба являются профиброзными факторами, агонистами FXR (S. Fiorucci et al., *Gastroenterology*, 2004, 127, 1497; S. Fiorucci et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2005, 314, 584). Кроме того, противохолестатическая активность была показана в моделях животных с перевязанными желчными протоками так же, как и в моделях животных с холестазом, индуцированным эстрогенами (S. Fiorucci et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2005, 313, 604).

Генетические исследования показывают, что в наследственных формах холестаза (прогрессивный семейный внутрипеченочный холестаз = ПСВХ, тип I-IV) или понижена ядерная локализация самого FXR как следствие мутации в гене FIC1 (в ПСВХ I типа, также называемой болезнью Байлера) (F. Chen et al., *Gastroenterology*, 2004, 126, 756; L. Alvarez et al., *Hum. Mol. Genet.*, 2004, 13, 2451), или понижены уровни целевого гена FXR, кодирующего экспортный насос фосфолипидов MDR-3 (в ПСВХ III типа). В совокупности существует увеличивающаяся доказательная база, что соединения, связывающие FXR, будут показывать важное клиническое применение в программе лечения хронических холестатических состояний, таких как первичный билиарный цирроз (ПБЦ) или первичный склерозирующий холангит (ПСХ) (описано в G. Rizzo et al., *Curr. Drug Targets Immune Endocr. Metabol. Disord.*, 2005, 5, 289; G. Zollner et al., *Mol. Pharm.*, 2006, 3, 231; S.Y. Cai et al., *Expert Opin. Ther. Targets*, 2006, 10, 409).

Глубокое влияние, которое активация FXR имеет на метаболизм желчных кислот и экскрецию, значимо не только для холестатических синдромов, но даже больше для терапии против образования желчных камней. Холестериновые желчные камни образуются вследствие низкой растворимости холестерина, который активно выкачивается из клетки печени в просвет канальцев. Именно относительное процентное содержание трех главных компонентов, желчных кислот, фосфолипидов и свободного холестерина, определяет образование смешанных мицелл и, следовательно, условное насыщение раствора свободного холестерина в желчи. Полиморфизмы FXR локализируются как локусы количественных признаков как один фактор, вносящий вклад в возникновение желчекаменной болезни (H. Wittenburg, *Gastroenterology*, 2003, 125, 868). Применяя синтетическое модельное соединение GW4064 для FXR, можно показать, что активация FXR приводит к улучшению индекса насыщения желчи холестерином (= CSI) и прямо к отсутствию образования желчных камней у мышей C75L, подверженных образованию желчных камней, тогда как продемонстрировано, что лекарственная терапия мышей с выключенным геном FXR не оказывает действия на образование желчных камней (A. Moschetta et al., *Nature Medicine*, 2004, 10, 1352).

Данные результаты определяют FXR как хорошую мишень для разработки низкомолекулярных агонистов, которые можно применять для предотвращения образования холестериновых желчных камней или предотвращения повторного образования желчных камней после хирургического удаления или ударно-волновой литотрипсии (описано в S.A. Doggrell, *Curr. Opin. Invest. Drugs*, 2006, 7, 344).

Таким образом, согласно одному варианту реализации изобретения соединение согласно формуле (1) и фармацевтические композиции, содержащие указанное соединение, применяют для профилактики и/или лечения обструктивных или хронических воспалительных расстройств, которые возникают вследствие неправильного состава желчи, таких как холелитиаз, также известный как холестериновые желчные камни.

Помимо сильного гепатопротекторного и желчегонного, а также противofiброзного эффектов, которые демонстрирует FXR при стимулируемой низкомолекулярными соединениями активации в печени, FXR, предположительно, играет роль в защите кишечника от неопластической трансформации и от развития полипов и их перехода в аденокарциному в кишке (S. Modica et al., *Cancer Res.*, 2008, 68, 9589 и R.R. Magan et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2009, 328, 469). Подобно ситуации с кишечником, отсутствие FXR приводит к высокому увеличению в образовании гепатоцеллюлярной карциномы (ГЦК), наиболее распространенной формы рака печени (I. Kim et al., *Carcinogenesis*, 2007, 28, 940 и F. Yang et al., *Cancer Res.*, 2007, 67, 863). Тогда как функциональный FXR препятствует образованию аденокарциномы толстой кишки и гепатоцеллюлярной карциномы, активация FXR индуцирует регенерацию печени после гепатэктомии (W. Huang et al., *Science*, 2006, 312, 233).

Объединенные гепатопротекторный эффект, антинеопластический эффект и эффект регенерации печени, связанные с активацией FXR, могут быть терапевтически задействованы для применения агонистов FXR в лечении тяжелых заболеваний печени. Согласно одному варианту реализации соединения согласно изобретению и фармацевтические композиции, содержащие указанные соединения, применяют в лечении заболеваний печени, таких как гепатоцеллюлярный рак (ГЦК), стимулировании возобновления роста печени и облегчения побочных эффектов, связанных с обширной резекцией печени, циррозом печени, независимо от этиологии, и предотвращении или лечении ишемии печени при трансплантации печени или обширном оперативном вмешательстве на печени.

Со времени открытия первого синтетического агониста FXR и его введения грызунам стало очевидным, что FXR является ключевым регулятором триглицеридов сыворотки (P. Maloney et al., *J. Med. Chem.*, 2000, 43, 2971; T. Willson et al., *Med. Res. Rev.*, 2001, 21, 513). В течение прошедших шести лет было опубликовано накапливающееся доказательство того, что активация FXR с помощью синтетических агонистов приводит к значительному снижению уровня триглицеридов сыворотки, главным образом, в форме сниженных ЛПОНП, но также к снижению общего холестерина сыворотки (H.R. Kast et al., *Mol. Endocrinol.*, 2001, 15, 1720; N.L. Urizaretal., *Science*, 2002, 296, 1703; G. Lambert et al., *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, 2563; M. Watanabe et al., *J. Clin. Invest.*, 2004, 113, 1408; A. Figge et al., *J. Biol. Chem.*, 2004, 279, 2790; S. Bilz et al., *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2006, 290, E716).

Однако снижение количества триглицеридов сыворотки не является единственным эффектом. Лечение мышей db/db или ob/ob синтетическим FXR агонистом GW4064 привело к отмеченному и совместно уменьшению триглицеридов сыворотки, общего холестерина, свободных жирных кислот, кетонных тел, таких как 3-ОН бутират. Кроме того, активация FXR связана с внутриклеточным путем сигналинга инсулина в гепатоцитах, что приводит к снижению выхода глюкозы из глюконеогенеза в печени с сопутствующим увеличением гликогена в печени. Лечение FXR положительно влияло как на чувствительность к инсулину, так и на толерантность к глюкозе (K.R. Stayrook et al., *Endocrinology*, 2005, 146, 984; Y. Zhang et al., *PNAS*, 2006, 103, 1006; B. Cariou et al., *J. Biol. Chem.*, 2006, 281, 11039; K. Ma et al., *J. Clin. Invest.*, 2006, 116, 1102; D. Duran-Sandoval et al., *Biochimie*, 2005, 87, 93). Также недавно наблюдали действие на снижение массы тела у мышей, которым в избытке давали питание с высоким содержанием липидов (C. Lihong et al., *American Diabetes Association (ADA) 66th annual scientific sessions*, June 2006, Abstract Number 856-P). Данный эффект потери массы может быть результатом индукции FXR на FGF-19, фактор роста фибробластов, что, как известно, приводит к снижению массы и атлетическому фенотипу (J. Holt et al., *Genes Dev.*, 2003, 17, 1581; E. Tomlinson et al., *Endocrinology*, 2002, 143, 1741). В недавних патентных заявках было продемонстрировано действие агониста FXR на уменьшение массы тела (WO 2004/087076; WO 2003/080803).

При совместном рассмотрении указанные фармакологические эффекты агонистов FXR могут быть задействованы в различных терапевтических путях: компоненты, связывающие FXR, считаются подходящими для лечения диабета II типа благодаря их сенсibilизации инсулина, гликогеногенному и гиполлипидемическому эффектам.

Согласно одному варианту реализации соединения согласно изобретению и фармацевтические композиции, содержащие указанные соединения, применяют для профилактики и/или лечения диабета II типа, который может быть преодолен за счет FXR-опосредованной повышающей регуляции системной инсулиновой чувствительности и внутриклеточного инсулинового сигналинга в печени, увеличенного периферического потребления глюкозы и ее метаболизма, увеличенного запаса гликогена в печени, уменьшенного выхода глюкозы в сыворотку в ходе печеночного глюконеогенеза.

Согласно дополнительному варианту реализации изобретения указанные соединения и фармацевтические композиции применяют для профилактики и/или лечения хронических внутрипеченочных состояний, таких как первичный билиарный цирроз печени (ПБЦ), первичный склерозирующий холангит (ПСХ), прогрессирующий семейный холестаз (ПСХ), вызванный алкоголем цирроз и ассоциированный холестаз, и некоторые формы внепеченочных холестатических состояний, или фиброз печени.

Настоящее изобретение также относится к соединению формулы (1) или фармацевтической композиции, содержащей указанное соединение, для профилактики и/или лечения желудочно-кишечных состояний, характеризующихся уменьшенным поглощением жиров и жирорастворимых витаминов, поступающих с пищей, которые могут быть преодолены за счет повышения уровней желчных кислот и фосфолипидов в кишечнике.

Согласно дополнительному варианту реализации настоящего изобретения указанные соединения и фармацевтические композиции применяют для предотвращения и/или лечения заболевания, выбранного из группы, состоящей из липидных и липопротеиновых расстройств, таких как гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия и атеросклероз, в качестве клинически проявляющегося состояния, которое может быть облегчено за счет благотворного действия FXR по снижению общего холестерина в плазме, снижению триглицеридов сыворотки, увеличению превращения холестерина печени в желчные кислоты и увеличению чистоты и метаболического превращения ЛПОНП и других липопротеинов в печени.

Согласно еще одному дополнительному варианту реализации изобретения указанные соединения и фармацевтические композиции применяют для профилактики и/или лечения заболеваний, где могут быть совместно использованы гиполипидемическое, антихолестатическое и антифибротическое действие лекарственных средств, нацеленных на FXR, которые могут применяться для лечения стеатоза печени и ассоциированных синдромов, таких как неалкогольный стеатогепатит ("НАСГ"), или для лечения холестатических и фибротических эффектов, которые связаны с вызванным алкоголем циррозом, или с передаваемыми вирусами формами гепатита.

В сочетании с гиполипидемическими эффектами также было показано, что потеря функциональности FXR ведет к увеличению атеросклероза у мышей с выключенным белком ApoE (E.A. Hanniman et al., *J. Lipid Res.*, 2005, 46, 2595). Поэтому агонисты FXR могут иметь клиническое применение как антиатеросклеротические и кардиопротекторные лекарственные средства. Отрицательная регуляция эндотелина-1 в гладкомышечных клетках сосудов может также способствовать благоприятному терапевтическому эффекту (F. He et al., *Circ. Res.*, 2006, 98, 192).

Изобретение также относится к соединению согласно формуле (1) или фармацевтической композиции, содержащей указанное соединение, для предотвращения и посттравматического лечения сердечно-сосудистых расстройств, таких как острый инфаркт миокарда, острый инсульт, или тромбоз, который возникает как конечная точка хронического обструктивного атеросклероза.

Помимо контролирования образования кишечных полипов, FXR, вероятно, экспрессируется в раковых тканях груди и клеточных линиях, а не в здоровых тканях груди и, вероятно, взаимодействует с рецептором эстрогена в клетках РЭ, положительных на рак груди (K.E. Swales et al., *Cancer Res.* 2006, 66, 10120 и F. Journe et al., *Breast Cancer Res. Treat.* 2009, 115, 523).

Это должно позволить рассматривать FXR так же как потенциальную мишень для лечения пролиферативных заболеваний, особенно метастазирующих раковых форм, которые выделяют низкомолекулярную чувствительную форму FXR.

Согласно дополнительному варианту реализации изобретения указанные соединения и фармацевтические композиции применяют для профилактики и/или лечения злокачественных гиперпролиферативных расстройств, таких как разные формы рака, в частности конкретные формы рака груди, печени или рака толстой кишки, где взаимодействие с лигандом FXR будет иметь благотворное влияние.

Наконец, FXR, предположительно, также участвует в контроле антибактериальной защиты в кишечнике (T. Inagaki et al., *PNAS*, 2006, 103, 3920), хотя точный механизм не установлен. Из опубликованных данных, тем не менее, можно заключить, что лечение с помощью агонистов FXR может иметь благотворное влияние при терапии воспалительных расстройств кишечника (ВРК), в частности таких форм, при которых поражена верхняя (подвздошная) часть кишечника (например, болезнь Крона подвздошной кишки), поскольку это, по-видимому, место действия контроля FXR на бактериальный рост. При ВРК снижение чувствительности адаптивного иммунного ответа каким-то образом ослабляет в кишечнике иммунную систему. Бактериальное разрастание может затем стать причиной инициирования установления хронического воспалительного ответа. Таким образом, подавление бактериального роста механизмами, которые основаны на FXR, может быть ключевым механизмом для предотвращения острых воспалительных случаев.

Таким образом, настоящее изобретение также относится к соединению согласно формуле (1) или фармацевтической композиции, содержащей указанное соединение, для предотвращения и/или лечения заболевания, относящегося к воспалительным заболеваниям кишечника, такого как болезнь Крона или язвенный колит. Предполагается, что FXR-опосредованное восстановление внешней барьерной функции кишечника и снижение несимбиотической бактериальной нагрузки способствует снижению воздействия бактериальных антигенов на иммунную систему кишечника и может, таким образом, снижать воспали-

тельные реакции.

Кроме того, изобретение относится к соединению или фармацевтической композиции для профилактики и/или лечения ожирения и связанных с ним расстройств, таких как метаболический синдром (сочетание состояний дислипидемии, диабета и аномально высокого индекса массы тела), которые могут быть преодолены за счет FXR-опосредованного снижения триглицеридов в сыворотке, глюкозы в крови и повышения чувствительности к инсулину и FXR-опосредованной потери массы тела.

Согласно дополнительному варианту реализации изобретения соединения или фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению подходят для предотвращения и/или лечения клинических осложнений диабета I типа и II типа. Примеры таких осложнений включают диабетическую нефропатию, диабетическую ретинопатию, диабетические нейропатии или периферический облитерирующий энтерит (ПАОЗ). Другие клинические осложнения сахарного диабета также охвачены настоящим изобретением.

Кроме того, состояния и заболевания, возникающие в результате хронической жировой и фиброзной дегенерации органов вследствие усиленного накопления липидов и, в частности, триглицеридов и последующей активации профибротических путей, также могут быть предотвращены и/или подвергнуты лечению с применением соединений или фармацевтической композиции согласно настоящему изобретению. Такие состояния или заболевания включают неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) и хронические холестатические состояния в печени, гломерулосклероз и диабетическую нефропатию в почках, макулярную дегенерацию и диабетическую ретинопатию глаз, и нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера в мозге или диабетическую нейропатию в периферической нервной системе.

На практике соединения согласно настоящему изобретению могут быть объединены в качестве активного ингредиента в однородную смесь с фармацевтическим носителем согласно традиционным методам приготовления фармацевтических композиций. Носитель может принимать различные формы в зависимости от формы лекарственного средства, предназначенного для введения, например, перорального или парентерального (в том числе внутривенного). При приготовлении композиций для пероральной дозированной формы могут быть применены любые из обычных фармацевтических сред, такие как, например, вода, гликоли, масла, спирты, ароматизаторы, консерванты, красители и т.п. в случае жидких лекарственных средств для перорального введения, таких как, например, суспензии, эликсиры и растворы; или носители, такие как крахмалы, сахара, микрокристаллическая целлюлоза, разбавители, гранулирующие агенты, смазывающие агенты, связующие, разрыхляющие агенты и т.п., и в случае твердых лекарственных средств для перорального введения, таких как, например, порошки, твердые и мягкие капсулы и таблетки, при этом твердые лекарственные средства для перорального введения являются предпочтительными по отношению к жидким лекарственным средствам.

Благодаря легкости введения таблетки и капсулы представляют собой наиболее предпочтительные пероральные единичные дозированные формы, в случае которых, очевидным образом, используют твердые фармацевтические носители. При необходимости на таблетки может быть нанесено покрытие посредством стандартных водных или неводных методов. Такие композиции и лекарственные средства должны содержать по меньшей мере 0,1% активного соединения. Процент активного соединения в этих композициях может, конечно, меняться и может соответственно находиться в пределах от примерно 2 до примерно 60% от массы единицы. Количество активного соединения в таких терапевтически подходящих композициях таково, чтобы обеспечить эффективную дозу. Активные соединения можно также вводить интраназально, например, в виде жидких капель или спрея.

Таблетки, пилюли, капсулы и т.п. могут также содержать связующее, такое как трагакант, камедь, кукурузный крахмал или желатин; наполнители, такие как фосфат дикальция; разрыхляющий агент, такой как кукурузный крахмал, картофельный крахмал, альгиновая кислота; лубрикант, такой как стеарат магния; и подсластитель, такой как сахароза, лактоза или сахарин. Если единичная дозированная форма представляет собой капсулу, она может содержать, в дополнение к веществам указанного выше типа, жидкий носитель, такой как жирное масло.

Различные другие вещества могут присутствовать в качестве покрытия или для изменения физической формы дозированной единицы. Например, таблетки могут быть покрыты шеллаком, сахаром или и шеллаком, и сахаром. Сироп или эликсир может содержать, в дополнение к активному ингредиенту, сахарозу в качестве подсластителя, метил- и пропилпарабены в качестве консервантов, краситель и вкусовую добавку, такую как вишневую или апельсиновую добавку.

Поскольку соединения согласно настоящему изобретению в основном представляют собой карбоновые кислоты или аналогичные анионные изостеры и поскольку хорошо известно, что солевые формы ионных лекарственных соединений могут существенно повлиять на биодоступность лекарственных соединений, соединения согласно настоящему изобретению могут также быть применены в качестве солей в различных концентрациях, обеспечивая перорально доступный состав. Такие фармацевтически приемлемые катионы могут среди прочего представлять собой моно- или двухвалентные ионы, такие как аммоний, ионы щелочных металлов: натрия или калия, или щелочноземельных металлов: магния или кальция, некоторых фармацевтически приемлемых аминов, таких как трис-(гидроксиметил)аминометан, этилендиамин, диэтиламин, пиперазин или других, или некоторых катионных аминокислот, таких как лизин

или аргинин.

Соединения согласно настоящему изобретению могут быть также введены парентерально. Растворы или суспензии этих активных соединений могут быть приготовлены в воде, соответствующим образом смешанной с поверхностно-активным веществом, таким как гидроксипропилцеллюлоза. Дисперсии могут быть также приготовлены в глицерине, жидких полиэтиленгликолях и их смесях в маслах. В обычных условиях хранения и применения полученные лекарственные средства содержат консервант для предотвращения роста микроорганизмов.

Фармацевтические формы, подходящие для применения для инъекций, включают стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для немедленного приготовления стерильных растворов или дисперсий для инъекций. Во всех случаях форма должна быть стерильной и должна быть жидкой в той степени, чтобы ее легко было набрать в шприц. Форма должна быть стабильной в условиях производства и хранения, а также должна быть защищена от заражения микроорганизмами, такими как бактерии и грибы. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль), подходящие смеси и растительные масла.

Для обеспечения млекопитающих, особенно человека, эффективной дозой соединения согласно настоящему изобретению может применяться любой подходящий способ введения; например, могут применяться пероральные, ректальные, местные, парентеральные, глазные, легочные, назальные и т.п. Дозированные формы включают таблетки, пастилки, дисперсии, суспензии, растворы, капсулы, кремы, мази, аэрозоли и т.п. Предпочтительно соединения согласно настоящему изобретению вводят перорально.

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

При лечении или предотвращении FXR-опосредованных состояний, для которых предназначены соединения согласно настоящему изобретению, как правило, достигают удовлетворительных результатов, когда соединения согласно настоящему изобретению вводят в суточной дозе от примерно 0,1 до примерно 100 мг на 1 кг массы тела животного, предпочтительно в виде однократной дневной дозы или разделенных доз на от двух до шести приемов в день или в форме с замедленным высвобождением. Для большинства крупных млекопитающих общая суточная доза составляет от примерно 1,0 до примерно 1000 мг, предпочтительно от примерно 1 до примерно 50 мг. В случае 70 кг взрослого человека общая суточная доза обычно составляет от примерно 7 до примерно 350 мг. Указанный режим дозирования может быть скорректирован таким образом, чтобы обеспечить оптимальный терапевтический ответ.

Соединения согласно настоящему изобретению могут быть получены в соответствии с методиками, представленными на следующих схемах и в примерах, с применением соответствующих веществ и далее проиллюстрированы следующими конкретными примерами. Кроме того, используя методики, описанные в настоящей заявке, в сочетании со знаниями среднего специалиста в данной области могут быть легко получены дополнительные соединения, заявленные в настоящем изобретении. Однако соединения, проиллюстрированные в примерах, не следует рассматривать как единственные соединения, заявленные в изобретении. Примеры дополнительно иллюстрируют подробное описание получения соединений согласно изобретению. Специалисты в данной области могут легко понять, что можно использовать известные изменения условий или процессов следующих препаративных методик для получения указанных соединений. Настоящие соединения, как правило, выделяют в виде их фармацевтически приемлемых солей, таких как описано выше.

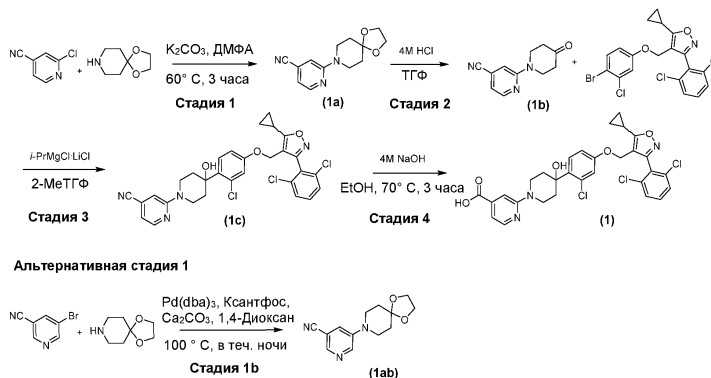
Аминные свободные основания, соответствующие выделенным солям, могут быть получены путем нейтрализации с подходящим основанием, таким как водный гидрокарбонат натрия, карбонат натрия, гидроксид натрия и гидроксид калия, и экстракцией выделенных аминных свободных оснований в органическом растворителе с последующим испарением. Аминное свободное основание, выделенное таким образом, могут быть в дальнейшем превращено в другую фармацевтически приемлемую соль путем растворения в органическом растворителе с последующим добавлением соответствующей кислоты и последующим испарением, осаждением или кристаллизацией. Карбоновые свободные кислоты, соответствующие выделенным солям, могут быть получены путем нейтрализации с подходящей кислотой, такой как водная хлороводородная кислота, гидросульфат натрия, дигидрофосфат натрия, и экстракции выделенной карбоновой свободной кислоты в органическом растворителе с последующим испарением. Карбоновые кислоты, выделенные таким образом, могут быть в дальнейшем превращены в другую фармацевтически приемлемую соль путем растворения в органическом растворителе с последующим добавлением соответствующего основания и последующим испарением, осаждением или кристаллизацией.

Ниже проиллюстрировано получение соединений согласно настоящему изобретению. Если иное не указано на схемах, переменные имеют те же значения, как описано выше. Примеры, представленные ниже, предназначены для иллюстрации конкретных вариантов реализации изобретения. Подходящие исходные вещества, строительные блоки и реагенты, применяемые в синтезе, как описано ниже, коммерчески доступны в Sigma-Aldrich или Acros Organics, например, или могут быть получены путем рутинных

процедур согласно методикам, описанным в литературе, например в "March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure", 5th Edition; John Wiley & Sons or T. Eicher, S. Hauptmann "The Chemistry of Heterocycles; Structures, Reactions, Synthesis and Application", 2nd edition, Wiley-VCH 2003; Fieser et al., "Fieser's Reagents for organic Synthesis" John Wiley & Sons 2000.

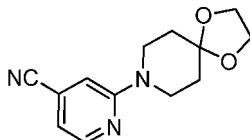
Список сокращений

ДМФА - диметилформамид,
 NCS - N-хлорсукцинимид,
 ДХМ - дихлорметан,
 ТГФ - тетрагидрофуран,
 РЕ - петролейный эфир,
 ДМСО - диметилсульфоксид,
 IBX - о-йодоксибензойная кислота,
 DBU - 1,8-диазабицикло[5,4,0]ундец-7-ен,
 p-TsOH - p-толуолсульфоновая кислота,
 TEA - триэтиламин,
 MsCl - метилсульфонилхлорид,
 TFA - трифторуксусная кислота,
 DIAD - диизопропилазодикарбоксилат,
 DAST - (диметиламино)трифторид серы,
 ТСХ - тонкослойная хроматография,
 MeCN - ацетонитрил,
 m-CPBA - m-хлорпербензойная кислота,
 SEM-Cl - 2-(триметилсилил)этоксиметилхлорид,
 TFAA - трифторуксусный ангидрид,
 ACN - ацетонитрил,
 TMS - триметилсилил,
 TEMPO - 2,2,6,6-тетраметилпиперидиноксил, свободный радикал,
 PCC - пиридиний перхромат,
 HMPA - гексаметилфосфонамид,
 Dba - дибензилидинацетон,
 Xantphos - 4,5-бис-(дифенилфосфино)-9,9-диметилксантен,
 EDCI - 1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодиимид гидрохлорид,
 DMAP - 4-диметиламинопиридин.
 Общий синтез 1.



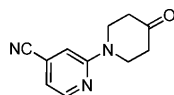
Пример 1с. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотинитрил.

Стадия 1. 2-(1,4-Диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)изоникотинитрил (1a)



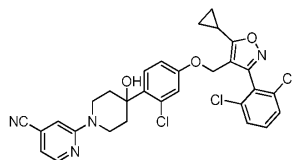
Под воздействием микроволнового излучения 2-хлоризоникотинитрил (300 мг, 2,17 ммоль) растворяли в ДМФА (3 мл), затем обрабатывали 1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]деканом (0,42 мл, 3,25 ммоль) и карбонатом калия (600 мг, 4,33 ммоль). Сосуд герметично закрывали и нагревали в микроволновом реакторе в течение 20 мин при 110°C. После охлаждения до комнатной температуры добавляли воду и дважды экстрагировали смесь EtOAc, органический слой четыре раза промывали солевым раствором, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и затем концентрировали. Путем очистки методом колоночной хроматографии (ISCO 25г 0-40% EtOAc/гексаны) получали продукт (310 мг, выход 58%).

Стадия 2. 2-(4-Оксипиперидин-1-ил)изоникотинитрил (1b)



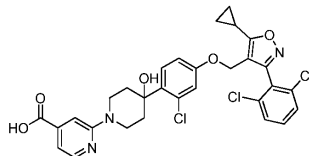
2-(1,4-Диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)изоникотинитрил (310 мг, 1,26 ммоль) растворяли в ТГФ (4 мл), добавляли 4 М HCl (4 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли воду, а затем pH доводили до 8 при помощи 1 N NaOH. Добавляли EtOAc, фазы разделяли. Водную фазу один раз экстрагировали EtOAc, объединенные органические фазы промывали соевым раствором, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали (186 мг, выход 73%).

Стадия 3, пример 1с. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотинитрил (1с)



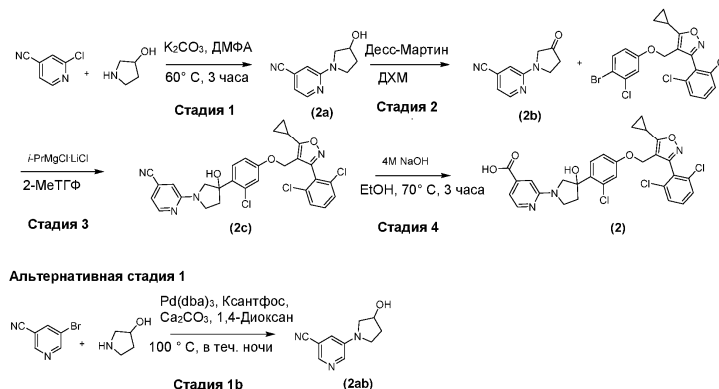
Высушенный в сушильном шкафу реакционный сосуд, содержащий 4-((4-бром-3-хлорфенокси)метил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол (200 мг, 0,42 ммоль), герметично закрывали, вакуумировали и трижды заполняли N₂, затем через шприц добавляли 2-МеТГФ (3 мл). Затем по каплям через шприц добавляли 1,3 М комплекс хлористого изопропилмагния-хлорида лития в ТГФ (0,39 мл) при комнатной температуре и смесь перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре, а затем нагревали до 50°C в течение 1 ч. Дополнительно добавляли 1,2 экв. i-PrMgCl и нагревание продолжали при 50°C в течение 2 ч. Раствор охлаждали до комнатной температуры, затем медленно через шприц добавляли к раствору 2-(4-оксипиперидин-1-ил)изоникотинитрила (85 мг, 0,42 ммоль) в ТГФ (2 мл) и оставляли смесь для перемешивания в течение ночи при комнатной температуре. Смесь гасили H₂O и EtOAc, затем окисляли 1 N HCl. Фазы разделяли, органические фазы промывали соевым раствором, высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали. Путем очистки методом хроматографии (ISCO 25 г GOLD колонка с силикагелем 0-100% EtOAc/гексаны) получали продукт. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 8,27 (d, J=5,0 Гц, 1H), 7,66-7,46 (m, 4H), 7,34 (s, 1H), 6,88 (dd, J=5,0, 1,1 Гц, 1H), 6,80-6,71 (m, 2H), 5,27 (s, 1H), 4,86 (s, 2H), 4,24 (d, J=12,5 Гц, 2H), 3,31 -3,20 (m, 2H), 2,48-2,35 (m, 2H), 1,50 (d, J=13,2 Гц, 2H), 1,26-1,03 (m, 5H). MS (M+H): 595,05.

Пример 1. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотиновая кислота (1)



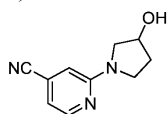
В мерной колбе растворяли 2-(4-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотинитрил (40 мг, 0,07 ммоль) в этаноле (1,5 мл), обрабатывали 4 М гидроксидом натрия в воде (0,67 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, затем колбу нагревали до 80°C в течение 3 ч. Смесь охлаждали и удаляли EtOH под вакуумом. Оставшийся раствор охлаждали на ледяной бане, обрабатывали водой ~2 мл и доводили pH до ~4 при помощи 1 М HCl. Смесь экстрагировали EtOAc, промывали соевым раствором, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением продукта (29 мг, выход 70%). ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 13,39 (s, 1H), 8,23 (d, J=5,1 Гц, 1H), 7,67-7,45 (m, 4H), 7,23 (d, J=1,3 Гц, 1H), 6,97 (dd, J=5,1, 1,1 Гц, 1H), 6,80-6,70 (m, 2H), 5,24 (s, 1H), 4,86 (s, 2H), 4,20 (d, J=12,0 Гц, 2H), 3,31-3,20 (m, 2H), 2,47-2,35 (m, 2H), 1,51 (d, J=13,1 Гц, 2H), 1,28-1,01 (m, 5H). MS (M+H): 614,05.

Общий синтез 2.



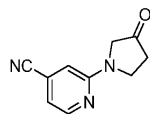
Пример 2. 2-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидрокси-пирролидин-1-ил)изоникотиновая кислота (2).

Стадия 1. 2-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидрокси-пирролидин-1-ил)изоникотинитрил (2a)



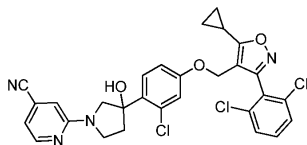
В колбу объемом 100 мл, оборудованную магнитной мешалкой и холодильником, помещали 2-хлор-изоникотинитрил (1500 мг, 10,8 ммоль), ДМФА (15 мл), 3-пирролидинол (1,3 мл, 16,2 ммоль) и карбонат калия (2300 мг, 21,7 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 60°C в течение 3 ч, затем частично концентрировали для удаления ДМФА, разбавляли EtOAc и водой, разделяли, экстрагировали один раз EtOAc, четыре раза промывали соевым раствором, высушивали над сульфатом натрия, фильтровали, затем концентрировали при пониженном давлении (1770 мг, выход 86%).

Стадия 2. 2-(3-(2-Оксопирролидин-1-ил)изоникотинитрил (2b)



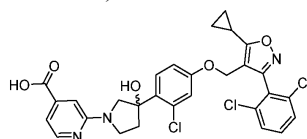
В колбе, оборудованной магнитной мешалкой, раствор 2-(3-гидрокси-пирролидин-1-ил)изоникотинитрила (1770 мг, 9,35 ммоль) в дихлорметане (90 мл) обрабатывали периодинамом Десса-Мартина (4760 мг, 11,23 ммоль) в четырех частях и смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию гасили раствором тиосульфата натрия, разбавляли EtOAc и перемешивали в течение ~15 мин, затем обрабатывали водой с получением чистого раствора. Слои разделяли и органические слои промывали 50% водным раствором бикарбоната натрия, затем соевым раствором, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Путем очистки методом колоночной хроматографии (ISCO 40 г колонка с силикагелем, 0-100% EtOAc/гексаны) получали продукт.

Стадия 3. 2-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидрокси-пирролидин-1-ил)изоникотинитрил (2c)



В высушенном реакционном сосуде, оборудованном магнитной мешалкой, в атмосфере азота, 4-((4-бром-3-хлорфенокси)метил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол (430 мг, 0,74 ммоль) растворяли в 2-МеТГФ (1,4 мл). К полученному раствору по каплям добавляли 1,3М комплекс i-PrMgCl·LiCl в ТГФ (1,5 мл, 1,9 ммоль) и смесь перемешивали в течение 2,5 ч. Смесь охлаждали на ледяной/водяной бане и добавляли 2-(3-оксопирролидин-1-ил)изоникотинитрил в виде суспензии в 2-МеТГФ (0,8 мл). Смесь перемешивали в течение 2 ч, затем гасили водой, разбавляли EtOAc, окисляли 1 N HCl, затем перемешивали в течение 15 мин. Слои разделяли, органический слой промывали водой, а затем соевым раствором, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Путем очистки с использованием ISCO 40 г GOLD колонки с силикагелем 0-60% EtOAc/гексаны получали продукт (490 мг, 60%).

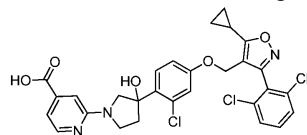
Стадия 4, пример 2. Рацемическая 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)изоникотиновая кислота (2)



В колбе объемом 100 мл раствор 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)изоникотинитрила (430 мг, 0,739 ммоль) в этаноле (14 мл) обрабатывали 4 М гидроксидом натрия в воде (7,4 мл) и перемешивали при 70°C в течение 2,5 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры и удаляли EtOH под вакуумом. Оставшийся раствор охлаждали на ледяной бане, обрабатывали ~2 мл воды и доводили pH до ~4 при помощи 1 М HCl. Смесь экстрагировали EtOAc, промывали солевым раствором, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением продукта (421 мг, выход 95%). ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 13,32 (s, 1H), 8,19 (dd, J=5,1, 0,8 Гц, 1H), 7,66-7,47 (m, 4H), 6,93 (dd, J=5,2, 1,3 Гц, 1H), 6,89 (d, J=2,6 Гц, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,77 (dd, J=8,8, 2,6 Гц, 1H), 5,43 (s, 1H), 4,90 (s, 2H), 3,89-3,75 (m, 2H), 3,65 (d, J=8,9 Гц, 1H), 3,58-3,45 (m, 1H), 2,61 (t, J=10,5 Гц, 1H), 2,46-2,38 (m, 1H), 2,30-2,15 (m, 1H), 1,25-1,05 (m, 4H). МС (M+H): 600,05.

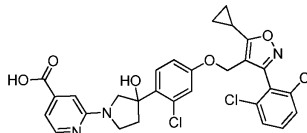
Полученное вещество подвергали хиральному разделению (СФХ AD-H, 40% EtOH) с получением отдельных изомеров: примеры 2a и 2b.

Пример 2a. 2-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)изоникотиновая кислота, энантиомер 1



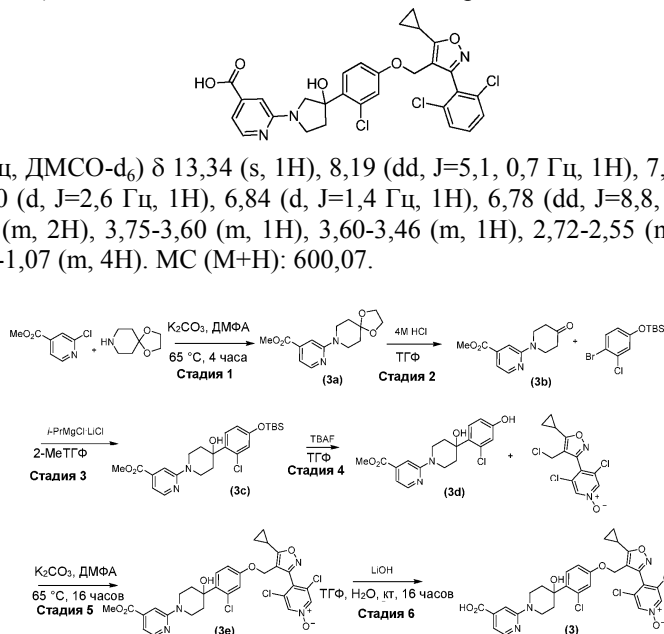
¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 13,30 (s, 1H), 8,20 (dd, J=5,2, 0,7 Гц, 1H), 7,67-7,46 (m, 5H), 6,95 (dd, J=5,1, 1,3 Гц, 1H), 6,90 (d, J=2,6 Гц, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,78 (dd, J=8,8, 2,6 Гц, 1H), 5,44 (s, 1H), 4,92 (s, 2H), 3,90-3,74 (m, 2H), 3,71-3,65 (m, 1H), 3,62-3,47 (m, 1H), 2,64 (q, J=10,2, 9,5 Гц, 1H), 2,50-2,38 (m, 1H), 2,24 (dd, J=12,6, 6,0 Гц, 1H), 1,26-1,03 (m, 4H). МС (M+H): 600,12.

Пример 2b. 2-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)изоникотиновая кислота, энантиомер 2



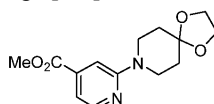
¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 13,34 (s, 1H), 8,19 (dd, J=5,1, 0,7 Гц, 1H), 7,65-7,46 (m, 4H), 6,94 (dd, J=5,1, 1,3 Гц, 1H), 6,90 (d, J=2,6 Гц, 1H), 6,84 (d, J=1,4 Гц, 1H), 6,78 (dd, J=8,8, 2,7 Гц, 1H), 5,44 (s, 1H), 4,91 (s, 2H), 3,89-3,76 (m, 2H), 3,75-3,60 (m, 1H), 3,60-3,46 (m, 1H), 2,72-2,55 (m, 1H), 2,50-2,38 (m, 1H), 2,30-2,18 (m, 1H), 1,26-1,07 (m, 4H). МС (M+H): 600,07.

Общий синтез 3.



Пример 3. 4-(4-((4-(1-(4-Карбокси-2-пирролин-2-ил)-4-гидроксиперидин-4-ил)-3-хлорфенокси)метил)-5-циклопропилизоксазол-3-ил)-3,5-дихлорпиридин 1-оксид (3).

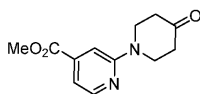
Стадия 1. Метил 2-(1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)изоникотинат (3a)



К раствору метил 2-хлорпиридин-4-карбоксилата (2,6 г, 15,2 ммоль) в ДМФА (12,7 мл) добавляли 1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан (2,3 мл, 18,3 ммоль), K₂CO₃ (4,2 г, 30,5 ммоль). Смесь перемешивали при

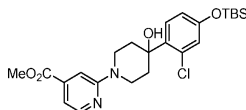
65°C в течение 4 ч в атмосфере N₂. Полученный раствор охлаждали до комнатной температуры, добавляли H₂O, водный слой экстрагировали EtOAc, объединенные органические слои высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали. Очистка методом хроматографии (ISCO (24 г, колонка с силикагелем) с использованием градиента 100% гексаны - 1:1 гексаны/EtOAc) позволяла получить соединение 3а (220 мг, выход 5%).

Стадия 2. Метил 2-(4-оксопиперидин-1-ил)изоникотинат (3b)



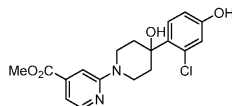
Следуя процедуре, описанной в примере 1/стадия 2, из метил 2-(1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)изоникотината (3а) получали соединение 3b с количественным выходом.

Стадия 3. Метил 2-(4-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-4-гидрокси-1-ил)изоникотинат (3с)



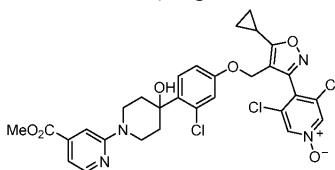
В высушенный в сушильном шкафу сосуд, промытый N₂, помещали (4-бром-3-хлорфенокси)(трет-бутил)диметилсалин (255 мг, 0,79 ммоль) в 2-МеТГФ (1 мл). Затем по каплям через шприц добавляли 1,3 М комплекс изопропилмагний хлорид/литий хлорид в ТГФ (0,92 мл, 1,2 ммоль) при комнатной температуре и смесь перемешивали в течение 3 ч. Медленно добавляли раствор метил 2-(4-оксопиперидин-1-ил)изоникотината (3b) в 2-МеТГФ (1 мл) и смесь оставляли для перемешивания в течение 30 мин при комнатной температуре. Реакцию гасили H₂O, экстрагировали EtOAc, органические слои промывали соевым раствором, высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали. Очистка методом хроматографии (ISCO (12 г колонка с силикагелем) с использованием градиента 100% гексаны - 7:3 гексан/EtOAc) позволяла получить соединение 3с (124 мг, выход 30%).

Стадия 4. Метил 2-(4-(2-хлор-4-гидроксифенил)-4-гидрокси-1-ил)изоникотинат (3d)



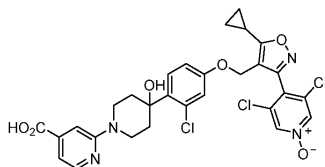
К раствору метил 2-(4-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-4-гидрокси-1-ил)изоникотината (3с) (124 мг, 0,26 ммоль) в 2-Ме ТГФ (2 мл) добавляли 1 М раствор TBAF в ТГФ (0,3 мл, 0,29 ммоль) при комнатной температуре и смесь перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре. Смесь гасили водой и экстрагировали EtOAc. Органическую фазу промывали соевым раствором (20 мл), высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали с получением титльного соединения (94 мг), которое непосредственно применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Стадия 5. 3,5-Дихлор-4-(4-((3-хлор-4-(4-гидрокси-1-(4-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)пиперидин-4-ил)фенокси)метил)-5-циклопропилизоксазол-3-ил)пиридин 1-оксид (3е)



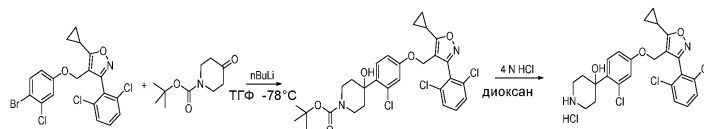
3,5-Дихлор-4-(4-(хлорметил)-5-циклопропилизоксазол-3-ил)пиридин 1-оксид (100 мг, 0,31 ммоль) (полученный как описано в WO2011/020615), метил 2-(4-(2-хлор-4-гидроксифенил)-4-гидрокси-1-ил)изоникотинад (3d) (125 мг, 0,34 ммоль) и K₂CO₃ (87 мг, 0,63 ммоль) объединяли в безводном ДМФА (1,6 мл) при комнатной температуре. Смесь нагревали до 65°C в атмосфере азота и перемешивали в течение ночи. Полученный раствор охлаждали до комнатной температуры, гасили H₂O и экстрагировали EtOAc. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Очистка методом хроматографии (ISCO (4 г колонка с силикагелем) с использованием градиента 100% гексаны - 100% EtOAc) позволяла получить соединение 3е (202 мг, выход 55%).

Стадия 6, пример 3. 4-(4-((1-(4-Карбокси-1-ил)-4-гидрокси-1-ил)-4-гидрокси-1-ил)-4-гидрокси-1-ил)-3-хлорфенил)метил)-5-циклопропилизоксазол-3-ил)-3,5-дихлорпиридин 1-оксид (3)



К раствору 3,5-дихлор-4-(4-((3-хлор-4-(4-гидрокси-1-(4-(метоксикарбонил)пиридин-2-ил)пиперидин-4-ил)фенокси)метил)-5-циклопропилизоксазол-3-ил)пиридин 1-оксид (3е) (111 мг, 0,18 ммоль) в ТГФ (1,4 мл) и H₂O (0,2 мл) добавляли LiOH·H₂O (15 мг, 0,36 ммоль) при комнатной температуре. После перемешивания в течение 16 ч, добавляли H₂O и дихлорметан. Раствор 1 N водн. HCl добавляли для подкисления смеси до pH 3~4, а затем экстрагировали дихлорметаном. Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Твердые частицы измельчали с дихлорметаном и высушивали с получением соединения 3 (114 мг, выход 57%). ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 13,34 (s, 1H), 8,72 (s, 2H), 8,24 (d, J=5,1 Гц, 1H), 7,66 (d, J=8,7 Гц, 1H), 7,24 (s, 1H), 6,98 (dd, J=5,1, 1,1 Гц, 1H), 6,90-6,77 (m, 2H), 5,24 (s, 1H), 4,95 (s, 2H), 4,22 (br d, J=12,3 Гц, 2H), 3,45-3,26 (m, 2H), 2,49-2,35 (m, 3H), 1,55 (brd, J=13,1 Гц, 2H), 1,26-1,03 (m, 4H). МС (ЭРИ+)⁺ m/z 633,0 (M+H).

Общий синтез 4



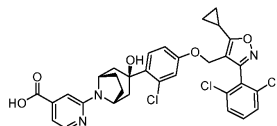
Стадия 1. трет-Бутил 4-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидрокси-1-карбоксилат.

В круглодонную колбу, оборудованную магнитной мешалкой и тройником для азота, добавляли 4-((4-бром-3-хлорфенокси)метил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол (0,5 г, 1,06 ммоль) и ТГФ (19 мл). Смесь охлаждали до -78°C на бане ацетон/жидкий N₂. По каплям добавляли n-BuLi (1,6 М в гексанах, 0,86 мл, 1,37 ммоль) и полученную смесь перемешивали при данной температуре в течение 30 мин. По каплям добавляли трет-бутил 4-оксопиперидин-1-карбоксилат (210 мг, 1,06 ммоль) в ТГФ (5,3 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин. Реакцию гасили водой (10 мл) и этилацетатом (30 мл) и нагревали до комнатной температуры. Добавляли дополнительный этилацетат (170 мл) и смесь промывали водой (20 мл×2), солевым раствором (20 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Остаток пропускали через колонку с силикагелем с получением искомого продукта (478 мг).

Стадия 2. 4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)пиперидин-4-ол гидрохлорид.

В круглодонную колбу, оборудованную магнитной мешалкой, добавляли трет-бутил 4-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидрокси-1-карбоксилат (558 мг, 0,94 ммоль) и дихлорметан (56 мл). После добавления HCl в диоксане (4 N, 9,4 мл, 38 ммоль) смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Летучие примеси удаляли под вакуумом с получением продукта (406 мг).

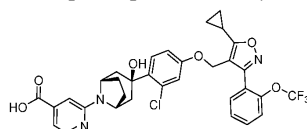
Пример 4. Рацемическая 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидрокси-8-азабицикло[3,2,1]октан-8-ил)изоникотиновая кислота



Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной для примера 2, используя в качестве исходного вещества нортропин (2000 мг, 15,7 ммоль).

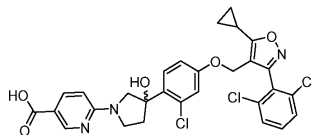
¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 13,31 (s, 1H), 8,22 (dd, J=5,1, 0,7 Гц, 1H), 7,67-7,44 (m, 5H), 7,10 (t, J=1,1 Гц, 1H), 6,91 (dd, J=5,1, 1,3 Гц, 1H), 6,73 (dd, J=8,9, 2,6 Гц, 1H), 6,57 (d, J=2,6 Гц, 1H), 5,18 (s, 1H), 4,80 (s, 2H), 4,58 (s, 2H), 2,66 (dd, J=14,2, 4,0 Гц, 2H), 2,46-2,31 (m, 3H), 1,94 (d, J=5,4 Гц, 2H), 1,45 (d, J=14,0 Гц, 2H), 1,20-0,98 (m, 4H). МС (M+H): 640,00.

Пример 5. Рацемическая 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2-(трифторметокси)фенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидрокси-8-азабицикло[3,2,1]октан-8-ил)изоникотиновая кислота



Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной для примера 4, с применением подходящих исходных веществ. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 13,31 (s, 1H), 8,22 (dd, J=5,1, 0,7 Гц, 1H), 7,70-7,41 (m, 5H), 7,10 (t, J=1,1 Гц, 1H), 6,91 (dd, J=5,1, 1,3 Гц, 1H), 6,78 (dd, J=8,9, 2,6 Гц, 1H), 6,64 (d, J=2,6 Гц, 1H), 5,19 (s, 1H), 4,84 (s, 2H), 4,59 (s, 2H), 2,67 (dd, J=14,1, 4,0 Гц, 2H), 2,47-2,23 (m, 3H), 1,98-1,91 (m, 2H), 1,47 (d, J=14,1 Гц, 2H), 1,18-0,99 (m, 4H). (M+H): 656,10.

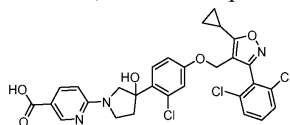
Пример 6. Рацемическая 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота



Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной для примера 2, используя в качестве исходного вещества 2-бром-5-цианопиридин (1000 мг, 5,46 ммоль).

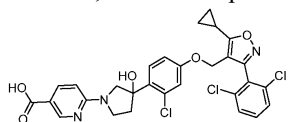
^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 12,38 (s, 1H), 8,65-8,58 (m, 1H), 7,90 (dd, $J=8,9$, 2,3 Гц, 1H), 7,67-7,46 (m, 4H), 6,91 (d, $J=2,6$ Гц, 1H), 6,79 (dd, $J=8,8$, 2,7 Гц, 1H), 6,50 (d, $J=8,9$ Гц, 1H), 5,50 (s, 1H), 4,92 (s, 2H), 3,83 (d, $J=11,3$ Гц, 1H), 3,75 (s, 1H), 3,61-3,54 (m, 1H), 2,64 (q, $J=10,7$, 9,9 Гц, 1H), 2,50-2,38 (m, 1H), 2,24 (d, $J=9,7$ Гц, 1H), 1,27-1,06 (m, 4H). (M+H): 600,20. Затем указанное вещество подвергали хиральному разделению (Chiralpak AD-H; гептан:IPA) с получением отдельных изомеров: пример 6a и пример 6b.

Пример 6a. 6-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота, энантиомер 1



^1H ЯМР (300МГц, DMSO-d_6) δ 12,41 (s, 1H), 8,61 (d, 1H), 7,90 (dd, $J=8,9$, 2,3 Гц, 1H), 7,75-7,42 (m, 4H), 6,90 (d, $J=2,6$ Гц, 1H), 6,79 (dd, $J=8,8$, 2,6 Гц, 1H), 6,49 (d, $J=8,9$ Гц, 1H), 5,50 (s, 1H), 4,92 (s, 2H), 3,83 (d, $J=11,3$ Гц, 1H), 3,73 (s, 1H), 3,62-3,52 (m, 1H), 2,73-2,55 (m, 1H), 2,50-2,38 (m, 1H), 2,31-2,18 (m, 1H), 1,25-1,06 (m, 4H). (M+H): 600,17.

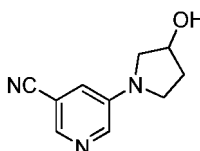
Пример 6b. 6-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота, энантиомер 2



^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 12,38 (s, 1H), 8,61 (d, $J=2,3$ Гц, 1H), 7,90 (dd, $J=8,9$, 2,3 Гц, 1H), 7,67-7,48 (m, 4H), 6,91 (d, $J=2,6$ Гц, 1H), 6,79 (dd, $J=8,8$, 2,6 Гц, 1H), 6,49 (d, $J=8,9$ Гц, 1H), 5,50 (s, 1H), 4,92 (s, 2H), 3,88-3,69 (m, 1H), 3,57 (d, $J=9,2$ Гц, 1H), 2,64 (q, $J=10,3$, 9,8 Гц, 1H), 2,50-2,38 (m, 1H), 2,26 (s, 1H), 1,25-1,08 (m, 4H). (M+H): 600,18.

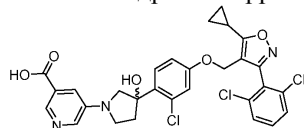
Пример 7. Рацемическая 5-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота.

Стадия 1b. 5-(3-Гидроксипирролдин-1-ил)никотинитрил (2ab)



В высушенную трехгорлую колбу с холодильником помещали 5-бром-3-цианопиридин (560 мг, 3,06 ммоль), карбонат цезия (1994,03 мг, 6,12 ммоль), $\text{Pd}(\text{dba})_3$ (123,82 мг, 0,15 ммоль) и ксантфос (141,65 мг, 0,24 ммоль), затем колбу вакуумировали и трижды заполняли N_2 . Через шприц добавляли раствор 3-пирролидинола (0,32 мл, 3,98 ммоль) в 1,4-диоксане (6 мл) и смесь нагревали при 100°C (масляная баня) в течение ночи. Смесь охлаждали, обрабатывали водой и EtOAc, фильтровали через подушку из целлита и разделяли. Водный слой промывали солевым раствором, органические слои высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Очистка методом хроматографии (ISCO 40 г силикагель 0-100% EtOAc/гексаны) позволяла получить искомым продукт (310 мг, 54%).

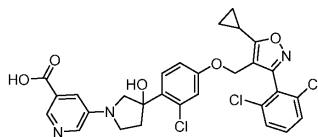
Стадия 2. 5-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота (7)



Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной для примера 2, с использованием альтернативной стадии 1b с получением вещества 2ab. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 13,19 (s, 1H), 8,33 (d, $J=1,7$ Гц, 1H), 8,12 (d, $J=2,9$ Гц, 1H), 7,67-7,46 (m, 4H), 7,27 (dd, $J=2,9$, 1,7 Гц, 1H), 6,91 (d, $J=2,6$ Гц, 1H), 6,79 (dd, $J=8,8$, 2,7 Гц, 1H), 5,50 (s, 1H), 4,92 (s, 2H), 3,84 (d, $J=10,5$ Гц, 1H), 3,66-3,41 (m, 3H),

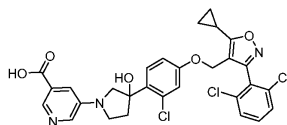
2,71-2,53 (m, 1H), 2,51-2,38 (m, 1H), 2,31-2,19 (m, 1H), 1,26-1,06 (m, 4H). (M+H): 600,21. Затем указанное вещество подвергали хиральному разделению (Chiralpak AD-H; гептан:IPA) с получением отдельных изомеров: пример 7а и пример 7б.

Пример 7а. 5-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота, энантиомер 1



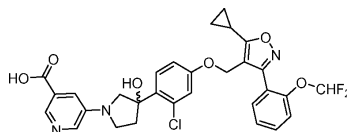
¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 13,14 (s, 1H), 8,31 (d, J=1,5 Гц, 1H), 8,10 (d, J=2,8 Гц, 1H), 7,70-7,45 (m, 4H), 7,24 (s, 1H), 6,88 (d, J=2,5 Гц, 1H), 6,76 (dd, J=8,6, 2,7 Гц, 1H), 5,47 (s, 1H), 4,89 (s, 2H), 3,81 (d, J=10,5 Гц, 1H), 3,63-3,38 (m, 3H), 2,69-2,55 (m, 1H), 2,45-2,37 (m, 1H), 2,29-2,16 (m, 1H), 1,43-0,96 (m, 4H). (M+H): 600,22.

Пример 7б. 5-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота, энантиомер 2



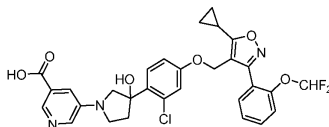
¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 13,14 (s, 1H), 8,31 (d, J=1,5 Гц, 1H), 8,10 (d, J=2,8 Гц, 1H), 7,64-7,45 (m, 4H), 7,28-7,20 (m, 1H), 6,88 (d, J=2,6 Гц, 1H), 6,76 (dd, J=8,8, 2,6 Гц, 1H), 5,47 (s, 1H), 4,89 (s, 2H), 3,81 (d, J=10,5 Гц, 1H), 3,63-3,38 (m, 3H), 2,68-2,55 (m, 1H), 2,50-2,35 (m, 1H), 2,29-2,16 (m, 1H), 1,23-0,96 (m, 4H). (M+H): 600,22.

Пример 8. Рацемическая 5-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2-(дифторметокси)фенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота



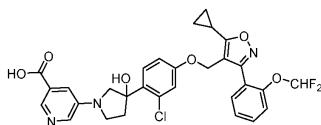
Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной для примера 12, с применением подходящих исходных веществ. ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 13,14 (s, 1H), 8,32 (d, J=1,7 Гц, 1H), 8,11 (d, J=2,9 Гц, 1H), 7,64-7,22 (m, 6H), 7,20 (t, J=76,5, 73,5 Гц, 1H), 6,92 (d, J=2,6 Гц, 1H), 6,81 (dd, J=8,8, 2,6 Гц, 1H), 5,49 (s, 1H), 4,95 (s, 2H), 3,83 (d, J=10,5 Гц, 1H), 3,69-3,40 (m, 3H), 2,78-2,53 (m, 1H), 2,45-2,31 (m, 1H), 2,31-2,16 (m, 1H), 1,26-0,95 (m, 4H). (M+H): 598,31. Затем указанное вещество подвергали хиральному разделению (СФХ АД-Н, 30% MeOH/аммиак) с получением отдельных изомеров: пример 8а и пример 8б.

Пример 8а. 5-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2-(дифторметокси)фенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота, энантиомер 1



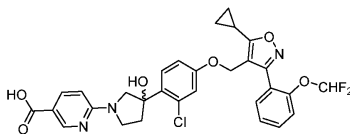
¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,30 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,69-7,51 (m, 2H), 7,52-7,41 (m, 1H), 7,40-7,22 (m, 3H), 7,20 (t, J=73,5 Гц, 1H), 6,92 (d, J=2,6 Гц, 1H), 6,80 (dd, J=8,8, 2,6 Гц, 1H), 5,48 (s, 1H), 4,95 (s, 2H), 3,82 (d, J=10,4 Гц, 1H), 3,64-3,42 (m, 3H), 2,70-2,56 (m, 1H), 2,46-2,31 (m, 1H), 2,28-2,17 (m, 1H), 1,41-0,93 (m, 4H). (M+H): 598,33.

Пример 8б. 5-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2-(дифторметокси)фенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота, энантиомер 2



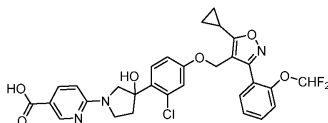
¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,31 (s, 1H), 8,07 (s, 1H), 7,63-7,39 (m, 3H), 7,39-7,28 (m, 2H), 7,28-7,22 (m, 1H), 7,20 (t, J=73,2 Гц, 1H), 6,92 (d, J=2,6 Гц, 1H), 6,80 (dd, J=8,8, 2,7 Гц, 1H), 5,49 (s, 1H), 4,95 (s, 2H), 3,82 (d, J=10,4 Гц, 1H), 3,64-3,42 (m, 3H), 2,70-2,56 (m, 1H), 2,46-2,31 (m, 1H), 2,31-2,07 (m, 1H), 1,24-1,00 (m, 4H). (M+H): 598,33.

Пример 9. Рацемическая 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2-(дифторметокси)фенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота



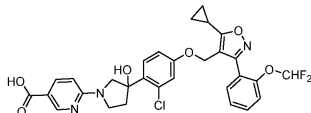
Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной для примера 2, с применением подходящих исходных веществ. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 12,35 (s, 1H), 8,60 (dd, $J=2,4$, 0,7 Гц, 1H), 7,89 (dd, $J=8,9$, 2,3 Гц, 1H), 7,63-7,41 (m, 3H), 7,39-7,27 (m, 2H), 7,20 (t, $J=73,2$ Гц, 0H), 6,92 (d, $J=2,6$ Гц, 1H), 6,80 (dd, $J=8,8$, 2,6 Гц, 1H), 6,48 (d, $J=9,0$ Гц, 1H), 5,49 (s, 1H), 4,94 (s, 2H), 3,82 (d, $J=11,4$ Гц, 1H), 3,79-3,36 (m, 2H), 2,68-2,58 (m, 1H), 2,46-2,30 (m, 1H), 2,24 (t, $J=1,8$ Гц, 1H), 2,32-2,15 (m, 1H), 1,24-0,97 (m, 4H). (M+H): 598,33. Затем указанное вещество подвергли хиральному разделению (Chiralpak AD-H; гептан:IPA) с получением отдельных изомеров: пример 9а и пример 9б.

Пример 9а. 6-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2-(дифторметокси)фенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота, энантиомер 1



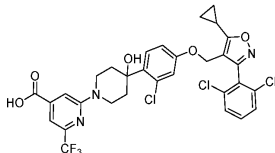
^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 12,32 (s, 1H, w), 8,59 (d, 1H), 7,88 (dd, $J=8,9$, 2,3 Гц, 1H), 7,63-7,41 (m, 3H), 7,39-7,27 (m, 2H), 7,20 (t, $J=73,5$ Гц, 1H), 6,92 (d, $J=2,7$ Гц, 1H), 6,80 (dd, $J=8,8$, 2,7 Гц, 1H), 6,47 (d, $J=8,9$ Гц, 1H), 5,49 (s, 1H), 4,94 (s, 2H), 3,82 (d, $J=11,1$ Гц, 1H), 3,75-3,68 (m, 1H), 3,60-3,51 (m, 1H), 2,68-2,51 (m, 1H), 2,49-2,30 (m, 1H), 2,31-2,16 (m, 1H), 1,24-1,00 (m, 4H). (M+H): 598,37.

Пример 9б. 6-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2-(дифторметокси)фенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота, энантиомер 2



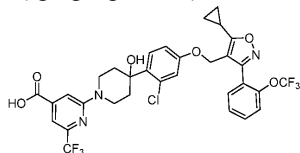
^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 12,33 (s, 1H, w), 8,59 (d, $J=2,3$ Гц, 1H), 7,88 (dd, $J=8,9$, 2,4 Гц, 1H), 7,63-7,41 (m, 3H), 7,39-7,27 (m, 2H), 7,20 (t, $J=73,5$ Гц, 1H), 6,92 (d, $J=2,6$ Гц, 1H), 6,80 (dd, $J=8,8$, 2,7 Гц, 1H), 6,47 (d, $J=8,9$ Гц, 1H), 5,49 (s, 1H), 4,94 (s, 2H), 3,82 (d, $J=11,0$ Гц, 1H), 3,74-3,68 (m, 1H), 3,61-3,51 (m, 1H), 2,73-2,55 (m, 1H), 2,46-2,30 (m, 1H), 2,32-2,13 (m, 1H), 1,24-1,00 (m, 4H). (M+H): 597,96.

Пример 10. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксиперидин-1-ил)-6-(трифторметил)изоникотиновая кислота



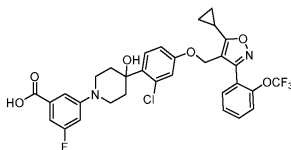
Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной в примере 1 с применением 2-хлор-6-(трифторметил)изоникотинитрила (120 мг, 0,58 ммоль) в качестве исходного вещества. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 13,81 (s, 1H, w), 7,67-7,45 (m, 5H), 7,25 (s, 1H), 6,81-6,72 (m, 2H), 5,29 (s, 1H), 4,86 (s, 2H), 4,26 (d, $J=13,0$ Гц, 2H), 3,54-3,32 (m, 2H), 2,54-2,34 (m, 2H), 1,57 (d, $J=13,2$ Гц, 2H), 1,25-1,03 (m, 5H). MS (M+H): 682,03.

Пример 11. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2-(трифторметокси)фенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксиперидин-1-ил)-6-(трифторметил)изоникотиновая кислота



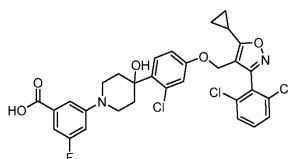
Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной в примере 1 с применением 2-хлор-6-(трифторметил)изоникотинитрила в качестве исходного вещества. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 7,70-7,43 (m, 6H), 7,26 (d, $J=0,7$ Гц, 1H), 6,87-6,75 (m, 2H), 5,28 (s, 1H), 4,90 (s, 2H), 4,23 (d, $J=13,0$ Гц, 2H), 3,47-3,30 (m, 2H), 2,45-2,30 (m, 2H), 1,56 (d, $J=13,2$ Гц, 2H), 1,25-1,01 (m, 5H). MS (M+H): 698,09.

Пример 12. 3-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2-(трифторметокси)фенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)-5-фторбензойная кислота



Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной для примера 1, с применением 3,5-дифторбензонитрила в качестве исходного вещества. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 13,07 (s, 1H), 7,70-7,44 (m, 5H), 7,30 (dd, $J=2,4$, 1,3 Гц, 1H), 7,03 (dt, $J=12,7$, 2,4 Гц, 1H), 6,93 (ddd, $J=8,8$, 2,3, 1,1 Гц, 1H), 6,88-6,76 (m, 2H), 5,20 (s, 1H), 4,90 (s, 2H), 3,68 (d, $J=12,6$ Гц, 2H), 3,28-3,15 (m, 2H), 2,59-2,48 (m, 1H), 2,38 (tt, $J=8,1$, 5,2 Гц, 1H), 1,56 (d, $J=13,1$ Гц, 2H), 1,20-1,01 (m, 4H). МС (М+Н): 647,16.

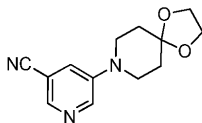
Пример 13. 3-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)-5-фторбензойная кислота



Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной в примере 1 с применением 3,5-дифторбензонитрила в качестве исходного вещества. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 13,07 (s, 1H), 7,66-7,44 (m, 5H), 7,30 (dd, $J=2,4$, 1,3 Гц, 1H), 7,02 (dt, $J=12,6$, 2,4 Гц, 1H), 6,93 (ddd, $J=8,9$, 2,3, 1,2 Гц, 1H), 6,81-6,70 (m, 1H), 5,19 (s, 1H), 4,87 (s, 2H), 3,67 (d, $J=12,0$ Гц, 2H), 3,22 (t, $J=11,9$ Гц, 2H), 2,50 (d, $J=6,1$ Гц, 1H), 2,46-2,34 (m, 2H), 1,55 (d, $J=13,1$ Гц, 2H), 1,27-1,03 (m, 5H). МС (М+Н): 631,06.

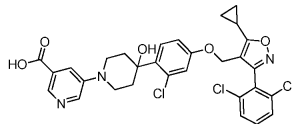
Пример 14. 5-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)никотиновая кислота.

Стадия 1ab. 5-(1,4-Диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)никотинитрил (1ab)



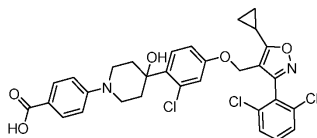
В высушенном сосуде с магнитной мешалкой и крышкой с уплотнителем помещали 5-бром-3-цианопиридин (500 мг, 2,73 ммоль), карбонат цезия (1780,38 мг, 5,46 ммоль), $\text{Pd}(\text{dba})_3$ (110,56 мг, 0,14 ммоль) и ксантофос (126,47 мг, 0,22 ммоль), указанный сосуд герметично закрывали и вакуумировали и трижды заполняли N_2 . С помощью шприца добавляли раствор 1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декана (0,46 мл, 3,55 ммоль) в 1,4-диоксане (5 мл) и смесь нагревали при 110°C (на масляной бане) в течение ночи. Смесь охлаждали и обрабатывали водой и EtOAc , фильтровали через целит и разделяли. Органическую фазу промывали соевым раствором, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Очистка методом хроматографии (ISCO 40 г, силикагель, 0-100% EtOAc /гексаны) позволяла получить продукт (605 мг, 92%).

Стадия 2. 5-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)никотиновая кислота



Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной для примера 1, с применением альтернативной стадии 1ab с получением соединения 1ab. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 12,41 (s, 1H), 8,62 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 7,90 (dd, $J=9,0$, 2,4 Гц, 1H), 7,68-7,46 (m, 4H), 6,89 (d, $J=9,1$ Гц, 1H), 6,81-6,72 (m, 2H), 5,29 (s, 1H), 4,87 (s, 2H), 4,34 (d, $J=12,7$ Гц, 2H), 3,40-3,26 (m, 2H), 2,48-2,35 (m, 3H), 1,54 (d, $J=13,2$ Гц, 2H), 1,26-1,04 (m, 4H). МС (М+Н): 614,12.

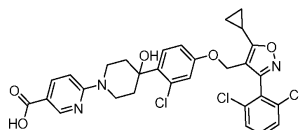
Пример 15. 4-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)бензойная кислота



Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной для примера 14, с применением 4-йодбензонитрила (100 мг, 0,44 ммоль) в качестве исходного вещества. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6)

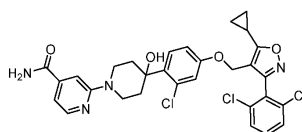
δ 12,19 (s, 1H), 7,75 (d, $J=8,9$ Гц, 2H), 7,67-7,47 (m, 4H), 6,97 (d, $J=9,1$ Гц, 2H), 6,78 (s, 1H), 5,22 (s, 1H), 4,88 (s, 2H), 3,79 (d, $J=13,0$ Гц, 2H), 3,31-3,20 (m, 3H), 2,55 (s, 0H), 2,49-2,35 (m, 1H), 1,54 (d, $J=13,1$ Гц, 2H), 1,26-1,04 (m, 4H). МС (М+Н): 613,32.

Пример 16. 6-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)никотиновая кислота



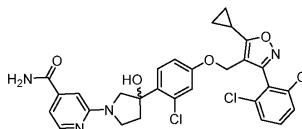
Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной для примера 2, с применением 6-бромникотинитрила (600 мг, 3,28 ммоль) в качестве исходного вещества. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 13,27 (s, 1H), 8,52 (d, $J=2,9$ Гц, 1H), 8,42 (d, $J=1,6$ Гц, 1H), 7,73-7,47 (m, 6H), 6,82-6,71 (m, 2H), 5,21 (s, 1H), 4,88 (s, 2H), 3,72 (d, $J=12,5$ Гц, 2H), 3,27-3,16 (m, 3H), 2,63-2,51 (m, 1H), 2,49-2,36 (m, 1H), 1,57 (d, $J=13,1$ Гц, 2H), 1,27-1,04 (m, 4H). МС (М+Н): 614,15.

Пример 17. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотинамид



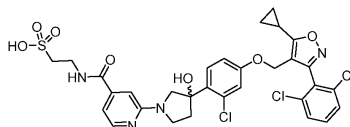
К раствору соединения согласно примеру 1 (12 мг, 0,02 ммоль) в ДМФА (0,2 мл) добавляли 0,5 М аммиак в диоксане (0,2 мл, 0,098 ммоль), после чего добавляли ВОР (17 мг, 0,39 ммоль) и DIEA (0,01 мл, 0,06 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, обрабатывали EtOAc и водой, разделяли и экстрагировали один раз EtOAc. Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Очистка методом хроматографии (ISCO C18 с обращенной фазой, 0-70% вода/ацетонитрил/0,1% TFA) позволяла получить искомым продукт (5,5 мг, выход 46%). ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 8,34 (d, $J=5,1$ Гц, 1H), 8,23 (s, 1H), 7,85-7,63 (m, 5H), 7,39 (s, 1H), 7,11 (d, $J=5,3$ Гц, 1H), 6,97-6,88 (m, 2H), 5,38 (s, 1H), 5,04 (s, 2H), 4,39 (d, $J=12,6$ Гц, 2H), 3,53-3,36 (m, 3H), 2,65-2,45 (m, 2H), 1,69 (d, $J=13,2$ Гц, 2H), 1,37-1,21 (m, 4H). МС (М+Н): 613,56.

Пример 18. Рацемический 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидрокси-3-пирролидин-1-ил)изоникотинамид



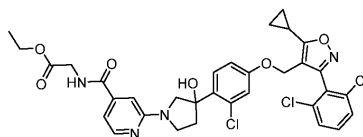
К раствору соединения согласно примеру 2 (40 мг, 0,067 ммоль) в ДМФА (0,6 мл) добавляли 0,5 М аммиак в диоксане (0,666 мл, 0,333 ммоль), после чего добавляли ВОР (59 мг, 0,133 ммоль) и DIEA (0,012 мл, 0,067 ммоль). Смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, обрабатывали EtOAc и водой, разделяли и экстрагировали один раз EtOAc. Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Очистка методом хроматографии (ISCO C18 с обращенной фазой, 0-70% вода/ацетонитрил/0,1% TFA) позволяла получить искомым продукт (25 мг, выход 62%). ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 8,31 (d, $J=5,2$ Гц, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,84-7,65 (m, 5H), 7,12-7,03 (m, 2H), 7,03-6,90 (m, 2H), 5,61 (s, 1H), 5,08 (s, 2H), 3,97 (d, $J=11,2$ Гц, 2H), 3,91-3,78 (m, 1H), 3,79-3,63 (m, 1H), 2,81 (q, $J=10,7, 9,5$ Гц, 1H), 2,64-2,50 (m, 1H), 2,39 (dd, $J=12,7, 6,5$ Гц, 1H), 1,44-1,23 (m, 4H). МС (М+Н): 599,19.

Пример 19. Рацемическая 2-(2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидрокси-3-пирролидин-1-ил)изоникотинамид)этан-1-сульфоновая кислота



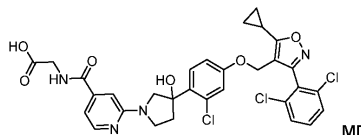
Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной для примера 18, с использованием таурина в качестве исходного вещества (12,5 мг, 0,1 ммоль). ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 9,03 (s, 1H), 8,28 (d, $J=6,2$ Гц, 1H), 7,84-7,65 (m, 4H), 7,39 (s, 1H), 7,21 (d, $J=6,2$ Гц, 1H), 7,10 (d, $J=2,6$ Гц, 1H), 6,98 (dd, $J=8,9, 2,6$ Гц, 1H), 5,86 (s, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,16-4,09 (m, 2H), 4,06-3,91 (m, 1H), 3,96-3,74 (m, 2H), 3,66-3,36 (m, 2H), 2,90-2,76 (m, 3H), 2,57-2,50 (m, 1H), 1,55-1,08 (m, 5H). МС (М+Н): 707,20.

Пример 20. Рацемический этил (2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)изоникотиноил)глицинат



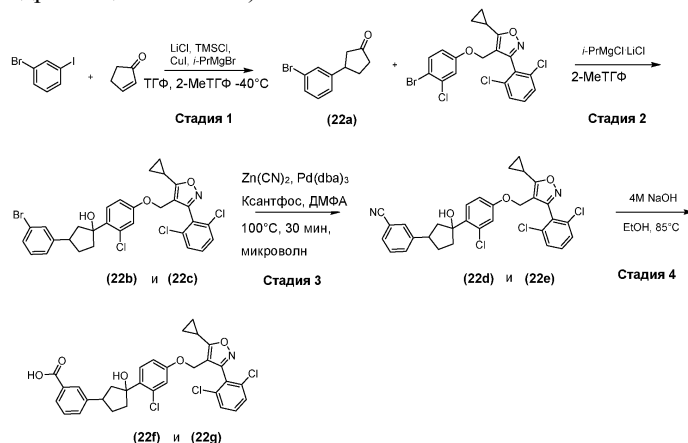
К раствору соединения из примера 2 (40 мг, 0,07 ммоль) в дихлорметане (0,5 мл) добавляли глицин этиловый эфир HCl (10,22 мг, 0,07 ммоль), EDCI (11,37 мг, 0,07 ммоль), HOBT (9,89 мг, 0,07 ммоль) и DIEA (0,02 мл, 0,13 ммоль) и смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, обрабатывали EtOAc и водой, разделяли и экстрагировали один раз EtOAc. Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Очистка методом хроматографии (ISCO 12 г GOLD колонка с силикагелем, 0-100% EtOAc/гексаны) позволяла получить искомым продукт (46 мг). ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 9,21 (t, J=5,9 Гц, 1H), 8,36 (d, J=5,2 Гц, 1H), 7,85-7,66 (m, 4H), 7,13-7,04 (m, 2H), 7,04-6,92 (m, 2H), 5,64 (s, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,29 (q, J=7,1 Гц, 2H), 4,16 (d, J=5,8 Гц, 2H), 4,02 (s, 2H), 3,90-3,84 (m, 1H), 3,81-3,68 (m, 1H), 2,82 (t, J=10,4 Гц, 1H), 2,62 (dd, J=8,0, 5,1 Гц, 1H), 2,41 (dd, J=12,3, 6,2 Гц, 1H), 1,51-1,23 (m, 7H). МС (М+Н): 685,33.

Пример 21. Рацемический (2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)изоникотиноил)глицин

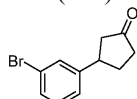


В сосуд, содержащий пример 20 (37 мг, 0,05 ммоль) и ТГФ (0,3 мл), добавляли 1 М гидроксид лития (0,16 мл, 0,16 ммоль) и смесь перемешивали в течение 4 ч при комнатной температуре. Добавляли EtOAc и воду и доводили pH до ~6 при помощи 1 М HCl. Фазы разделяли, объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали, высушивали под вакуумом (29 мг, 82%). ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 12,65 (s, 1H, w), 8,89 (t, J=5,9 Гц, 1H), 8,15 (d, J=5,2 Гц, 1H), 7,66-7,47 (m, 5H), 6,93-6,86 (m, 2H), 6,82 (s, 1H), 6,78 (dd, J=8,8, 2,7 Гц, 1H), 5,45 (s, 1H), 4,91 (s, 2H), 3,89 (d, J=5,7 Гц, 2H), 3,81 (d, J=10,9 Гц, 2H), 3,72-3,65 (m, 1H), 3,62-3,47 (m, 1H), 2,70-2,56 (m, 1H), 2,49-2,37 (m, 1H), 2,26-2,15 (m, 1H), 1,20-1,05 (m, 4H). МС (М+Н): 657,25.

Примеры 22f и 22g. 3-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксициклопентил)бензойная кислота



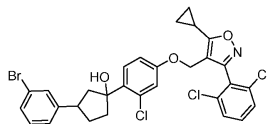
Стадия 1. 3-(3-Бромфенил)циклопентан-1-он (22a)



В высушенную трехгорлую колбу в атмосфере N₂ добавляли раствор 1-бром-3-йодбензола (0,44 мл, 2,56 ммоль) в ТГФ (4 мл), затем смесь охлаждали до -40°C на бане из сухого льда/ацетонитрила. Затем по каплям добавляли 2,9 М изопропилмагний бромид в 2-МеТГФ (1,01 мл) и полученную смесь перемешивали при -40°C в течение 1 ч. Отдельную колбу заполняли хлоридом лития (21 мг, 0,49 ммоль) и помещали в вакуум, а затем поджигали горелкой. После охлаждения до комнатной температуры добавляли йодид меди(I) (46 мг, 0,24 ммоль), колбу вакуумировали и трижды заполняли N₂. Затем по порядку через шприц добавляли ТГФ (6 мл), хлортриметилсилан (0,31 мл, 2,44 ммоль) и циклопент-2-енон (0,2 мл, 2,44 ммоль) до образования прозрачного желтого раствора. Полученный раствор затем по каплям через

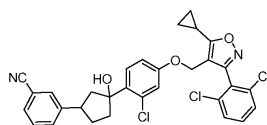
шприц добавляли в первую колбу и реакционную смесь перемешивали в течение дополнительного часа при -40°C , затем гасили водн. NH_4Cl , разбавляли эфиром, затем подкисляли до pH 1 с помощью 1 N HCl и перемешивали в течение 0,5 ч до нагревания до комнатной температуры. Фазы разделяли, органический слой промывали соевым раствором, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Остаток очищали методом флэш-хроматографии (ISCO, 40 г GOLD, EtOAc/гексаны) с получением исходного продукта.

Стадия 2. 3-(3-Бромфенил)-1-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)циклопентан-1-ол (22b), (22c)



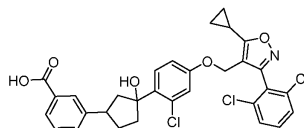
Указанное соединение синтезировали согласно общей процедуре, описанной в общем синтезе 2 стадия 3. Очистка методом колоночной хроматографии (ISCO 24 г GOLD колонка с силикагелем 0-100% EtOAc/гексаны) позволяла получить два изомера: (22b) и (22c).

Стадия 3. 3-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксициклопентил)бензонитрил (22d)



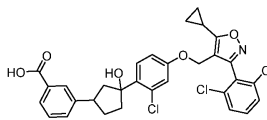
В микроволновый сосуд помещали (22b) (160 мг, 0,25 ммоль), цианид цинка (36 мг, 0,3 ммоль), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (23 мг, 0,03 ммоль) и ксантофос (15 мг, 0,03 ммоль). Сосуд герметично закрывали, затем вакуумировали и трижды заполняли N_2 , затем добавляли ДМФА (10 мл). Реакционную смесь подвергали облучению в микроволновом реакторе в течение 30 мин при 100°C . Смесь охлаждали до комнатной температуры, концентрировали при пониженном давлении для удаления большей части ДМФА, затем разбавляли EtOAc и водой и фильтровали через целит. Фазы разделяли, органический слой трижды промывали соевым раствором, высушивали над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Очистка методом хроматографии (ISCO 12 г GOLD колонка с силикагелем, 0-70% EtOAc/гексаны) позволяла получить искомым продукт (22d) (66 мг, выход 45%).

Стадия 4, пример 22f. 3-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксициклопентил)бензойная кислота (22f)



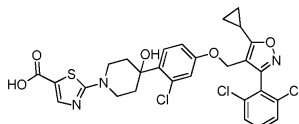
Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной в общем синтезе 2 стадия 4, с использованием в качестве исходного вещества (22d) (55 мг, 0,095 ммоль). ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 12,88 (s, 1H), 7,92 (t, $J=1,8$ Гц, 1H), 7,74 (dt, $J=7,6, 1,4$ Гц, 1H), 7,65-7,47 (m, 5H), 7,40 (t, $J=7,7$ Гц, 1H), 6,85 (d, $J=2,6$ Гц, 1H), 6,74 (dd, $J=8,8, 2,7$ Гц, 1H), 5,15 (s, 1H), 4,88 (s, 2H), 3,52-3,38 (m, 1H), 2,83-2,71 (m, 1H), 2,49-2,30 (m, 1H), 2,14-1,75 (m, 3H), 1,36-1,04 (m, 4H), 0,89-0,75 (m, 2H). МС (М+Н): 580,14.

Пример 22g. 3-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксициклопентил)бензойная кислота (22g)



Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, представленной для примера 22f, с применением (22c) в качестве исходного вещества. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 12,90 (s, 1H), 7,86 (t, 1H), 7,76 (dt, $J=7,6, 1,4$ Гц, 1H), 7,67-7,48 (m, 5H), 7,41 (t, $J=7,6$ Гц, 2H), 6,85 (d, $J=2,6$ Гц, 1H), 6,74 (dd, $J=8,8, 2,6$ Гц, 1H), 5,13 (s, 1H), 4,88 (s, 2H), 3,63-3,56 (m, 1H), 2,47-2,36 (m, 2H), 2,29 (dd, $J=8,3, 4,3$ Гц, 1H), 2,12-1,98 (m, 2H), 1,93-1,77 (m, 1H), 1,27-1,02 (m, 5H). МС (М+Н): 580,21.

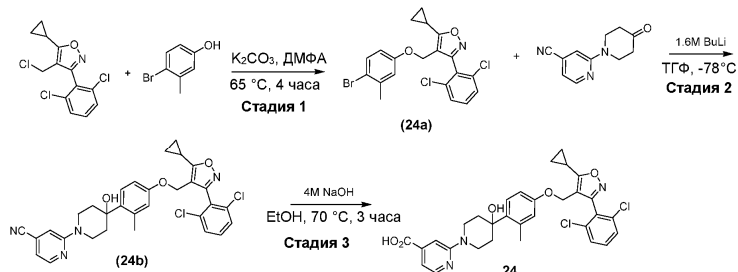
Пример 23. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидрокси-1-пиперидин-1-ил)тиазол-5-карбоновая кислота



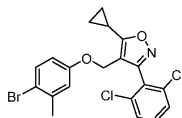
Пример 23 получали согласно процедуре, описанной в общей процедуре 2, с получением титульно-

го соединения (105 мг, выход 86%). ^1H ЯМР (300 МГц, DMCO-d_6) δ 13,31 (s, 1H), 8,32 (s, 1H), 7,32-7,65 (m, 5H), 7,10 (t, $J=1,1$ Гц, 1H), 6,91 (dd, $J=5, 1,2$ Гц, 1H), 6,73 (dd, $J=8,9, 2,6$ Гц, 1H), 6,57 (d, $J=2,6$ Гц, 1H), 5,22 (s, 1H), 4,80 (s, 2H), 4,58 (s, 2H), 2,66 (dd, $J=14,2, 4,0$ Гц, 2H), 2,46-2,32 (m, 3H), 1,94 (d, $J=5,4$ Гц, 2H), 1,45 (d, $J=14,0$ Гц, 2H), 1,20-0,98 (m, 4H); (M+H): 620,2.

Пример 24. 2-(4-(4-((5-Циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)-2-метилфенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотиновая кислота

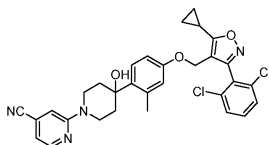


Стадия 1. 4-((4-Бром-3-метилфенокси)метил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол (24a)



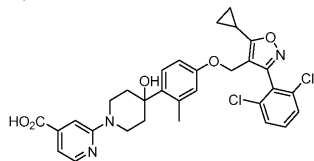
После процедуры, описанной в примере 3/стадия 5, соединение 24a получали путем комбинирования 4-(хлорметил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазола (полученного, как описано в WO2013/007387) и 4-бром-3-метилфенола с выходом 91%.

Стадия 2. 2-(4-(4-((5-Циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)-2-метилфенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотинитрил (24b)



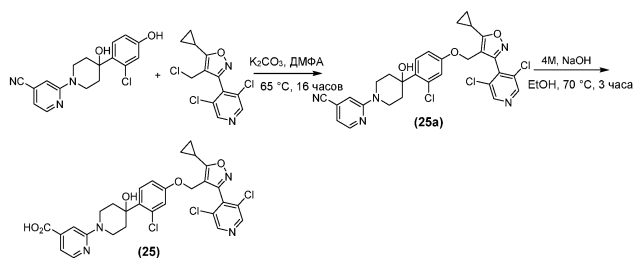
$n\text{-BuLi}$ (1,6 М в гексанах, 0,18 мл, 0,29 ммоль) медленно добавляли к охлажденному (-78°C) раствору 4-((4-бром-3-метилфенокси)метил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазола (24a) (100 мг, 0,22 ммоль) в ТГФ (4 мл). Через 10 мин добавляли раствор 2-(4-оксопиперидин-1-ил)изоникотинитрила (44 мг, 0,22 ммоль) в ТГФ (1,1 мл). Через еще 20 мин реакционную смесь гасили H_2O , экстрагировали EtOAc и объединенные органические слои промывали соевым раствором, высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали. Остаток очищали методом хроматографии (ISCO (4 г колонка с силикагелем) с использованием градиента 100% гексаны - 2:1 гексан/ EtOAc) с получением соединения 24b (130 мг, выход 43%).

Стадия 3, пример 24. 2-(4-(4-((5-Циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)-2-метилфенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотиновая кислота (24)

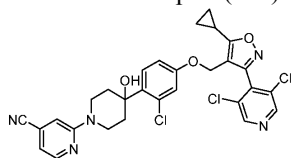


Следуя процедуре, описанной в примере 1/стадия 4, из 2-(4-(4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)-2-метилфенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотинитрила (24b) получали пример 24 с выходом 81%. ^1H ЯМР (300 МГц, DMCO-d_6) δ 8,37 (d, $J=5,3$ Гц, 1H), 7,83-7,64 (m, 3H), 7,47 (s, 1H), 7,39-7,29 (m, 1H), 7,17 (d, $J=5,4$ Гц, 1H), 6,71 (dd, $J=4,6, 2,1$ Гц, 2H), 4,97 (s, 2H), 4,33 (d, $J=12,7$ Гц, 2H), 3,67-3,52 (m, 2H), 2,60 (s, 3H), 2,59-2,40 (m, 1H), 2,05 (s, 4H), 1,36-1,24 (m, 4H). МС (ЭРИ+) m/z 596,1 (M+H).

Пример 25. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотиновая кислота

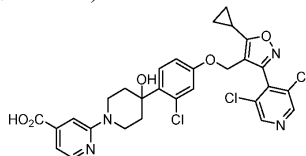


Стадия 1. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксиперидин-1-ил)изоникотинитрил (25a)



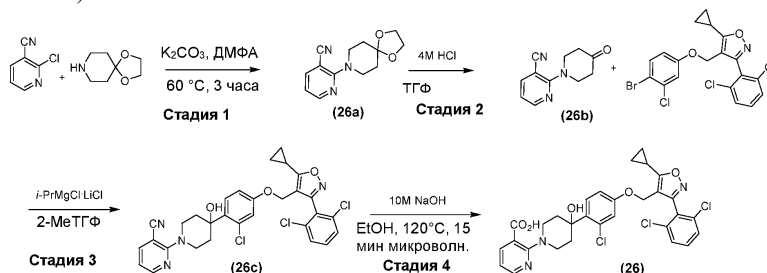
Следуя процедуре, описанной в примере 3/стадия 5, получали соединение 25a путем объединения 4-(хлорметил)-5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазола (полученного, как описано в WO2011/020615) и 2-(4-(2-хлор-4-гидроксифенил)-4-гидроксиперидин-1-ил)изоникотинитрила с выходом 74%.

Стадия 2, пример 25. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксиперидин-1-ил)изоникотиновая кислота (25)

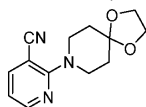


Следуя процедуре, описанной в примере 1/стадия 4, из 2-(4-(4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)-2-метилфенил)-4-гидроксиперидин-1-ил)изоникотинитрила получали пример 25 с выходом 81%. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 13,36 (s, 1H), 8,80 (s, 1H), 8,24 (d, J=5,1 Гц, 1H), 7,64 (d, J=8,6 Гц, 1H), 7,24 (s, 1H), 6,98 (dd, J=5,0, 1,0 Гц, 1H), 6,81-6,69 (m, 2H), 5,25 (s, 1H), 4,96 (s, 2H), 4,22 (d, J=12,7 Гц, 2H), 3,37-3,21 (m, 2H), 2,52-2,40 (m, 2H), 1,54 (d, J=13,1 Гц, 2H), 1,22-1,09 (m, 4H). МС (ЭРИ+) m/z 616,9 (M+H).

Пример 26. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксиперидин-1-ил)никотиновая кислота

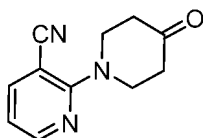


Стадия 1. 2-(1,4-Диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)никотинитрил (26a)



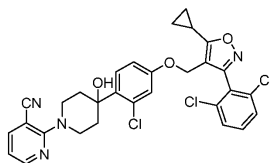
Следуя процедуре, описанной в примере 1/стадия 1, получали соединение 26a путем объединения 2-хлорникотинитрила и 1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декана с выходом 94%.

Стадия 2. 2-(4-Оксопиперидин-1-ил)никотинитрил (26b)



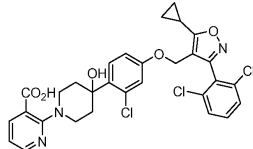
Следуя процедуре, описанной в примере 1/стадия 2, из 2-(1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)никотинитрила получали соединение 26b с выходом 85%.

Стадия 3. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксиперидин-1-ил)никотинитрил (26c)



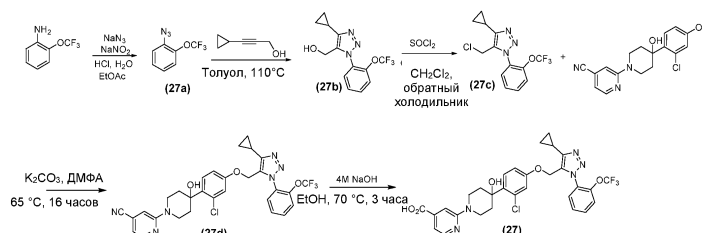
Следуя процедуре, описанной в примере 1/стадия 3, из 2-(4-оксопиперидин-1-ил)никотинитрила (26b) получали соединение 26с с выходом 61%.

Стадия 4, пример 26. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)никотиновая кислота (26)

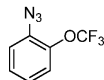


2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)никотинитрил (100 мг, 0,17 ммоль), 10 М гидроксид натрия в воде (0,29 мл) и этанол (0,8 мл) объединяли в микроволновом сосуде и нагревали при 120°C в течение 15 мин в микроволновом реакторе. Смесь охлаждали и доводили pH до 5 с помощью 1 М водного раствора HCl. Полученную смесь фильтровали и нерастворимый осадок промывали водой и Et₂O, высушивали под вакуумом с получением соединения согласно примеру 26 (23 мг, 22%). ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,24 (dd, J=4,8, 2,0 Гц, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,77 (dd, J=7,4, 2,0 Гц, 1H), 7,68-7,48 (m, 6H), 6,94-6,72 (m, 3H), 5,14 (s, 1H), 4,89 (s, 3H), 3,57 (d, J=12,6 Гц, 2H), 3,37-3,20 (m, 1H), 2,69-2,55 (m, 2H), 2,50-2,40 (m, 1H), 1,53 (d, J=12,9 Гц, 2H), 1,27-1,00 (m, 4H). МС (ЭРИ+) m/z 615,2 (M+H).

Пример 27. 2-(4-(2-Хлор-4-((4-циклопропил-1-(2-(трифторметокси)фенил)-1H-1,2,3-триазол-5-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотиновая кислота

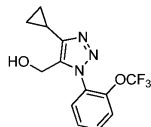


Стадия 1. 1-Азидо-2-(трифторметокси)бензол (27а)



Концентрированную HCl (7,9 мл) добавляли к раствору 2-(трифторметокси)анилина (1,1 мл, 7,9 ммоль) в EtOAc (26 мл) при 0°C. По прошествии 10 мин медленно добавляли раствор нитрита натрия (1,6 г, 23,7 ммоль) в воде (4,6 мл) в течение более чем 5 мин. Смесь перемешивали в течение 30 мин и затем медленно в течение более чем 5 мин обрабатывали раствором азидата натрия (1,5 г, 23,7 ммоль) в воде (5,3 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч, затем обрабатывали забуференным фосфатом физиологическим раствором (pH 7,4, 50 мл). Смесь экстрагировали EtOAc, органический слой промывали соевым раствором, высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали с получением соединения 27а.

Стадия 2. (4-Циклопропил-1-(2-(трифторметокси)фенил)-1H-1,2,3-триазол-5-ил)метанол (27b)



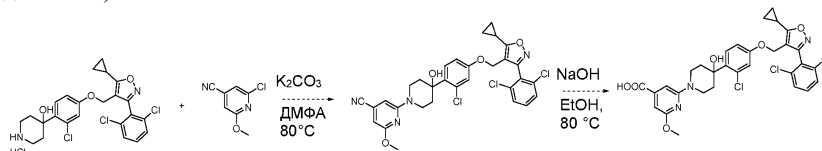
Раствор 1-азидо-2-(трифторметокси)бензола (27а, 2,0 г, 9,8 ммоль) и 3-циклопропилпроп-2-ин-1-ол (1,2 мл, 9,8 ммоль) в толуоле (20 мл) перемешивали при 110°C в атмосфере азота. Через 16 ч раствор охлаждали до комнатной температуры и добавляли как воду, так и EtOAc. Смесь разделяли и органические слои экстрагировали EtOAc, промывали соевым раствором, высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали. Остаток очищали методом хроматографии (ISCO, 24 г колонка с силикагелем, с использованием градиента 100% гексаны - 100% EtOAc) с получением соединения 27b (230 мг, выход 8%) в качестве менее полярного изомера. Корреляции ядерного эффекта оверхаузера (nOe) от H1 и H2 к H3 подтвердили структуру 27b.

ClCC1=C(C2CC2)N3C=NC(=C3N1)c4ccc(OC(F)(F)F)cc4N#Cc1ccc2nc(N3CCN(CC3)c4ccc(O)c(OC5C6C=CN(C6)C5)c7ccccc7OC(F)(F)F)c21COc1ccccc1n2nc(C3CC3)nn2COc4ccc(Cl)c(c4)C5CCN(CC5)c6cc(C(=O)O)ccn6

- 31 -

(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)бензо[d]тиазол-6-карбонитрил (37 мг, 0,06 ммоль), EtOH (0,6 мл) и 30% NaOH (0,36 мл, 2,73 ммоль). Пробирку герметично закрывали и смесь нагревали при 80°C в течение ночи. После доведения pH до ~4 с помощью 4 N HCl добавляли этилацетат (200 мл). Смесь промывали водой (10 мл X 2), соевым раствором (20 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали под вакуумом. С помощью колоночной хроматографии с силикагелем получали искомый продукт (7,1 мг, выход 19%). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,36 (d, J=1,6 Гц, 1H), 7,96 (d, J=11,2 Гц, 1H), 7,85 (dd, J=11,6 z, J=2,6 Гц, 1H), 7,64 (m, 1H), 7,46 (m, 1H), 7,23 (m, 1H), 6,95 (dd, J=10,4 Гц, J=2,2 Гц, 1H), 6,86 (m, 1H), 6,72 (m, 1H), 4,89 (m, 2H), 4,02 (dm, J=13,2 Гц, 2H), 2,43 (m, 1H), 1,70 (m, 2H), 1,09-1,23 (m, 6H) ppm; МС m/z 670,19 [M+H]⁺.

Пример 29. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)-6-метоксиизоникотиновая кислота



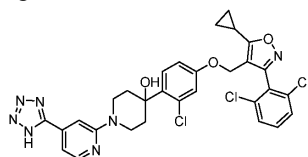
Стадия 1. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)-6-метоксиизоникотинитрил.

В герметично закрытую пробирку с магнитной мешалкой добавляли 4-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)пиперидин-4-ол гидрохлорид (общий синтез 4 стадия 2) (95 мг, 0,18 ммоль), 2-хлор-6-метоксиизоникотинитрил (36,2 мг, 0,22 ммоль), карбонат калия (222 мг, 3,6 ммоль) и ДМФА (2 мл). Пробирку герметично закрывали и смесь нагревали при 80°C в течение ночи. Добавляли воду (20 мл) и полученную смесь экстрагировали EtOAc (50 мл×3), объединенные органические фазы промывали соевым раствором (20 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали под вакуумом. С помощью колоночной хроматографии с силикагелем получали искомый продукт (97 мг, выход 86%).

Стадия 2. 2-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)-6-метоксиизоникотиновая кислота (пример 29).

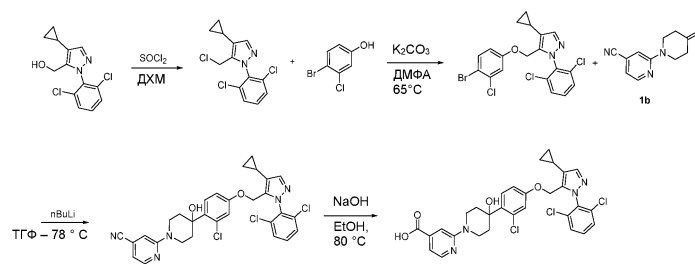
В герметично закрытую пробирку с магнитной мешалкой добавляли 2-(4-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)-6-метоксиизоникотинитрил (90 мг, 0,14 ммоль), EtOH (2,0 мл), 30% NaOH (0,92 мл, 6,9 ммоль). Пробирку герметично закрывали и смесь нагревали при 80°C в течение 6 ч. После доведения pH до ~4 с помощью 4 N HCl добавляли этилацетат (200 мл). Смесь промывали водой (10 мл×2), соевым раствором (20 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали под вакуумом. С помощью колоночной хроматографии с силикагелем получали искомый продукт (4,6 мг, выход 5%). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,96 (dm, J=11,2 Гц, 1H), 7,61 (m, 2H), 7,22 (m, 1H), 6,94 (m, 1H), 6,69-6,84 (m, 2H), 6,37 (s, 1H), 5,76 (s, 1H), 4,88 (m, 2H), 4,21 (m, 2H), 3,81 (s, 3 H), 2,44 (m, 1H), 1,56 (m, 2H), 1,12-1,23 (m, 6H) ppm; МС m/z 644,13 [M+H]⁺.

Пример 30. 1-(4-(1Н-Тетразол-5-ил)пиперидин-2-ил)-4-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)пиперидин-4-ол



В герметично закрытую пробирку с магнитной мешалкой добавляли 2-(4-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотинитрил (пример 1с, 40 мг, 0,07 ммоль), азид натрия (56,7 мг, 0,87 ммоль), триэтиламин гидрохлорид (277 мг, 2,01 моль) и толуол (2 мл). Пробирку герметично закрывали и смесь нагревали при 115°C в течение 8 ч. Образовывалось некоторое количество осадка. Осадок фильтровали и промывали этилацетатом (5 мл×4) и собранные растворимые фазы обрабатывали дополнительным количеством этилацетата (180 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали под вакуумом. С помощью колоночной хроматографии с силикагелем получали искомый продукт (3,8 мг, выход 9%). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,21 (d, J=6,4 Гц, 1H), 7,97 (d, J=12,4 Гц, 1H), 7,63 (m, 1H), 7,60 (m, 1H), 7,43 (m, 1H), 7,19 (m, 2H), 6,91 (d, J=9,6 Гц, 1H), 6,85 (m, 1H), 6,69 (m, 1H), 5,57 (s, 1H), 4,79-4,90 (m, 2H), 4,25 (dm, J=12,1 Гц, 2H), 2,42 (m, 1H), 1,57 (m, 2H), 1,11-1,24 (m, 6H) ppm; МС m/z 637,91 [M+H]⁺.

Пример 31. 2-(4-(2-Хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотиновая кислота



Стадия 1. 5-(Хлорметил)-4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1Н-пиразол.

В круглодонную колбу, оборудованную магнитной мешалкой, добавляли (4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метанол (200 мг, 0,71 ммоль), ДХМ (3,5 мл). После добавления тионилхлорида (588 мг, 4,94 ммоль) смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Смесь концентрировали под вакуумом с получением неочищенного продукта (212,9 мг), непосредственно используемого на следующей стадии.

Стадия 2. 5-((4-Бром-3-хлорфенокси)метил)-4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1Н-пиразол.

В круглодонную колбу, оборудованную магнитной мешалкой, добавляли 5-(хлорметил)-4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1Н-пиразол (212,9 мг, 0,71 ммоль), 4-бром-3-хлорфенол (189,8 мг, 0,92 ммоль), карбонат калия (617,3 мг, 4,47 ммоль), NaI (183,6, 1,23 ммоль) и ДМФА (4,0 мл). Смесь нагревали при 60°C в течение 3,5 ч. Добавляли воду (20 мл) и полученную смесь экстрагировали EtOAc (50 мл×3), объединенные органические фазы промывали солевым раствором (20 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали под вакуумом. С помощью колоночной хроматографии с силикагелем получали искомым продукт (388 мг).

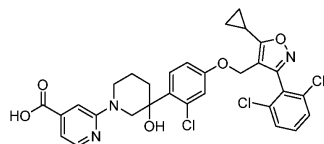
Стадия 3. 2-(4-(2-Хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотинитрил.

В круглодонную колбу, оборудованную магнитной мешалкой и тройником для азота, добавляли 5-((4-бром-3-хлорфенокси)метил)-4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1Н-пиразол (100 мг, 0,21 ммоль) и ТГФ (3,9 мл). Смесь охлаждали до -78°C на бане ацетон/жидкий N₂. По каплям добавляли n-BuLi (1,6 М в гексанах, 0,17 мл, 0,28 ммоль) и полученную смесь перемешивали при этой температуре в течение 30 мин. По каплям добавляли раствор 2-(4-оксипиперидин-1-ил)изоникотинитрила (1b, 42,6 мг, 0,21 ммоль) в ТГФ (1,0 мл). Через 30 мин реакционную смесь гасили водой (10 мл) и этилацетатом (30 мл) и нагревали до комнатной температуры. Добавляли дополнительное количество этилацетата (170 мл) и смесь промывали водой (20 мл×2), солевым раствором (20 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали под вакуумом. Остаток пропускали через колонку с силикагелем с получением искомого продукта (14 мг, выход 11%).

Стадия 4, пример 31. 2-(4-(2-Хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотиновая кислота.

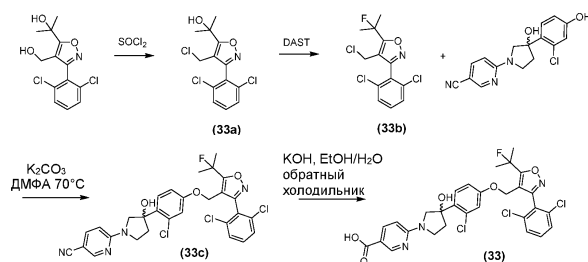
В герметично закрытую пробирку, оборудованную магнитной мешалкой, добавляли 2-(4-(2-хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотинитрил (14 мг, 0,02 ммоль), EtOH (0,6 мл) и 30% NaOH (0,15 мл, 1,13 ммоль). Пробирку герметично закрывали и смесь нагревали при 80°C в течение 1 ч. После доведения pH смеси до ~4 с помощью 4 N HCl образовывалось некоторое количество осадка. Осадок отфильтровывали, промывали холодной водой (1 мл×3) и высушивали под вакуумом с получением искомого продукта (2,4 мг, выход 17%). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 13,4 (broad s, 1H), 8,24 (d, J=6,0 Гц, 1H), 7,95 (d, J=11,6 Гц, 1H), 7,65 (d, J=11,6 Гц, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,26 (s, 1H), 7,22 (m, 1H), 6,96 (m, 2H), 6,86 (s, 1H), 6,71 (d, J=11,2 Гц, 1H), 5,61 (s, 1H), 5,00 (m, 1H), 4,85 (m, 1H), 4,23 (d, J=12,4 Гц, 2H), 3,16 (s, 2H), 1,86 (m, 1H), 1,52 (m, 2H), 1,22 (s, 1H), 0,91 (m, 2H), 0,63 (m, 2H) ppm; МС m/z 613,3 [M+H]⁺.

Пример 32. Рацемическая 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипиперидин-1-ил)изоникотиновая кислота

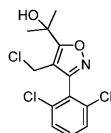


Пример 32 получали согласно процедуре, описанной в общей процедуре 2, с получением рацемического титульного соединения (18 мг, 35%). ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 13,28 (s, 1H), 8,25-8,48 (m, 1H), 7,80 (m, 1H), 7,44-7,68 (m, 4H), 6,91 (d, J=2,6 Гц, 1H), 6,79 (dd, J=8,8, 2,7 Гц, 1H), 6,51 (d, J=9 Гц, 1H), 5,50 (s, 1H), 4,92 (s, 2H), 3,83 (d, J=11,3 Гц, 1H), 3,75 (s, 1H), 3,51-3,58 (m, 1H), 2,64 (q, J=10,7, 9,9 Гц, 1H), 2,20-2,38 (m, 2H), 2,24 (d, J=9,1 Гц, 2H), 1,27-1,06 (m, 4H); (M+H): 614,3.

Пример 33. 6-(3-(2-Хлор-4-((3-(2,6-дихлорфенил)-5-(2-фторпропан-2-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота

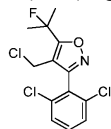


Стадия 1. 2-(4-(Хлорметил)-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-5-ил)пропан-2-ол (33а)



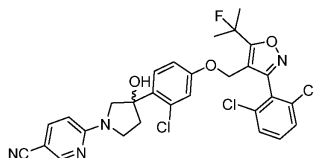
К раствору 2-(3-(2,6-дихлорфенил)-4-(гидроксиметил)изоксазол-5-ил)пропан-2-ола (6,8 г, 226 ммоль) в дихлорметане (120 мл) добавляли SOCl_2 (17,2 мл, 237 ммоль) при 0°C . Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин, гасили насыщенным водным NaCO_3 и экстрагировали EtOAc (3×150 мл). Объединенный органический слой промывали солевым раствором, высушивали над Na_2SO_4 , концентрировали и очищали методом колоночной хроматографии ($\text{PE}/\text{EtOAc} = 30:1$) с получением 2-(4-(хлорметил)-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-5-ил)пропан-2-ол 33а. ^1H -ЯМР (CDCl_3 , 300 МГц): δ 7,47-7,37 (m, 3H), 4,51 (s, 2H), 2,43 (s, 1H), 1,75 (s, 6H).

Стадия 2. 4-(Хлорметил)-3-(2,6-дихлорфенил)-5-(2-фторпропан-2-ил)изоксазол (33b)



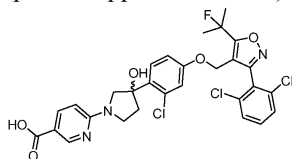
К раствору 2-(4-(хлорметил)-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-5-ил)пропан-2-ола (33а, 2,80 г, 9,1 ммоль) в дихлорметане (80 мл) добавляли DAST (1,5 мл, 11,4 ммоль). Смесь перемешивали при 0°C в течение 1,5 ч, гасили насыщенным водным NaHCO_3 и экстрагировали EtOAc (3×100 мл). Объединенный органический слой промывали солевым раствором, высушивали над Na_2SO_4 , концентрировали и очищали методом колоночной хроматографии ($\text{PE}/\text{EtOAc} = 30:1$) с получением 4-(хлорметил)-3-(2,6-дихлорфенил)-5-(2-фторпропан-2-ил)изоксазола 33b. ^1H -ЯМР (CDCl_3 , 300 МГц): δ 7,47-7,37 (m, 3H), 4,43 (s, 2H), 1,87 (d, $J=22,2$ Гц, 6H). МС (ЭРИ+) m/z 321,9 (M+H).

Стадия 3. 6-(3-(2-Хлор-4-((3-(2,6-дихлорфенил)-5-(2-фторпропан-2-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинитрил (33с)



К раствору 6-(3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинитрила (100 мг, 0,32 ммоль) и 4-(хлорметил)-3-(2,6-дихлорфенил)-5-(2-фторпропан-2-ил)изоксазола (33b, 112 мг, 0,35 ммоль) в ДМФА (10 мл) добавляли K_2CO_3 (48 мг, 0,35 ммоль) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при 70°C в течение ночи, гасили водой (30 мл) и экстрагировали EtOAc (3×50 мл). Комбинированный органический слой промывали солевым раствором (100 мл), высушивали над Na_2SO_4 и концентрировали под вакуумом с получением неочищенного 6-(3-(2-хлор-4-((3-(2,6-дихлорфенил)-5-(2-фторпропан-2-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинитрила 33с (191 мг); МС (ЭРИ+) m/z 600,9 (M+H).

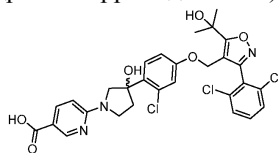
Стадия 4, пример 33. Рацемическая 6-(3-(2-хлор-4-((3-(2,6-дихлорфенил)-5-(2-фторпропан-2-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота (33)



К раствору 6-(3-(2-хлор-4-((3-(2,6-дихлорфенил)-5-(2-фторпропан-2-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинитрила (33с, 191 мг, 0,32 ммоль) в EtOH (10 мл) и воды (5 мл) добавляли KOH (179 мг, 3,2 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали с обратным холодильником в течение ночи, концентрировали под вакуумом и подкисляли до pH 6 с

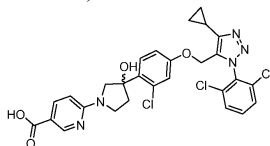
помощью 1 N HCl, фильтровали и очищали методом препаративной ВЭЖХ с получением рацемической 6-(3-(2-хлор-4-((3-(2,6-дихлорфенил)-5-(2-фторпропан-2-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновой кислоты 33 (34 мг, 17%). ^1H ЯМР (CD_3OD , 300 МГц): δ 8,69 (d, $J=1,8$ Гц, 1H), 8,05 (dd, $J=2,1$, 8,7 Гц, 1H), 7,56-7,45 (m, 4H), 6,77 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 6,71 (dd, $J=2,6$, 9,0 Гц, 1H), 6,53 (d, $J=9,0$ Гц, 1H), 4,99 (s, 2H), 4,04-3,95 (m, 2H), 3,79-3,70 (m, 2H), 2,85-2,77 (m, 1H), 2,37-2,31 (m, 1H), 1,88 (d, $J=22,2$ Гц, 6H). МС (ЭРИ+) m/z 620,1 (M+H).

Пример 34. Рацемическая 6-(3-(2-хлор-4-((3-(2,6-дихлорфенил)-5-(2-гидроксипропан-2-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота



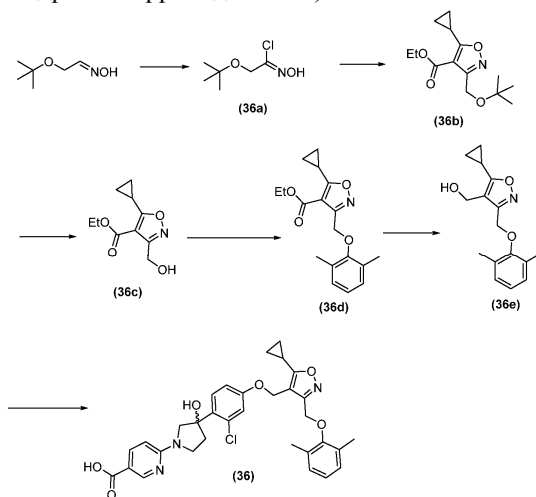
Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной для примера 33, с использованием 2-(4-(хлорметил)-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-5-ил)пропан-2-ола 33а в качестве исходного вещества. ^1H ЯМР (CD_3OD , 300 МГц): δ 8,68 (d, $J=2,1$ Гц, 1H), 8,05 (dd, $J=2,1$, 9,0 Гц, 1H), 7,55-7,44 (m, 4H), 6,78 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 6,71 (dd, $J=2,4$, 9,0 Гц, 1H), 6,55 (d, $J=9,0$ Гц, 1H), 5,14 (s, 2H), 4,06-3,94 (m, 2H), 3,78-3,70 (m, 2H), 2,85-2,77 (m, 1H), 2,37-2,31 (m, 1H), 1,69 (s, 6H). МС (ЭРИ+) m/z 618,0 (M+H).

Пример 35. Рацемическая 6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1H-1,2,3-триазол-5-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота

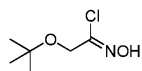


Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной для примера 33, и использованием соответствующих исходных веществ, ^1H ЯМР (CD_3OD , 300 МГц): δ 8,68 (d, $J=2,1$ Гц, 1H), 8,05 (dd, $J=2,1$, 9,0 Гц, 1H), 7,66-7,57 (m, 4H), 6,91 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 6,81 (dd, $J=2,7$, 9,0 Гц, 1H), 6,51 (d, $J=8,7$ Гц, 1H), 5,16 (s, 2H), 4,04-3,94 (m, 2H), 3,77-3,69 (m, 2H), 2,87-2,76 (m, 1H), 2,36-2,30 (m, 1H), 2,15-2,09 (m, 1H), 1,11-1,05 (m, 4H). МС (ЭРИ+) m/z 600,0 (M+H).

Пример 36. Рацемическая 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-((2,6-диметилфенокси)метил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота

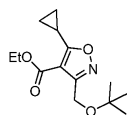


Стадия 1. 2-(трет-Бутокси)-N-гидроксиацетимилоил хлорид (36а)



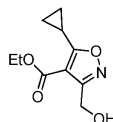
К раствору 2-(трет-бutoкси)ацетальдегид оксима (24,1 г, 184 ммоль; полученного, как описано в WO2009/005998) в ДМФА (600 мл) добавляли N-хлорсукцинимид (23,7 г, 184 ммоль) при 0°C. Смесь перемешивали в течение 1 ч, вливали в Et_2O (800 мл) и промывали солевым раствором (450 мл). Органический слой высушивали над MgSO_4 и концентрировали с получением неочищенного 2-(трет-бutoкси)-N-гидроксиацетимилоил хлорида 36а, затем непосредственно используемого на следующей стадии.

Стадия 2. Этил 3-(трет-бutoксиметил)-5-циклопропилизоксазол-4-карбоксилат (36b)



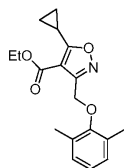
К раствору этил 3-циклопропил-3-оксoproпаноата (31,6 г, 203 ммоль) в ТГФ (600 мл) добавляли раствор NaOCH_3 (0,5 М, 10,9 г, 203 ммоль) в MeOH при 0°C. После перемешивания в течение 5 мин по каплям добавляли раствор 2-(трет-бутоксид)-N-гидроксиацетимидоил хлорида (36а, 27,9 г, 169 ммоль) в ТГФ (200 мл). Смесь оставляли для нагревания до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи, вливали в Et_2O (800 мл), промывали солевым раствором (450 мл) и концентрировали с получением неочищенного этил 3-(трет-бутоксиметил)-5-циклопропилизоксазол-4-карбоксилата 36b, затем непосредственно используемого на следующей стадии.

Стадия 3. Этил 5-циклопропил-3-(гидроксиметил)изоксазол-4-карбоксилат (36с)



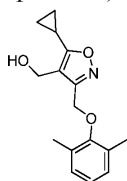
К раствору этил 3-(трет-бутоксиметил)-5-циклопропилизоксазол-4-карбоксилата (36b, 38,4 г, 144 ммоль) в дихлорметане (600 мл) добавляли TFA (100 мл) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, концентрировали и доводили до основного pH с помощью водн. NaHCO_3 . Смесь экстрагировали EtOAc (3×300 мл). Объединенный органический слой промывали солевым раствором (400 мл), высушивали над MgSO_4 , концентрировали и очищали методом колоночной хроматографии (PE/ EtOAc = 10:1) с получением этил 5-циклопропил-3-(гидроксиметил)изоксазол-4-карбоксилата 36с. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6): δ 4,64 (s, 2H), 4,26 (q, $J=7,2$ Гц, 2H), 2,79-2,70 (m, 1H), 1,29 (t, $J=7,2$ Гц, 3H), 1,23-1,13 (m, 4H).

Стадия 4. Этил 5-циклопропил-3-((2,6-диметилфеноксид)метил)изоксазол-4-карбоксилат (36d)



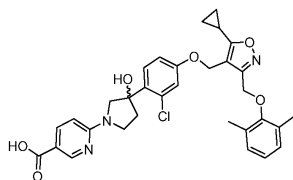
К раствору этил 5-циклопропил-3-(гидроксиметил)изоксазол-4-карбоксилата (36с, 16,1 г, 76,3 ммоль), 2,6-диметилфенол (9,3 г, 76,3 ммоль) и PPh_3 (20 г, 76,3 ммоль) в толуоле (500 мл) добавляли DIAD (15,4 г, 76,3 ммоль) при 0°C. Смесь перемешивали при 90°C в течение 2 ч, охлаждали, концентрировали и очищали методом колоночной хроматографии (PE/ EtOAc =15:1) с получением этил 5-циклопропил-3-((2,6-диметилфеноксид)метил)изоксазол-4-карбоксилата 36d. ^1H -ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6): δ 7,03 (d, $J=7,8$ Гц, 2H), 6,96-6,87 (m, 1H), 5,03 (s, 2H), 4,25 (q, $J=7,2$ Гц, 2H), 2,82-2,76 (m, 1H), 2,18 (s, 6H), 2,14 (s, 3H), 1,28-1,17 (m, 4H).

Стадия 5. (5-Циклопропил-3-((2,6-диметилфеноксид)метил)изоксазол-4-ил)метанол (36е)



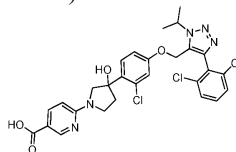
К раствору LiAlH_4 (2,9 г, 77,6 ммоль) в ТГФ (250 мл) добавляли этил 5-циклопропил-3-((2,6-диметилфеноксид)метил)изоксазол-4-карбоксилат (36d, 16,3 г, 51,7 ммоль) при 0°C. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч, разбавляли водой (100 мл) и экстрагировали EtOAc (3×100 мл). Комбинированный органический слой промывали солевым раствором (200 мл), высушивали над MgSO_4 , концентрировали и очищали методом колоночной хроматографии (PE/ EtOAc = 8:1) с получением (5-циклопропил-3-((2,6-диметилфеноксид)метил)изоксазол-4-ил)метанола 36е. ^1H -ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6): δ 7,04 (d, $J=7,5$ Гц, 2H), 6,97-6,92 (m, 1H), 5,07 (br s, 1H), 4,85 (s, 2H), 4,46 (s, 2H), 2,30-2,26 (m, 1H), 2,22 (s, 6H), 1,10-0,96 (m, 4H). МС (ЭРИ+) m/z 256,1 ($\text{M-H}_2\text{O}+\text{H}$).

Стадия 6, пример 36. Рацемическая 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-((2,6-диметилфеноксид)метил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидрокси-1-пирролидин-1-ил)никотиновая кислота (36)



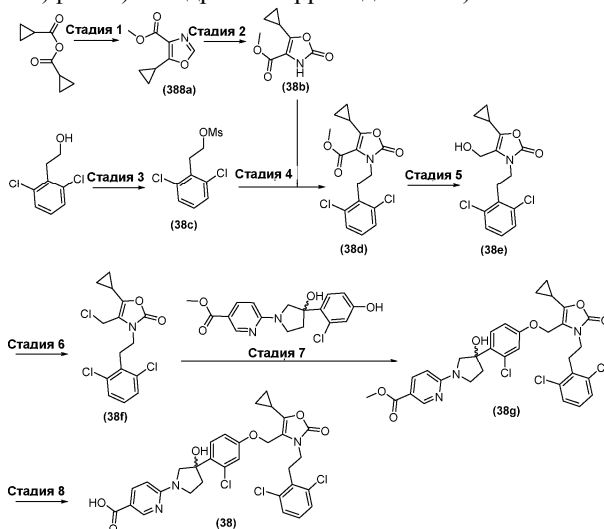
Указанное соединение синтезировали согласно процедуре, описанной для примера 33, с использованием (5-циклопропил-3-((2,6-диметилфенокси)метил)изоксазол-4-ил)метанола 36е в качестве исходного вещества. ^1H ЯМР (CD_3OD , 300 МГц): δ 8,69 (d, $J=1,5$ Гц, 1H), 8,05 (dd, $J=1,5, 6,9$ Гц, 1H), 7,66 (d, $J=6,6$ Гц, 1H), 7,12 (d, $J=1,8$ Гц, 1H), 6,99-6,89 (m, 4H), 6,56 (d, $J=6,9$ Гц, 1H), 5,06 (s, 2H), 4,91 (s, 2H), 4,14-4,00 (m, 2H), 3,79-3,71 (m, 2H), 2,88-2,81 (m, 1H), 2,43-2,39 (m, 1H), 2,28-2,24 (1H), 2,18 (s, 6H), 1,16-1,09 (m, 4H). МС (ЭРИ+) m/z 589,7 (M+H).

Пример 37. Рацемическая 6-(3-(2-хлор-4-((4-(2,6-дихлорфенил)-1-изопропил-1H-1,2,3-триазол-5-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота (35)



Указанный аналог синтезировали согласно процедуре, описанной для примера 33, с использованием в качестве исходного вещества (4-(2,6-дихлорфенил)-1-изопропил-1H-1,2,3-триазол-5-ил)метанола (приготовленного, как описано в WO2011/020615). ^1H ЯМР (CD_3OD , 300 МГц): δ 8,68 (d, $J=2,1$ Гц, 1H), 8,04 (dd, $J=2,1, 8,7$ Гц, 1H), 7,60-7,43 (m, 4H), 6,88 (d, $J=2,4$ Гц, 1H), 6,80 (dd, $J=2,4, 8,7$ Гц, 1H), 6,55 (d, $J=9,0$ Гц, 1H), 5,19 (s, 2H), 5,00-4,92 (m, 1H), 4,01 (br s, 2H), 3,81-3,70 (m, 2H), 2,89-2,77 (m, 1H), 2,37-2,30 (m, 1H), 1,70 (d, $J=6,9$ Гц, 6H). МС (ЭРИ+) m/z 601,6 (M+H).

Пример 38. Рацемическая 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенэтил)-2-оксо-2,3-дигидрооксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота (36)

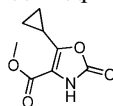


Стадия 1. Метил 5-циклопропилоксазол-4-карбоксилат (38a)



К раствору метил 2-изоцианоацетата (72,7 г, 729 ммоль) и DBU (111 г, 729 ммоль) в ТГФ (1 л) добавляли по частям раствор циклопропанкарбонowego ангидрида (112 г, 729 ммоль) в ТГФ (100 мл) при 5°C. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, концентрировали и очищали методом флэш-хроматографии (PE/EtOAc = 5:1) с получением метил 5-циклопропилоксазол-4-карбоксилата 38a. ^1H -ЯМР (CDCl_3 , 300 МГц): δ 1,04-1,18 (m, 4H), 2,74-2,79 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 7,60 (s, 1H).

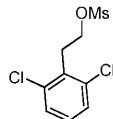
Стадия 2. Метил 5-циклопропил-2-оксо-2,3-дигидрооксазол-4-карбоксилат (38b)



Раствор метил 5-циклопропилоксазол-4-карбоксилата (36a, 36,4 г, 218 ммоль) и $\text{TsOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (82,9 г, 436 ммоль) в MeOH (600 мл) нагревали с обратным холодильником в течение ночи. Смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали под вакуумом. Остаток измельчали Et_2O и фильтровали с

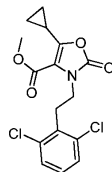
получением неочищенного метил 2-амино-3-циклопропил-3-оксопропаноата (62,8 г, 191 ммоль), который растворяли в ТГФ (1,5 л) и ТЭА (77,2 г, 764 ммоль). Затем к смеси добавляли трифосген (19,9 г, 67 ммоль) при -50°C в течение 1 ч. Раствор разбавляли Et₂O (500 мл) и добавляли насыщенный водный NH₄Cl (300 мл). Водную фазу разделяли и экстрагировали Et₂O (3×1 л). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (500 мл), высушивали над Na₂SO₄, концентрировали и очищали методом флэш-хроматографии (PE/EtOAc = 5:1) с получением метил 5-циклопропил-2-оксо-2,3-дигидрооксазол-4-карбоксилата 38b. ¹H-ЯМР (CDCl₃, 300 МГц): δ 0,99-1,11 (m, 4H), 2,41-2,50 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 8,57 (s, 1H).

Стадия 3. 2,6-Дихлорфенэтил метансульфонат (38с)



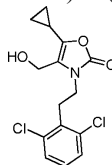
К раствору 2-(2,6-дихлорфенил)этанола (37,3 г, 195 ммоль) и ТЭА (32,7 г, 235 ммоль) в ДХМ (700 мл) по каплям добавляли MsCl (26,9 г, 235 ммоль) при 0°C. После добавления раствор перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, разбавляли водой (200 мл) и экстрагировали ДХМ (3×400 мл). Объединенный органический слой высушивали над Na₂SO₄, фильтровали, концентрировали и очищали методом флэш-хроматографии (PE/EtOAc = 5:1) с получением 2,6-дихлорфенэтил метансульфоната 38с. ¹H-ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 2,95 (s, 3H), 3,43 (t, J=7,5 Гц, 2H), 4,41 (t, J=7,5 Гц, 2H), 7,12-7,17 (m, 1H), 7,31 (d, J=8,4 Гц, 2H).

Стадия 4. Метил 5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенэтил)-2-оксо-2,3-дигидрооксазол-4-карбоксилат (38d)



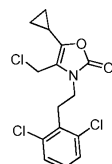
К раствору метил 5-циклопропил-2-оксо-2,3-дигидрооксазол-4-карбоксилата (38b, 23,5 г, 129 ммоль) в ДМФА (800 мл) добавляли NaN (5,7 г, 142 ммоль; 60% в минеральном масле) при 0°C в атмосфере азота. Смесь перемешивали в течение 15 мин, затем по каплям добавляли раствор 2,6-дихлорфенэтил метансульфоната (38с, 41,5 г, 154 ммоль) в ДМФА (400 мл) при 0°C. После добавления смесь перемешивали при 100°C в течение ночи, охлаждали, разбавляли водой (1500 мл) и экстрагировали EtOAc (3×700 мл). Объединенный органический слой промывали водой (2×200 мл) и солевым раствором (300 мл), высушивали над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток промывали PE/EtOAc (5:1) с получением метил 5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенэтил)-2-оксо-2,3-дигидрооксазол-4-карбоксилата 38d. ¹H-ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 0,97-1,08 (m, 4H), 2,44-2,49 (m, 1H), 3,31 (t, J=4,8 Гц, 2H), 3,73 (s, 3H), 4,26 (t, J=4,8 Гц, 2H), 7,08-7,12 (m, 1H), 7,26-7,28 (m, 2H).

Стадия 5. 5-Циклопропил-3-(2,6-дихлорфенэтил)-4-(гидроксиметил)оксазол-2(3H)-он (38е)



К раствору метил 5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенэтил)-2-оксо-2,3-дигидрооксазол-4-карбоксилата (38d, 13,9 г, 39 ммоль) в ТГФ (400 мл) добавляли раствор LiAlH₄ (16,3 мл, 39 ммоль) в ТГФ при 0°C в атмосфере азота. После добавления раствор перемешивали при 0°C в течение 30 мин, последовательно разбавляли H₂O (2 мл), 1 М NaOH (2 мл) и H₂O (6 мл), фильтровали и концентрировали под вакуумом. Остаток промывали PE/EtOAc (2:1) с получением 5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенэтил)-4-(гидроксиметил)оксазол-2(3H)-она 38е. ¹H-ЯМР (CD₃OD, 300 МГц): δ 0,73-0,77 (m, 2H), 0,83-0,88 (m, 2H), 1,75-1,79 (m, 1H), 3,30-3,38 (m, 2H), 3,95 (t, J=6,6 Гц, 2H), 4,10 (s, 2H), 7,20-7,25 (m, 1H), 7,37 (d, J=8,1 Гц, 2H), гидроксильный протон не отделяется. ЖХ/МС (ЭРИ): m/z 328,0 (M+H)⁺.

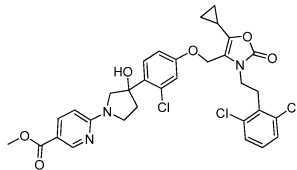
Стадия 6. 4-(Хлорметил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенэтил)оксазол-2(3H)-он (38f) (пример возможного использования)



При обработке 5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенэтил)-4-(гидроксиметил)оксазол-2(3H)-она 38е та-

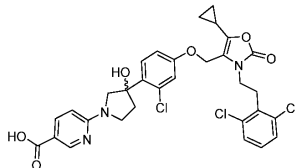
ким же образом, как описано для примера 33, стадия 1, можно получить 4-(хлорметил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенэтил)оксазол-2(3Н)-он.

Стадия 7. Метил 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенэтил)-2-оксо-2,3-дигидрооксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинат (36g)



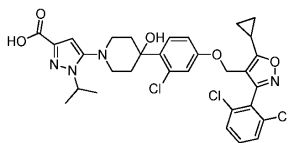
При обработке 4-(хлорметил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенэтил)оксазол-2(3Н)-она 38f и метил 6-(3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотината таким же образом, как описано выше, можно получить метил 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенэтил)-2-оксо-2,3-дигидрооксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинат 38g.

Стадия 8, пример 38. Рацемическая 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенэтил)-2-оксо-2,3-дигидрооксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновая кислота (38)



При обработке метил 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенэтил)-2-оксо-2,3-дигидрооксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотината 38g таким же образом, как описано выше, можно получить 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенэтил)-2-оксо-2,3-дигидрооксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксипирролидин-1-ил)никотиновую кислоту 38.

Пример 39. 5-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)-1-изопропил-1Н-пиразол-3-карбоновая кислота (39)



Стадия 1. (Z)-Этил 2-гидрокси-4-оксо-4-(1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)бут-2-еноат (39a).

К суспензии 1-(1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)этанона (4,0 г, 21,6 ммоль) в сухом ТГФ (100 мл) по каплям добавляли t-BuLi (25 мл, 1,3 М, 32,4 ммоль) при -78°C. Затем реакционную смесь оставляли для нагревания до комнатной температуры, перемешивали в течение следующих 5 ч, гасили насыщенным водн. NH₄Cl. Смесь экстрагировали EtOAc (100 мл×2), органический слой промывали H₂O (80 мл) и соевым раствором (80 мл), высушивали с использованием Na₂SO₄, фильтровали, концентрировали и остаток очищали с помощью хроматографии на силикагелевой колонке (PE:EtOAc = 5:1 to 2:1) с получением титульного соединения (4,6 г).

Стадия 2. Этил 1-изопропил-5-(1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)-1Н-пиразол-3-карбоксилат (39b).

К суспензии промежуточного соединения 39a (2,0 г, 7,0 ммоль) изопропилгидразин моногидрохлорида (1,0 г, 9,1 ммоль) и пиридина (3 мл) в ТГФ (40 мл) по частям при комнатной температуре добавляли реагент Лоуссона (Lawesson's reagent) (5,7 г, 14 ммоль). Полученную смесь нагревали до 60°C и перемешивали в течение 16 ч. Затем добавляли EtOAc (50 мл) и смесь промывали насыщ. NaHCO₃ (50 мл×2), водн. HCl (1 М, 50 мл) и соевым раствором (50 мл). Органическую фазу высушивали над Na₂SO₄, фильтровали, концентрировали и остаток очищали при помощи колонки с силикагелем (PE:EA = 5:1 до 2:1) с получением титульного соединения (0,7 г).

Стадия 3. Этил 1-изопропил-5-(4-оксопиперидин-1-ил)-1Н-пиразол-3-карбоксилат (39c).

Суспензию промежуточного соединения 39b (0,70 г, 2,3 ммоль, неочищенного) в ТГФ (10 мл) и H₂SO₄ (10%, 10 мл) перемешивали в течение 16 ч. Смесь разбавляли EtOAc (50 мл), промывали насыщ. NaHCO₃ (50 мл×2), водн. HCl (1 М, 50 мл) и соевым раствором (50 мл). Органическую фазу высушивали Na₂SO₄, фильтровали, концентрировали и остаток очищали на колонке с силикагелем (PE:EA = 5:1 до 2:1) с получением титульного соединения (0,61 г).

Стадия 4. Этил 5-(4-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)-1-изопропил-1Н-пиразол-3-карбоксилат (39d).

В круглодонную колбу добавляли LiCl (265 мг, 6,3 ммоль), сухой ТГФ (10 мл) при комнатной температуре и i-PrMgCl (1,9 мл, 2,0 М, 3,8 ммоль) в атмосфере N₂. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, затем по каплям добавляли раствор (4-бром-3-хлорфенокси)(трет-бутил)диметилсилана (1,1 г, 3,2 моль) в сухом ТГФ (2 мл) и перемешивание продолжали при комнатной

температуре в течение еще 1 ч.

После этого указанную реакционную смесь добавляли в раствор промежуточного соединения 39с (0,8 г, 2,9 ммоль) в сухом ТГФ (10 мл) в атмосфере N₂ и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь гасили H₂O (20 мл), экстрагировали EtOAc (30 мл×3). Органический слой промывали соевым раствором (20 мл), высушивали Na₂SO₄, фильтровали и очищали методом колоночной хроматографии на силикагеле (EA/PE = 1/20) с получением титульного соединения (350 мг).

Стадия 5. Этил 5-(4-(2-хлор-4-гидроксифенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)-1-изопропил-1Н-пиразол-3-карбоксилат (39е).

К суспензии 39d (0,3 г, 0,67 ммоль) в ТГФ (5 мл) добавляли TBAF (277 мг, 1,01 ммоль) при комнатной температуре и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем смесь гасили водой (20 мл), экстрагировали EtOAc (20 мл×3). Органическую фазу промывали соевым раствором (20 мл), высушивали Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали с получением титульного соединения, которое применяли непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки (0,23 г).

Стадия 6. Этил 5-(4-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)-1-изопропил-1Н-пиразол-3-карбоксилат (39f).

К суспензии промежуточного соединения 39е (230 мг, 0,56 моль), (5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метанола (158 мг, 0,56 моль) и PPh₃ (239 мг, 1,1 ммоль) в толуоле (10 мл) по каплям добавляли DIAD (226 мг, 1,1 ммоль) при 0°C. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Реакционную смесь разбавляли H₂O, экстрагировали EtOAc (20 мл×3) и органические слои концентрировали до сухости. Остаток очищали путем препаративной ТСХ (EtOAc/PE=1/1) с получением титульного соединения (220 мг).

Стадия 7, пример 39. 5-(4-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-4-гидроксипиперидин-1-ил)-1-изопропил-1Н-пиразол-3-карбоновая кислота (39).

Суспензию промежуточного соединения 39f (180 мг, 0,267 ммоль) в MeOH (10 мл) и водн. NaOH (10%, 10 мл) перемешивали при 30°C в течение 4 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении, добавляли HCl (1 М) до достижения pH 2-3 и полученный осадок отфильтровывали и высушивали под вакуумом с получением согласно примеру 39 (100 мг). ¹H-ЯМР (400 МГц, CD₃Cl): δ ppm 7,43-7,39 (m, 3H), 7,36-7,31 (m, 1H), 6,83 (d, J=2,0 Гц, 1H), 6,72 (dd, J=8,8 Гц, 2,0 Гц, 1H), 6,51 (s, 1H), 4,81 (s, 2H), 4,71-4,65 (m, 1H), 3,29-3,25 (m, 2H), 2,98-2,93 (m, 2H), 2,245-2,37 (m, 2H), 2,17-2,05 (m, 3H), 1,47 (d, J=6,0 Гц, 6H), 1,32-1,25 (m, 2H), 1,18-1,12 (m, 2H). MS-ЭПИ: m/z 645,3/647,3 [M+H]⁺ 667,3/669,3 [M+Na]⁺.

Исследования

Анализ активности FRET.

Определение лиганд-опосредованного взаимодействия кофактора и пептида для количественной оценки связывания лиганда с ядерным рецептором FXR проводили следующим образом. Подготовка лиганд-связывающего домена FXR-альфа человека: ЛСД FXR-альфа человека экспрессировали в штамме BL21(DE3) E. coli как гибридный белок, который помечен N-концевой GST. ДНК, которая кодирует домен связывания лиганда FXR, клонировали в вектор pDEST15 (Invitrogen). Экспрессия проводилась под контролем промотора T7, который индуцируется IPTG. Аминокислотные границы лиганд-связывающего домена представляли собой аминокислоты 187-472 в записи базы данных NM_005123 (RefSeq). Экспрессия и очистка FXR-ЛСД: предварительно культивируемую в течение ночи культуру трансформированного штамма E. coli разбавляли 1:20 в среде LB с ампициллином и выращивали при 30°C до оптической плотности OD₆₀₀=0,4-0,6. Экспрессия гена затем была индуцирована посредством добавления 0,5 mM IPTG. Клетки инкубировали в течение 6 дополнительных часов при 30°C, 180 об/мин. Клетки собирали центрифугированием (7000×g, 7 мин, при комнатной температуре). Клетки ресуспендировали в 10 мл лизирующего буфера (50 mM глюкозы, 50 mM Tris pH 7,9, 1 mM ЭДТА и 4 мг/мл лизоцима) на 1 л исходной культуры клеток и оставляли на льду на 30 мин. Затем клетки разрушали ультразвуком и остатки клеток удаляли центрифугированием (22000×g, 30 мин, 4°C). На 10 мл супернатанта добавляли 0,5 мл предварительно промытой суспензии глутатион 4В сефарозы (Qiagen) и полученную суспензию выдерживали при медленном вращении в течение 1 ч при 4°C. Гранулы глутатион 4В сефарозы осаждали центрифугированием (2000×g, 15 с, 4°C) и дважды промывали в промывочном буфере (25 mM Tris, 50 mM KCl, 4 mM MgCl₂ и 1 M NaCl). Осадок ресуспендировали в 3 мл буфера для элюирования на 1 л исходной культуры (буфер для элюирования: 20 mM Tris, 60 mM KCl, 5 mM MgCl₂ и 80 mM глутатиона, который добавляли непосредственно перед использованием буфера в виде порошка). Суспензию оставляли вращаться в течение 15 мин при 4°C, гранулы осаждали и снова элюировали половиной объема буфера для элюирования по сравнению с предыдущим элюированием. Элюаты объединяли и подвергали диализу в течение ночи в 20 mM буфере Hepes (pH 7,5), который содержал 60 mM KCl, 5 mM MgCl₂, а также 1 mM дитиотреитол и 10 об./об.% глицерина. Белок анализировали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии СДС-ПААГ.

Данный способ позволяет измерить способность предполагаемых лигандов модулировать взаимодействие между очищенным лиганд-связывающим доменом (ЛСД) FXR, экспрессированным в бактериях, и синтетическим биотинилированным белком на основе остатков 676-700 SRC-1 (LCD2, 676-700).

Последовательность использованного белка представляла собой B-CPSSHSSLTERHKILHRLQLQEGSPS-COOH, где N-конец был биотинилирован (В). Лиганд-связывающий домен (ЛСД) FXR экспрессировали как гибридный белок с GST в клетках BL-21 с использованием вектора pDEST15. Клетки лизировали ультразвуком и гибридные белки очищали через глутатион-сефарозу (Pharmacia) в соответствии с инструкциями производителя. Для определения влияния соединений на взаимодействие FXR-белок применяли методику Perkin Elmer LANCE. В основе указанной методики лежит зависимый от связывания переноса энергии от донора к акцептору флуорофор, который присоединен к исследуемому связывающемуся партнеру. Для упрощения проведения операций и снижения фоновой интенсивности соединения во флуоресцентной методике LANCE используют универсальные метки флуорофора, и исследования с временным разрешением проводили в конечном объеме 25 мкл в 384-луночной планшете, в буфере на основе Tris (20 mM Tris-HCl pH 7,5; 60 mM KCl, 5 mM MgCl₂; 35 нг/мкл BCA), который содержит 20-60 нг на лунку рекомбинантно экспрессированного FXR-ЛСД, гибридного с GST, 200-600 нМ биотинилированного на N-конце белка, который представляет 676-700 аминокислоты SRC1, 200 нг на лунку конъюгата стрептавидин-xIAPC (Prozyme) и 6-10 нг на лунку Eu W1024 - анти-GST (Perkin Elmer). Содержание ДМСО в пробах поддерживали на уровне 1%. После получения исследуемой смеси и разбавления потенциальных FXR-модулирующих лигандов исследование приводили в равновесие в течение 1 ч в темноте при комнатной температуре в 384-луночной FIA-планшете (Greiner). Сигнал LANCE детектировали с помощью Perkin Elmer VICTOR2VTM Multilabel Counter. Результаты визуализировали путем построения диаграммы соотношений между излученным светом при 665 и 615 нм. Базовый уровень образования комплекса FXR-белок наблюдался в отсутствии добавления лиганда. Лиганды, которые активируют образование комплекса, вызывают зависимое от концентрации увеличение сигнала флуоресценции с временным разрешением. Предположительно соединения, которые связываются одинаково хорошо и с мономерным FXR, и с комплексом FXR-белок, не будут давать изменений в сигнале, тогда как лиганды, которые связываются преимущественно с мономерным рецептором, предположительно вызовут уменьшение наблюдаемого сигнала в зависимости от концентрации.

Для оценки агонистического потенциала соединений определяли значения EC₅₀ для соединений, представленных в примерах, перечисленных ниже в табл. 1 (FRET EC₅₀).

Анализ гибрида 1 млекопитающего (M1H).

Определение управляемой транскрипции промотора Gal4, опосредованной лигандом, для измерения активации FXR, опосредованной связыванием лиганда, проводили следующим образом: часть кДНК, кодирующую домен, связывающий лиганд FXR, клонировали в вектор pCMV-BD (Stratagene), в виде гибрида ДНК-связывающего домена дрожжей Gal4 под контролем промотора ЦМВ. Аминокислотные границы лиганд-связывающего домена представляли собой аминокислоты 187-472 в записи базы данных NM_005123 (RefSeq). В качестве репортерной плазмиды использовали плазмиду pFR-Luc (Stratagene), которая содержит синтетический промотор с пятью тандемными повторами в дрожжевых Gal4-связывающих сайтах, управляющий экспрессией гена люциферазы *Photinus pyralis* (американский светлячок), в качестве репортерного гена. Для увеличения точности исследований плазмиду pRL-CMV (Promega) котрансфецировали. pRL-CMV содержит конститутивный CMV промотор, который контролирует экспрессию люциферазы *Renilla reniformis*. Все исследования Gal4 репортерного гена проводили на клетках HEK293 (полученных из DSMZ, Брауншвейг, Германия), выращенных в МОС с L-глутамином и ССР Эрла, дополненной 10% эмбриональной бычьей сывороткой, 0,1 mM неосновными аминокислотами, 1 mM пируватом натрия и 100 единицами пенициллина/стрептавидина на 1 мл при 37°C в 5% CO₂. Среда и добавки были получены из Invitrogen. Для анализа 5×10⁵ клеток на лунку помещали в лунки 96-луночных планшетов в 100 мкл на лунку МОС без фенола красного и L-глутамин и с ССР Эрла с добавлением ЭБС (HyClone, Южный Логан, Юта), обработанной 10% угля/декстрана, 0,1 mM неосновных аминокислот, 2 mM глутамин, 1 mM пирувата натрия и 100 единиц пенициллина/стрептавидина на 1 мл для инкубирования при 37°C в 5% CO₂. На следующий день клетки были соединены более чем на 90%. Среду удаляли и клетки кратковременно трансфецировали с использованием 20 мкл на лунку OptiMEM - реагента для трансфекции на основе полиэтиленимина (OptiMEM, Invitrogen; полиэтиленимин, Aldrich кат. № 40,827-7), включая три плазмиды, описанные выше. МОС вместе с той же композицией, которая использовалась для выращивания клеток, добавляли через 2-4 ч после добавления трансфекционной смеси. Затем была добавлена совокупная смесь, предварительно растворенная в МОС (конечная концентрация носителя не превышала 0,1%). Клетки инкубировали в течение дополнительных 16 ч перед последовательным измерением активности люцифераз светлячка и *renilla* в тех же самых клеточных экстрактах с использованием системы двойного анализа света люциферазы (Dyer et al., Anal. Biochem., 2000, 282, 158-161). Все эксперименты проводили в трех повторностях. Для анализа FXR-агонистической активности, приведенных в примерах соединений, активность определяли в анализе M1H, как показано ниже в табл. 1 (M1H EC₅₀).

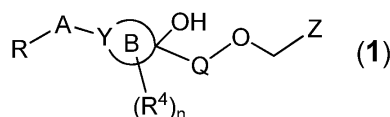
Таблица 1

Пример	FRET IC50 (нМ)	M1H EC50 (нМ)
1	88,8	167,1
1C	134,0	479,5
2	29,1	363,7
2A	133,6	2049,0
2B	23,6	217,4
3	183,5	1764,6
4	95,5	722,2
5	531,5	1299,5
6	10,3	12,1
6a	5,2	5,6
6b	25,8	134,5
7	8,7	206,5
7a	25,1	855,0
7b	5,3	52,3
8	43,6	894,5
8a	110,2	2518,4
8b	33,2	1538,2
9	71,5	205,3
9a	41,1	76,6
9b	147,8	476,6
10	95,0	257,7
11	198,9	172,3
12	84,2	129,0
13	83,3	131,6
14	25,8	60,6
15	30,5	82,7
16	36,7	732,9
17	13,2	90,9
18	31,2	150,5
19	19,9	3000,0
20	57,7	834,0

21	18,9	2419,5
22f		139,0
22g		117,0
23	21,6	
24	26,2	207,9
25	819,5	1596,0
26	32,1	137,2
27	252,7	1866,0
28	249,2	121,1
29	451,3	328,2
30	2220,8	3000,0
31	1236,6	3000,0
32	187,4	314,7
33	26	127,7
34	42	980
35	7,2	68
36	10	5,0
37	148	1750
38		
39	9,5	13,0

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение согласно формуле (1) или его фармацевтически приемлемая соль



где R выбран из группы, состоящей из CO₂H, C(O)NH₂, тетразол-5-ила, C(O)NHCH₂CO₂H и C(O)NH(CH₂)₂SO₃H;

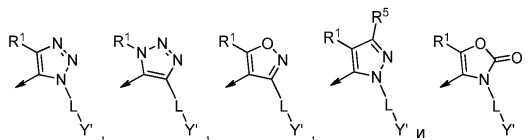
A представляет собой фенил, пиридил, тиазолил, бензо[d]тиазол-2,6-диил или 1-изопропил-пиразолил-3,5-диил, причем фенил и пиридил являются незамещенными или замещенными одной группой, выбранной из фторо, метокси и трифторметила;

B представляет собой пиперидинил, пирролидинил, 8-азабицикло[3.2.1]октанил или циклопентил, причем заместитель Q не является расположенным непосредственно рядом с заместителем A;

Q представляет собой фенил, замещенный хлором, или метил;

Y представляет собой N или CH;

Z выбран из



где L выбран из группы, состоящей из связи, -(CH₂)₂- и -CH₂O-;

Y' выбран из фенила, 3,5-дихлоропиридил-4-ила и 1-оксо-3,5-дихлоропиридил-4-ила, где фенил замещен одной или двумя группами, выбранными из хлоро, дифторметокси, трифторметокси и метила;

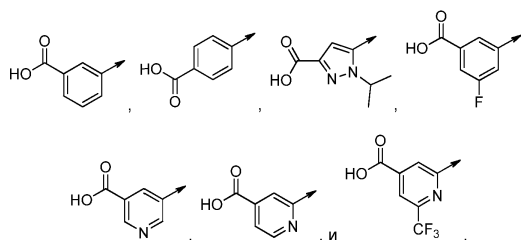
R¹ выбран из группы, состоящей из циклопропила, 2-фторпроп-2-ила, 2-гидроксипроп-2-ила и изопропила;

R⁵ представляет собой водород.

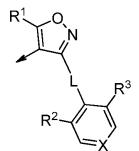
2. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R представляет собой CO₂H.

3. Соединение по п.1 или 2, отличающееся тем, что A представляет собой пиридил.

4. Соединение по п.1 или 2, отличающееся тем, что R-A выбран из



5. Соединение по любому из пп. 1-4, отличающееся тем, что Z представляет собой



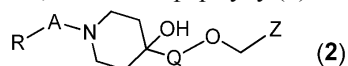
где L представляет собой связь;

X представляет собой CH;

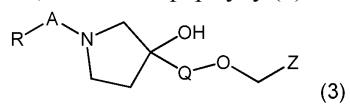
R² выбран из группы, состоящей из хлора, диформетокси, трифторметокси и метила;

R³ выбран из группы, состоящей из водорода, хлора, диформетокси, трифторметокси и метила.

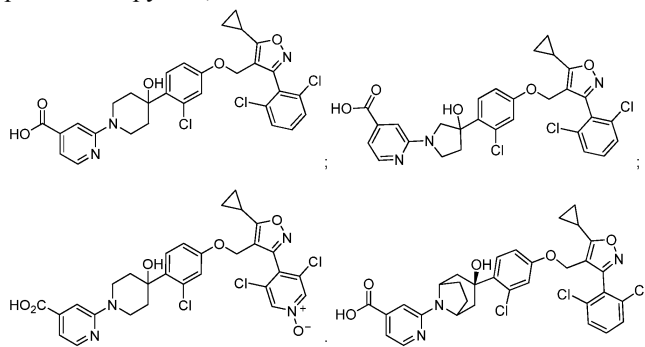
6. Соединение по любому из пп. 1-5, имеющее формулу (2)

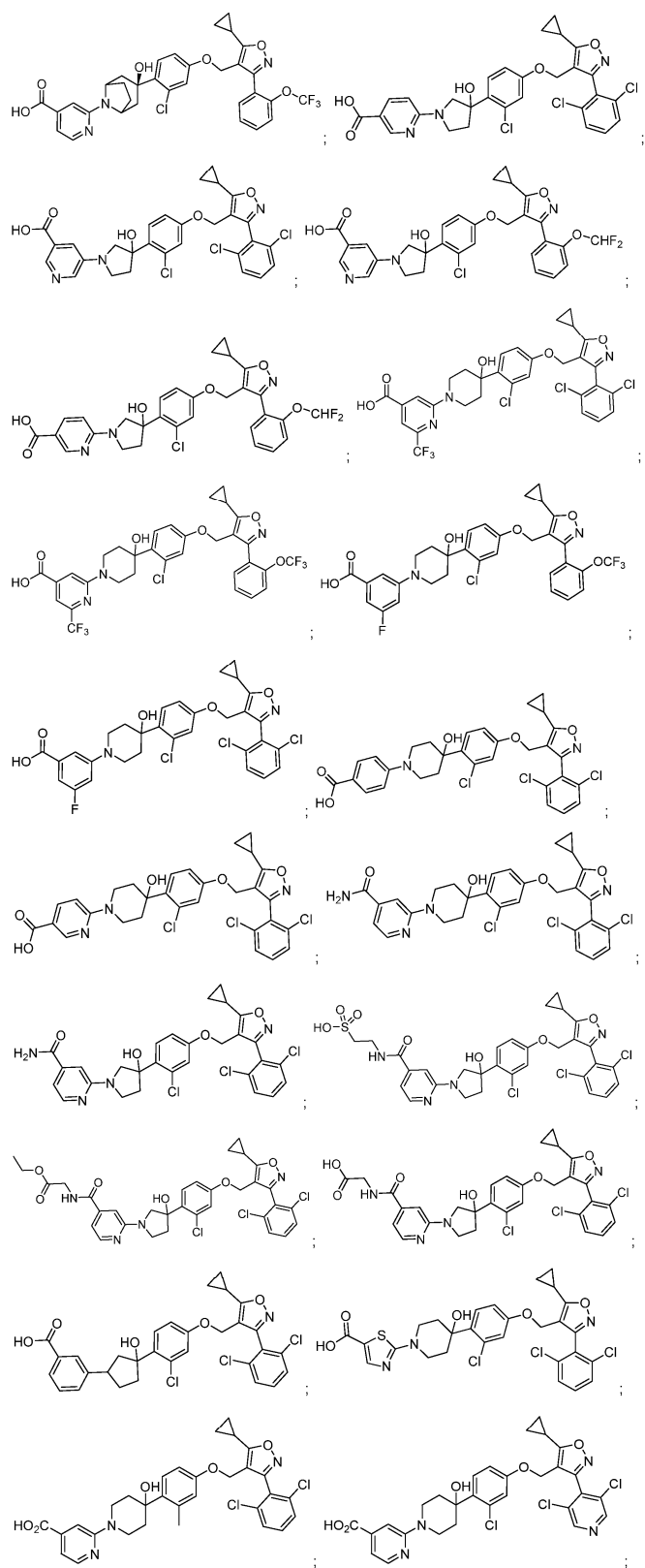


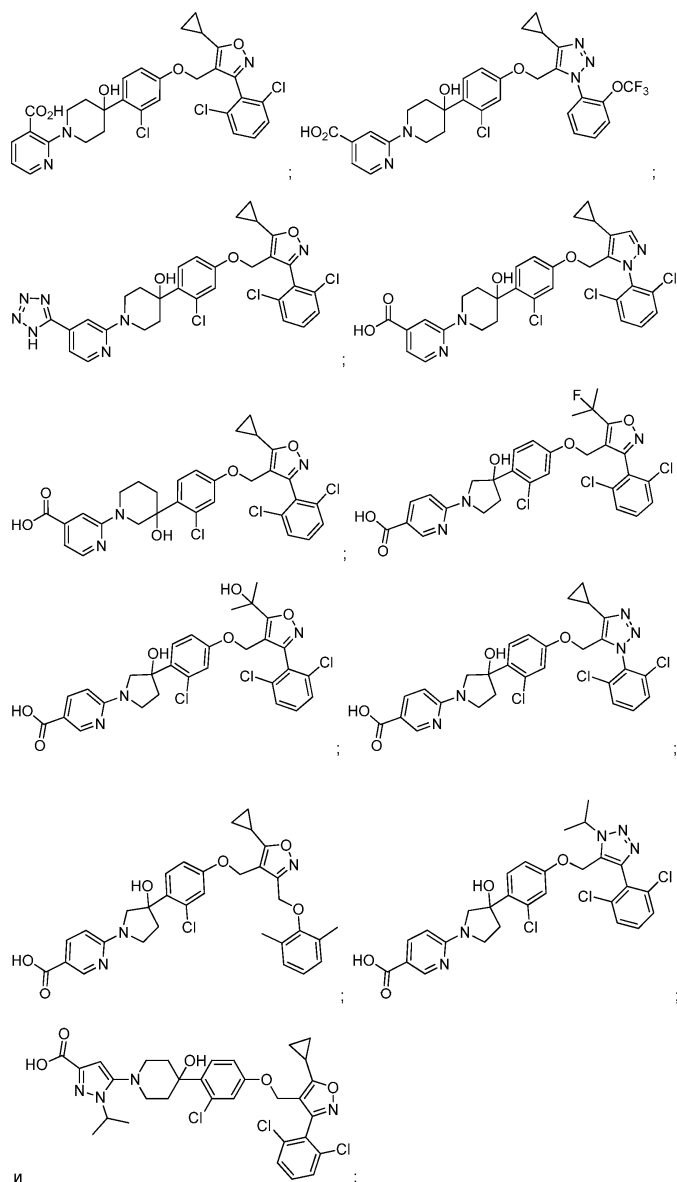
7. Соединение по любому из пп. 1-5, имеющее формулу (3)



8. Соединение, выбранное из группы, состоящей из







или его фармацевтически приемлемая соль.

9. Применение соединения по любому из пп.1-8 в качестве лекарственного средства для профилактики и/или лечения заболеваний, опосредованных FXR.

10. Применение соединения по п.9, отличающееся тем, что указанное заболевание выбрано из хронических внутрипеченочных или некоторых форм внепеченочных холестатических состояний; фиброза печени; обструктивных или хронических воспалительных расстройств печени; цирроза печени; стеатоза печени и ассоциированных синдромов, холестатических и фибротических эффектов, которые связаны с вызванным алкоголем циррозом или с передаваемыми вирусами формами гепатита; печеночной недостаточности или ишемии печени после обширной резекции печени; стеатогепатита, связанного с химиотерапией (CASH); острой печеночной недостаточности и воспалительных заболеваний кишечника.

11. Применение соединения по п.9, отличающееся тем, что указанное заболевание выбрано из липидных и липопротеиновых расстройств; диабета II типа и клинических осложнений диабета I и II типов, включая диабетическую нефропатию, диабетическую нейропатию, диабетическую ретинопатию и другие наблюдаемые эффекты клинического проявления длительного диабета; состояний и заболеваний, возникающих в результате хронической жировой и фиброзной дегенерации органов вследствие усиленного накопления липидов и конкретно триглицеридов и последующей активации профиброзных путей, таких как неалкогольная жировая болезнь печени (НЖБП) или неалкогольный стеатогепатит (НАСГ); ожирения или метаболического синдрома (общие состояния дислипидемии, диабета и аномально высокого индекса массы тела); острого инфаркта миокарда, острого инсульта или тромбоза, который случается в качестве конечной стадии хронического обструктивного атеросклероза.

12. Применение соединения по п.9, отличающееся тем, что указанное заболевание выбрано из злокачественных гиперпролиферативных расстройств и злокачественных гиперпролиферативных расстройств.

13. Применение соединения по п.12, отличающееся тем, что указанное заболевание выбрано из гепатоцеллюлярной карциномы, аденомы и полипоза толстой кишки, аденокарциномы толстой кишки, рака груди, аденокарциномы поджелудочной железы и пищевода Барретта.

