

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037280**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.03.03

(21) Номер заявки
201890694

(22) Дата подачи заявки
2016.09.08

(51) Int. Cl. **C07D 471/04** (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61P 19/06 (2006.01)

(54) **ГРУППА СОЕДИНЕНИЙ, ПРИМЕНЯЮЩИХСЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИЛИ
ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ГИПЕРУРИКЕМИИ ИЛИ ПОДАГРЫ**

(31) **201510576110.7**

(32) **2015.09.10**

(33) **CN**

(43) **2018.10.31**

(86) **PCT/CN2016/098468**

(87) **WO 2017/041732 2017.03.16**

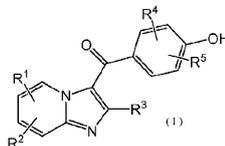
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ЦЗЯНСУ АТОМ БАЙОСАЙЕНС ЭНД
ФАРМАСЬЮТИКАЛ КО., ЛТД. (CN)**

(72) Изобретатель:
**Ши Дунфан, Фу Чанцинъ, Чэн Си,
Чжу Цзянхуа, Вэнь Цзе, Гу Цзе (CN)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) FR-B1-2647451
US-A-4400387
WO-A1-2014017643
MOOG, C. et al., "Bicyclic imidazo
derivatives, a new class of highly selective inhibitors
for the human immunodeficiency virus type 1",
ANTIVIRAL RESEARCH, vol. 24, no. 4, 31 August
1994 (31.08.1994), ISSN: 0166-3542, page 280,
compound MS-1058

(57) В изобретении раскрыт класс соединений для лечения или предупреждения гиперурикемии или подагры, к которому относится соединение общей формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль. Эти соединения и их фармацевтически приемлемые соли, предлагаемые в настоящем изобретении, применимы для стимулирования выведения мочевой кислоты для лечения или предупреждения гиперурикемии или подагры

**B1****037280****037280****B1**

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к области медицинской химии и, в частности, относится к классу производных (4-гидроксифенил)(имидазо[1,2-а]пиримидин-3-ил)метанона, содержащим их композициям и их применению в медицине.

Уровень техники

Подагра представляет собой метаболическое заболевание, вызванное хронически повышенными содержаниями в сыворотке мочевой кислоты (sUA) (гиперурикемия) вследствие нарушения метаболизма пурина и/или вследствие недостаточного выведения мочевой кислоты почками. Осаждение игольчатых кристаллов урата в суставах приводит к болезненному воспалительному артриту. Гиперурикемия, определяемая как наличие sUA в концентрации, большей или равной 6,8 мг/дл, может привести к осаждению урата в виде моновалентной соли в синовиальной жидкости мягких тканей человека, хрящах периферических суставов, ушной раковине и локтевой подкожной сумке. При наличии таких симптомов можно диагностировать подагру (Terkeltaub R.A. Crystal Deposition Diseases. In: Goldman L, Ausiello D, eds. The Cecil Textbook of Medicine, 23rd ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier Co; 2008:2069-2075; Richette P., Bardin T. Gout. Lancet. 2010, 375(9711):318-328).

Подагра является обычным типом воспалительного артрита и встречается с частотой, равной примерно 1-2%. В развивающихся странах частота относительно высока, по данным обзоров 2007-2008 гг. в США имелось примерно 8,3 миллионов пациентов с подагрой. В Китае частота подагры за последнее десятилетие резко увеличилась. Сообщают, что количество пациентов с подагрой в Китае превысило 50 млн. и доля мужчин с подагрой намного больше, чем женщин.

В настоящее время средства лечения подагры включают кратковременное лечение для устранения боли и уменьшения воспаления при остром приступе, ингибирование выработки мочевой кислоты и стимулирование выведения мочевой кислоты. Средства для лечения острого приступа подагры в основном включают колхицин, нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (NSAIDs), аденокортикотропный гормон и глюкокортикоид.

Длительное лечение подагры включает снижение образования мочевой кислоты и/или усиление выведения мочевой кислоты почками. Аллопуринол и юлорик являются чаще используемыми лекарственными средствами для уменьшения образования мочевой кислоты. Механизм действия этих лекарственных средств заключается в уменьшении образования мочевой кислоты путем ингибирования ксантиноксидазы, необходимой для превращения пурина в мочевую кислоту. Средства, способствующие выведению мочевой кислоты, являются вторым имеющимся в настоящее время классом средств, снижающих содержание урата, и они действуют путем усиления выведения мочевой кислоты почками. В основном они включают пробенецид, сульфинпиразон и бензбромарон и т.п.

Лечение острого приступа подагры может лишь обеспечивать борьбу с симптомами и уменьшать боль у пациентов, но не может уменьшить концентрацию sUA. Колхицин является очень токсичным и часто приводит обычным побочным реакциям, такими как диарея, рвота и спазмы из-за боли в животе. Аллопуринол является одним из ингибиторов ксантиноксидазы. Его необходимо использовать в большой дозе и у некоторых людей он может вызвать летальный синдром Стивенса Джонсона (полиморфная эритема кожи), часто сопровождающийся дискомфортом в желудке, тошнотой, диареей, головной болью, лихорадкой, потерей аппетита, потерей массы, болью при мочеиспускании, гематурией и другими побочными эффектами. Другой ингибитор ксантиноксидазы называется юлориком (фебуксостат), он был выпущен в Европе и США в 2009 г. Хотя юлорик обнаружил хорошую эффективность при уменьшении содержания мочевой кислоты в организме, ему также присущи очень тяжелые побочные эффекты, такие как нарушения сердечно-сосудистой системы и дискомфорт в желудочно-кишечном тракте, может вызывать головную боль и поражение печени. Бензбромарон обладает хорошей эффективностью при выведении мочевой кислоты, но приводит к смертельному поражению печени. И пробенецид, и сульфинпиразон являются средствами, способствующими выведению мочевой кислоты, применяющимися в высоких дозах с низкой эффективностью и приводящими к плохим побочным эффектам.

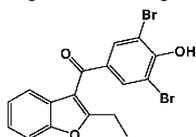
Механизм действия средств, способствующих выведению мочевой кислоты, включает ингибирование повторного всасывания мочевой кислоты в клетках проксимальных канальцев для усиления выведения мочевой кислоты почками и уменьшения концентрации мочевой кислоты в крови. Примерно 70% мочевой кислоты у людей выводится почками и примерно у 80-85% пациентов гиперурикемия вызвана нарушением выведения мочевой кислоты (Cheeseman C. Solute carrier family 2, member 9 and uric acid homeostasis. Current Opinion in Nephrology and Hypertension, 2009, 18 (5): 428-432).

Выведение мочевой кислоты играет очень важную роль при лечении гиперурикемии и подагры. Переносчик 1 аниона урата у человека (hURAT1) находится в мембране клеток проксимальных канальцев и он относится к надсемейству переносчиков органических ионов (OAT), которые кодируются геном SLC22A12. Его кДНК обладает несколькими мутациями, которые приводят к аномалии метаболизма мочевой кислоты. Метаанализ показывает, что этот ген содержит 0,13% переменных, способствующих накоплению мочевой кислоты в сыворотке (So A., Thorens B. Uric acid transport and disease. Journal of Clinical Investigation., 2010, 120 (6): 1791-1799).

URAT1 контролирует повторное всасывание более 90% мочевой кислоты после клубочкового

фильтрации. Поэтому селективное ингибирование URAT1 может уменьшить повторное всасывание мочевой кислоты и стимулировать выведение мочевой кислоты почками для уменьшения содержания мочевой кислоты в организме (Michael F.W., Jutabha P., Quada B. Developing potent human uric acid transporter 1 (hURAT1) inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2011, 54:2701-2713).

В настоящее время бензбромарон в качестве ингибитора URAT1 все еще широко используется в медицине для лечения подагры. Его химическим названием является (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-этилбензофуран-3-ил)метанон, который разработан фирмой France Snaofi-Synthelabo company и выпущен в 1976 г. Он является наиболее эффективным средством, способствующим выведению мочевой кислоты, имеющимся в продаже, и использовался в течение почти 40 лет. Однако применение бензбромарона не было утверждено в США и он был исключен из обращения на большинстве европейских рынков в 2003 г. вследствие его сильного побочного токсического влияния на печень (Jansen T.L., Reinders M.K., van Roon E.H., et al. Benzbromarone withdrawn from the European market: another case of "absence of evidence is evidence of absence". *Clinical Experimental Rheumatology*, 2004, 22(5): 651). Другим недостатком является то, что он оказывает сильное ингибирующее воздействие на фермент CYP2C9 печени. Однако более чем в 20 странах, таких как Китай, Германия, Япония, Бразилия и Новая Зеландия, его все еще применяют вследствие отсутствия на рынке хороших лекарственных средств для лечения подагры



Бензбромарон.

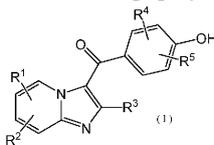
Исследования показали, что скоротечное или смертельное поражение печени бензбромароном связано с его реакционноспособными метаболитами. Возможный механизм токсического воздействия на печень может включать биоактивацию бензбромарона путем последовательного гидроксирования бензофуранового кольца с образованием 6-гидроксибензбромарона и пирокатехина с помощью CYP2C9, которые могут далее окисляться ферментами P450s с образованием реакционноспособных метаболитов хинона, способных присоединять тиольные реагенты/цистеиновые остатки (Matthew G. McDonald, Rettie AE. Sequential metabolism and bioactivation of the hepatotoxin benzbromarone: formation of glutathione adducts from a catechol intermediate. *Chemical Research in Toxicology*. 2007, 20 (12) :1833-1842).

Бензбромарон также приводит к другим побочным эффектам, таким как диарея, дискомфорт в желудке, тошнота, симптомы пищеварительной системы, кожные аллергии, такие как пятна, покраснение, зуд и т.д.

В настоящее время тяжелые побочные эффекты при использовании средств, способствующих выведению мочевой кислоты, или ингибиторов ксантиноксидазы сильно влияют на долговременное применение этих средств лечения подагры. Поэтому критически важна разработка лекарственных средств для лечения подагры, которые высокоэффективны и характеризуются низкой токсичностью.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к соединению формулы (I)



или его фармацевтически приемлемой соли,

где

R^1 и R^2 независимо выбраны из группы, включающей водород, дейтерий, галоген, цианогруппу, гидроксигруппу, C_{1-5} алкил, замещенный C_{1-5} алкил, C_{1-3} алкоксигруппу, замещенную C_{1-3} алкоксигруппу в одном или большем количестве;

R^3 выбран из группы, включающей C_{1-4} алкил или C_{3-4} циклоалкил;

R^4 и R^5 независимо выбраны из группы, включающей галоген, цианогруппу, C_{1-3} алкил, замещенный C_{1-3} алкил, C_{1-3} алкилтиогруппу или замещенную C_{1-3} алкилтиогруппу в одном или большем количестве; где его заместители в R^1 , R^2 , R^4 и R^5 независимо выбраны из галогена.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, обладающей ингибирующим действием на переносчик 1 аниона урата (URAT1), включающей в качестве активного ингредиента вышеуказанное соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

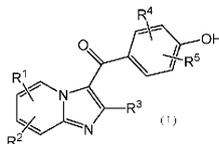
В еще одном другом аспекте настоящее изобретение относится к применению вышеуказанного соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли для приготовления лекарственного средства для увеличения выведения мочевой кислоты.

В еще одном другом аспекте настоящее изобретение относится к применению вышеуказанного соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли для приготовления лекарственного

средства для лечения или предупреждения гиперурикемии, нефроза или подагры.

Результаты исследований *in vitro* и *in vivo* показали, что соединения формулы (I), предлагаемые в настоящем изобретении, могут значительно улучшить ингибирующее воздействие на URAT1, а также значительно увеличить выведение мочевой кислоты у мышей и уменьшить токсичность по отношению к нормальным клеткам печени по сравнению с бензбромароном. Максимальная переносимая пероральная доза при исследовании острой токсичности на крысах показала, что токсичность соединений, предлагаемых в настоящем изобретении, намного меньше, чем у бензбромарона. Исследования показали, что соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, высокоэффективно для выведения мочевой кислоты и обладает низкой токсичностью.

Варианты осуществления настоящего изобретения можно охарактеризовать следующим образом: Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, описываются формулой (I)



или его фармацевтически приемлемая соль, в которой

R^1 и R^2 независимо выбраны из группы, включающей водород, дейтерий, галоген, цианогруппу, гидроксигруппу, C_{1-5} алкил, замещенный C_{1-5} алкил, C_{1-3} алкоксигруппу, замещенную C_{1-3} алкоксигруппу в одном или большем количестве;

R^3 выбран из группы, включающей C_{1-4} алкил или C_{3-4} циклоалкил;

R^4 и R^5 независимо выбраны из группы, включающей галоген, цианогруппу, C_{1-3} алкил, замещенный C_{1-3} алкил, C_{1-3} алкилтиогруппу или замещенную C_{1-3} алкилтиогруппу в одном или большем количестве; где его заместители в R^1 , R^2 , R^4 и R^5 независимо выбраны из галогена.

В предпочтительном варианте R^1 и R^2 независимо выбраны из группы, включающей водород, дейтерий, фтор, хлор, бром, цианогруппу, гидроксигруппу, C_{1-3} алкил, замещенный C_{1-3} алкил, C_{1-3} алкоксигруппу или замещенную C_{1-3} алкоксигруппу в одном или большем количестве; где заместители независимо выбраны из галогена.

В более предпочтительном варианте R^1 и R^2 независимо выбраны из группы, включающей водород, дейтерий, фтор, хлор, бром, CN, C_{1-3} алкил, C_{1-3} галогенированный алкил или C_{1-3} алкоксигруппу в одном или большем количестве.

В еще одном другом варианте R^3 выбран из группы, включающей C_{1-3} алкил и C_{3-4} циклоалкил.

В еще одном другом варианте R^4 и R^5 независимо выбраны из группы, включающей галоген, цианогруппу, C_{1-2} алкил, замещенный C_{1-2} алкил, C_{1-2} алкилтиогруппу или замещенную C_{1-2} алкилтиогруппу в одном или большем количестве; где заместители независимо выбраны из галогена.

В еще одном другом варианте R^4 и R^5 независимо выбраны из группы, включающей галоген, цианогруппу, C_{1-2} алкил, C_{1-2} галогенированный алкил или C_{1-2} алкилтиогруппу в одном или большем количестве.

В еще одном другом варианте наиболее предпочтительные соединения формулы (I) выбраны из группы, включающей

(3, 5-Дибром-4-гидроксифенил) (2-этилимидазо[1, 2-а] пиридин-3-ил) метанон;
 (2-Этилимидазо[1, 2-а] пиридин-3-ил) (4-гидрокси-3, 5-дийодфенил) метанон;
 (3-Хлор-4-гидроксифенил) (2-этилимидазо[1, 2-а] пиридин-3-ил) метанон;
 (3-Хлор-4-гидрокси-5-йодфенил) (2-этилимидазо[1, 2-а] пиридин-3-ил) метанон;
 3-Хлор-5- (2-этилимидазо[1, 2-а] пиридин-3-карбонил) -2-гидроксибензонитрил;

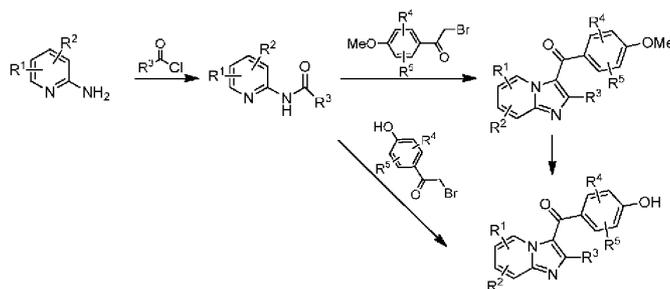
(3-Бром-4-гидрокси-5-йодфенил) (2-этилимидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) метанон;
 (2-Этилимидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) (4-гидрокси-3-йод-5-метилфенил) метанон;
 (3-Бром-5-хлор-4-гидроксифенил) (2-этил-6-фторимидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) метанон;
 (3-Хлор-4-гидрокси-5-йодфенил) (2-этил-6-фторимидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) метанон;
 5- (2-Этилимидазо [1, 2-а] пиридин-3-карбонил) -2-гидрокси-3-метилбензонитрил;
 (3-Бром-4-гидрокси-5- (трифторметил) фенил) (2-этилимидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) метанон
 (3, 5-Дибром-4-гидроксифенил) (2-этил-6-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) метанон;
 (3, 5-Дибром-4-гидроксифенил) (2-этил-6-метоксиимидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) метанон;
 3-Бром-5- (2-этилимидазо [1, 2-а] пиридин-3-карбонил) -2-гидроксибензонитрил;
 5- (2-Этилимидазо [1, 2-а] пиридин-3-карбонил) -2-гидрокси-3-йодбензонитрил;
 5- (2-Этилимидазо [1, 2-а] пиридин-3-карбонил) -3-фтор-2-гидроксибензонитрил;
 (3, 5-Дибром-4-гидроксифенил) (2-пропилимидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) метанон;
 (3-Бром-5-хлор-4-гидроксифенил) (2-этилимидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) метанон;
 (3-Бром-5-фтор-4-гидроксифенил) (2-этил-6-фторимидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) метанон;
 (2-Этил-6-фторимидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) (3-фтор-4-гидрокси-5-йодфенил) метанон;
 (3, 5-Дибром-4-гидроксифенил) (2-этил-6-гидроксиимидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) метанон;
 (6-Бром-2-этил-7-метилимидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) (3, 5-дибром-4-гидроксифенил) -метанон;
 (3, 5-Дибром-4-гидроксифенил) (2-этил-7- (трифторметил) имидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) -метанон;
 3- (3, 5-Дибром-4-гидроксифенил) -2-этилимидазо [1, 2-а] пиридин-6-карбонитрил;
 (6-Дейтеро-2-этилимидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) (3, 5-дибром-4-гидроксифенил) метанон;
 (2-Циклопропилимидазо [1, 2-а] пиридин-3-ил) (3, 5-дибром-4-гидроксифенил) метанон;
 3-Бром-5- (2-этилимидазо [1, 2-а] пиридин-3-карбонил) -2-гидроксибензонитрилгидрохлорид; и
 5- (2-Этилимидазо [1, 2-а] пиридин-3-карбонил) -2-гидрокси-3-йодбензонитрилгидрохлорид; или

фармацевтически приемлемые соли указанных соединений.

В некоторых вариантах осуществления "фармацевтически приемлемые соли" являются солями, образованными соединениями, предлагаемыми в настоящем изобретении, с кислотами, которые получают по реакции свободных оснований исходных соединений с неорганическими кислотами или органическими кислотами, где неорганические кислоты и органические кислоты включают (но не ограничиваются только ими): например, хлористоводородную кислоту, бромистоводородную кислоту, азотную кислоту, фосфорную кислоту, уксусную кислоту, пропановую кислоту, акриловую кислоту, щавелевую кислоту, (D) или (L) яблочную кислоту, фумаровую кислоту, малеиновую кислоту, гидроксibenзойную кислоту, γ -гидроксимасляную кислоту, метоксибензойную кислоту, фталевую кислоту, метансульфоновую кислоту, этансульфоновую кислоту, 1-нафталинсульфоновую кислоту, 2-нафталинсульфоновую кислоту, п-толуолсульфоновую, салициловую кислоту, винную кислоту, лимонную кислоту и т.п.

Соединения, предлагаемые в настоящем изобретении, можно получить по следующим методикам синтеза:

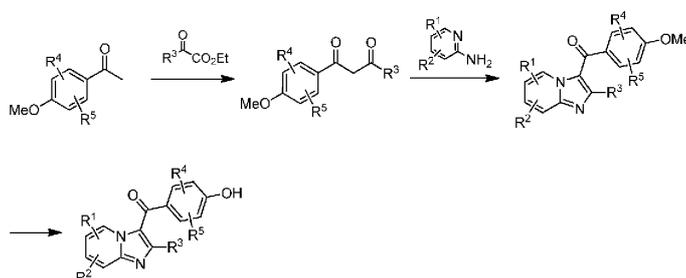
Общая схема 1



На общей схеме 1 замещенный 2-аминопиридин вводят в реакцию с ацилхлоридом и получают соответствующий амид, который затем вводят в реакцию с замещенным 2-бром-1-фенилэтанолом и получают соответствующий (имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)-(фенил)метанон.

Соединение может быть конечным продуктом, или искомым продуктом получали деметилированием, галогенированием и/или по другим реакциям.

Общая схема 2



На общей схеме 2 замещенный ацетофенон вводят в реакцию с соответствующим сложным эфиром и получают 1,3-дикетон, который вводят в реакцию с соответствующим 2-аминопиридином и получают (имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)-(фенил)метанон. Искомое соединение получают деметилированием, галогенированием и/или по другим реакциям.

Определение каждой группы на схемах синтеза является таким, как описано ниже.

Если не указано иное, приведенные ниже термины, используемые в формуле изобретения и инструкциях, обладают указанными ниже значениями.

"Водород" означает протий (1H), который является главным стабильным изотопом водорода.

"Дейтерий" является стабильным изотопом водорода и также называется тяжелым водородом и обозначением элемента является D.

"Галоген" означает атом фтора, атом хлора, атом брома или атом йода.

"Алкил" означает насыщенную алифатическую группу, содержащую от 1 до 20 атомов углерода, включая обладающую линейной цепью группу и обладающую разветвленной цепью группу (числовой диапазон (например, от 1 до 2), указанный в настоящем описании, показывает, что эта группа (в данном случае алкил) может содержать 1 атом углерода, 2 атома углерода, 3 атома углерода или даже 20 атомов углерода). Алкил, содержащий от 1 до 4 атомов углерода, называют низшим алкилом. Низший алкил без какой-либо замещающей группы называют незамещенным низшим алкилом, например метил, этил, пропил, 2-пропил, n-бутил, изобутил, трет-бутил и т.п. Алкил может быть замещенным или незамещенным.

"Алкоксигруппа" означает -O- (незамещенный алкил) и -O- (незамещенный циклоалкил) и дополнительно означает -O-(незамещенный алкил). Типичные примеры включают, но не ограничиваются только ими, метоксигруппу, этоксигруппу, пропоксигруппу, бутоксигруппу, циклопропоксигруппу, циклобутоксигруппу, циклопентилоксигруппу, циклогексилоксигруппу и т.п.

"Алкилтиогруппа" означает -S- (незамещенный алкил) и -S- (незамещенный циклоалкил) группы, дополнительно означает -S-(незамещенный алкил). Типичные примеры включают, но не ограничиваются только ими, метионил, этилтиогруппу, пропиштиогруппу, бутилтиогруппу или циклопропилтиогруппу, циклобутилтиогруппу, циклопентилтиогруппу, циклогексилтиогруппу и т.п.

"Алкенил" означает линейную или разветвленную гидрокарбильную группу, содержащую от 2 до 7 атомов углерода и в некоторых вариантах осуществления от 2 до 6 атомов углерода или от 2 до 4 атомов углерода. Типичные примеры включают, например, этенил, пропенил, аллил и т.п.

"Алкинил" означает линейный одновалентный углеводородный радикал или разветвленный одновалентный углеводородный радикал, содержащий от 2 до 7 атомов углерода и в некоторых вариантах осуществления от 2 до 6 атомов углерода или от 2 до 4 атомов углерода. Типичные примеры включают этинил, пропилил, пропаргил и т.п.

"Циклоалкил" означает содержащую одно или два кольца алкильную группу, содержащую более 3 атомов углерода, включая, но не ограничиваясь только ими, циклопропильную, циклобутильную, цикло-

гексенильную и дициклогептильную группы.

"Цианогруппа" означает группу -CN.

"Фармацевтически приемлемые соли" являются солями, образованными соединениями формулы (I) с неорганическими кислотами или органическими кислотами и представляют собой соли, сохраняющие биодоступность и характеристики исходных соединений. Эти соли включают:

(1) соли, образованные соединениями с кислотами, которые получают по реакции свободных оснований исходных соединений с неорганическими кислотами или органическими кислотами, где неорганические кислоты включают (но не ограничиваются только ими): например, хлористоводородную кислоту, бромистоводородную кислоту, азотную кислоту, фосфорную кислоту, метафосфорную кислоту, серную кислоту, сернистую кислоту, хлорную кислоту и т.п.; органические кислоты включают (но не ограничиваются только ими): например, уксусную кислоту, пропановую кислоту, акриловую кислоту, шавелевую кислоту, (D) или (L) яблочную кислоту, фумаровую кислоту, малеиновую кислоту, гидроксibenзойную кислоту, γ -гидроксимасляную кислоту, метоксибензойную кислоту, фталевую кислоту, метансульфоновую кислоту, этансульфоновую кислоту, 1-нафталинсульфоновую кислоту, 2-нафталинсульфоновую кислоту, *p*-толуолсульфоновую, салициловую кислоту, винную кислоту, лимонную кислоту, молочную кислоту, миндальную кислоту, янтарную кислоту, малоновую кислоту и т.п.; и

(2) соли, образованные замещением кислых протонов в исходных соединениях ионами металлов или координацией кислых протонов в исходных соединениях с органическими щелочами, где ионы металлов включают, например, ионы щелочных металлов, ионы щелочноземельных металлов или ионы алюминия; и органические щелочи включают, например, этаноламин, диэтиламин, триэтиламин, трометамол, *N*-метилглюкамин и т.п.

"Фармацевтическая композиция" означает смесь одного или большего количества соединений, описанных в настоящем изобретении, или их фармацевтически приемлемых солей с другими химическими компонентами, такими как фармацевтически приемлемые носители и инертные наполнители. Задачей фармацевтической композиции является стимулирование доставки лекарственного соединения в организм.

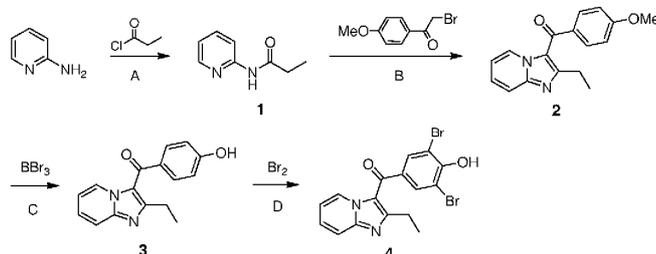
В следующем разделе, если не наложены особые ограничения, соединения (I), которые являются активными ингредиентами терапевтических средств, включая все их фармацевтически приемлемые соли, входят в объем настоящего изобретения. В настоящем описании для удобства они называются просто соединениями формулы (I).

Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, которая включает любое соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, или его фармацевтически приемлемую соль в качестве активного ингредиента, с добавлением фармацевтически приемлемых инертных наполнителей.

Для указанных выше соединений формулы (I), предлагаемых в настоящем изобретении, в последующих вариантах осуществления подтверждено, что они могут существенно улучшить ингибирующее воздействие на URAT1, значительно усиливая выведение мочевой кислоты у мышей, и токсичность значительно меньше, чем у бензбромарона. Поэтому соединение, предлагаемое в настоящем изобретении, в большей степени способствует выведению мочевой кислоты и более безопасно. На основании этих характеристик соединения или его фармацевтически приемлемую соль можно использовать для получения лекарственных средств, способствующих выведению мочевой кислоты, для лечения заболевания, связанного с нарушением выведения мочевой кислоты, в особенности для лечения или предупреждения гиперурикемии, нефроза или подагры.

Конкретные методики получения

Пример 1. Синтез (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-этилимидазо[1,2-а]-пиридин-3-ил)метанона (4)



Стадия А.

К смеси 2-аминопиридина (2,0 г, 21,3 ммоль) и триэтиламина (2,58 г, 25,5 ммоль) в дихлорметане (20 мл) по каплям в бане из воды со льдом добавляли пропионилхлорид (2,07 г, 22,4 ммоль). После добавления реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи, разбавляли водой (40 мл), экстрагировали дихлорметаном (40 мл×3). Объединенный органический слой промывали рассолом (30 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:15-1:10) и получали *N*-(пиридин-2-ил)пропионамид (1) (2,74 г) с 85,6% выходом.

Стадия В.

Смесь соединения 1 (300 мг, 2,0 ммоль) и 2-бром-1-(4-метоксифенил)этанона (460 мг, 2,0 ммоль) в толуоле (10 мл) кипятили с обратным холодильником в течение 48 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли водой (30 мл), значение pH устанавливали равным 8-9 насыщенным раствором карбоната калия, экстрагировали дихлорметаном (40 мл×3). Объединенный органический слой сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:30-1:1) и получали (2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(4-метоксифенил)метанон (2) (254 мг) с 45,3% выходом. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, (ДМСО - диметилсульфоксид), 500 МГц) δ 9,18 (d, J=7,0 Гц, 1H), 7,74-7,69 (m, 3H), 7,58-7,55 (m, 1H), 7,17-7,14 (m, 1H), 7,09 (d, J=8,5 Гц, 2H), 3,87 (s, 3H), 2,45 (q, J=7,5 Гц, 2H), 1,11 (t, J=7,5 Гц, 3H). МС (масс-спектр) (ИЭ (ионизация электро-распылением), m/z): 281,1 [M+H]⁺.

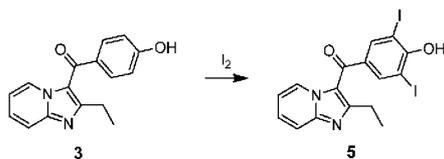
Стадия С.

Трибромид бора (0,6 мл, 1,0 М в толуоле) по каплям добавляли к раствору соединения 2 (80 мг, 0,285 ммоль) в безводном дихлорметане (6 мл) в бане из воды со льдом. После добавления реакцию смесь нагревали до комнатной температуры, перемешивали в течение ночи, выливали в воду со льдом (30 мл), значение pH устанавливали равным 7-8 насыщенным раствором бикарбоната натрия и экстрагировали этилацетатом (40 мл×2). Объединенный органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:20-1:1) и получали (2-этилимидазо[1,2-а]-пиридин-3-ил)(4-гидроксифенил)метанон (3) (67 мг) с 88,3% выходом. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 300 МГц) δ 10,29 (s, 1H), 9,11 (d, J=6,6 Гц, 1H), 7,71 (d, J=9,0 Гц, 1H), 7,62-7,51 (m, 3H), 7,15-7,11 (m, 1H), 6,90 (d, J=8,4 Гц, 2H), 2,45 (q, J=7,5 Гц, 2H), 1,12 (t, J=7,5 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 267,2 [M+H]⁺.

Стадия D.

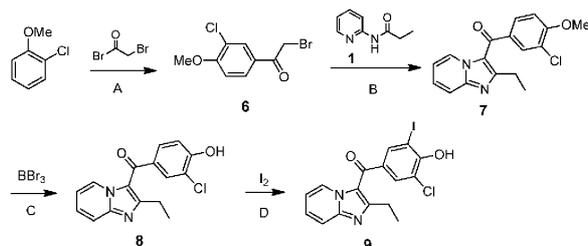
К смеси соединения 3 (67 мг, 0,252 ммоль) и ацетата натрия (62 мг, 0,755 ммоль) в уксусной кислоте (5 мл) добавляли бром (90 мг, 0,563 ммоль) в уксусной кислоте (1 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч, реакцию останавливали путем добавления насыщенного водного раствора бисульфата натрия и концентрировали в вакууме. К остатку добавляли воду (30 мл) и значение pH смеси устанавливали равным 7-8 насыщенным раствором бикарбоната натрия и экстрагировали этилацетатом (40 мл×2). Объединенный органический слой сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:10-1:1) и получали (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон (4) (48 мг) с 44,9% выходом. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 300 МГц) δ 9,19 (d, J=6,9 Гц, 1H), 7,87 (s, 2H), 7,75 (d, J=9,0 Гц, 1H), 7,63-7,58 (m, 1H), 7,22-7,17 (m, 1H), 2,44 (q, J=7,5 Гц, 2H), 1,17 (t, J=7,5 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 422,9 [M+H]⁺.

Пример 2. Синтез (2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(4-гидрокси-3,5-дидофенил)метанона (5)



Смесь соединения 3 (556 мг, 2,09 ммоль), ацетата натрия (367 мг, 4,58 ммоль) и йода (1,17 г, 4,61 ммоль) в метаноле (20 мл) перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 1 ч. Затем добавляли раствор гидроксида натрия (151 мг, 3,78 ммоль) в воде (20 мл). Реакционную смесь перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 1 ч и охлаждали до комнатной температуры. Добавляли насыщенный водный раствор бисульфат натрия (20 мл). Образовавшиеся осадки собирали фильтрованием, промывали водой и сушили. Неочищенный продукт кристаллизовали из смеси петролейный эфир/этилацетат и получали (2-этилимидазо[1,2-а]-пиридин-3-ил)(4-гидрокси-3,5-дидофенил)метанон (5) (924 мг) с 85,3% выходом. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 300 МГц) δ 9,17 (d, J=6,9 Гц, 1H), 8,05 (s, 2H), 7,75 (d, J=9,0 Гц, 1H), 7,64-7,58 (m, 1H), 7,22-7,17 (m, 1H), 2,45 (q, J=7,5 Гц, 2H), 1,17 (t, J=7,5 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 518,8 [M+H]⁺.

Пример 3. Синтез (3-хлор-4-гидроксифенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон (8) и (3-хлор-4-гидрокси-5-йодофенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанона (9)



Стадия А.

Раствор 2-бромацетилбромида (6,8 г, 33,7 ммоль) в безводном дихлорметане (10 мл) по каплям добавляли к смеси 1-хлор-2-метоксибензола (4,0 г, 28,1 ммоль) и хлорида алюминия (4,12 г, 30,9 ммоль) в безводном дихлорметане (30 мл) в бане со льдом. После добавления реакцию смесь перемешивали в течение еще 1,5 ч и выливали в смесь воды со льдом (100 мл). Смесь экстрагировали дихлорметаном (60 мл×3). Объединенный органический слой промывали водой (30 мл), насыщенным раствором бикарбоната натрия (30 мл×2), водой (30 мл) и рассолом (30 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали через тонкий слой силикагеля и концентрировали в вакууме. Остаток перекристаллизовывали из смеси петролейный эфир/дихлорметан и получали 2-бром-1-(3-хлор-4-метоксифенил)этанон (6) (3,37 г) с 45,5% выходом.

Стадия В.

Смесь соединения 1 (780 мг, 5,23 ммоль) и соединения 6 (1,37 г, 5,20 ммоль) в толуоле (20 мл) перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 24 ч и охлаждали до комнатной температуры. После добавления воды (50 мл) реакционное значение pH смеси устанавливали равным 8-9 насыщенным раствором карбоната калия и экстрагировали дихлорметаном (60 мл×3). Органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:20-1:5) и получали (3-хлор-4-метоксифенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон (7) (510 мг) с 31,2% выходом.

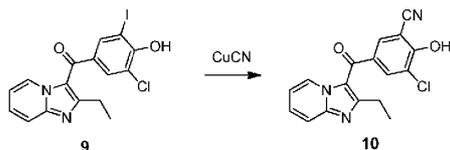
Стадия С.

Трибромид бора (3,2 мл, 1,0 М в толуоле) по каплям добавляли к смеси соединения 7 (500 мг, 1,57 ммоль) в безводном дихлорметане (15 мл) в бане из воды со льдом. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, выливали в воду со льдом (40 мл), значение pH устанавливали равным 7-8 насыщенным раствором бикарбоната натрия и экстрагировали этилацетатом (40 мл×2). Органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:5-3:1) и получали (3-хлор-4-гидроксифенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон (8) (380 мг) с 79,5% выходом. МС (ИЭ, m/z): 301,7 [M+H]⁺.

Стадия D.

Смесь соединения 8 (378 мг, 1,26 ммоль), ацетата натрия (114 мг, 1,39 ммоль) и йода (351 мг, 1,38 ммоль) в метаноле (30 мл) перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 1 ч. После добавления раствора гидроксида натрия (45 мг, 1,13 ммоль) в воде (13 мл) реакционную смесь перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 1 ч и охлаждали до комнатной температуры. Добавляли насыщенный водный раствор бисульфата натрия (30 мл). Осадки собирали фильтрованием, промывали водой и сушили. Неочищенный продукт перекристаллизовывали из смеси петролейный эфир/этилацетат и получали (3-хлор-4-гидрокси-5-йодфенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон (9) (430 мг) с 85,3% выходом. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 500 МГц) δ 9,04 (d, J=7,0 Гц, 1H), 7,95 (d, J=1,5 Гц, 1H), 7,71-7,68 (m, 2H), 7,54-7,51 (m, 1H), 7,13-7,10 (m, 1H), 2,49-2,47 (m, 2H), 1,18 (t, J=7,5 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 426,9 [M+H]⁺.

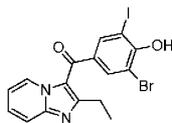
Пример 4. Синтез 3-хлор-5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидроксibenзонитрила (10)



Смесь соединения 9 (393 мг, 0,921 ммоль) и цианида меди(I) (124 мг, 1,38 ммоль) в ДМФ (диметилформамид) (5 мл) перемешивали при 130°C в течение ночи, охлаждали до комнатной температуры, разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали этилацетатом (30 мл×3). Объединенный органический слой промывали водой (20 мл×2) и рассолом (10 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=2:1-5:1) и получали 3-хлор-5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидроксibenзонитрил (10). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 300 МГц) δ

9,11 (d, J=6,3 Гц, 1H), 7,94-7,90 (m, 2H), 7,80-7,77 (m, 1H), 7,68-7,63 (m, 1H), 7,26-7,21 (m, 1H), 2,50-2,48 (m, 2H), 1,17 (t, J=7,2 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 324,0 [M-H]⁻.

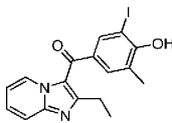
Пример 5. Синтез (3-бром-4-гидрокси-5-йодфенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанона (11)



11

Соединение 11 получали в соответствии с методикой примера 3 путем использования 1-бром-2-метоксibenзола на стадии А в качестве альтернативного реагента. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 300 МГц) δ 9,16 (d, J=6,9 Гц, 1H), 8,03 (d, J=1,8 Гц, 1H), 7,87 (d, J=1,8 Гц, 1H), 7,74 (d, J=8,7 Гц, 1H), 7,62-7,56 (m, 1H), 7,20-7,16 (m, 1H), 2,43 (t, J=7,5 Гц, 2H), 1,18 (t, J=7,5 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 470,9 [M+H]⁺.

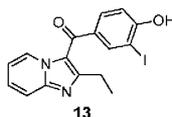
Пример 6. Синтез (2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(4-гидрокси-3-йод-5-метилфенил)метанона (12)



12

Соединение 12 получали в соответствии с методикой примера 3 путем использования 1-метокси-2-метилбензола на стадии А в качестве альтернативного реагента. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 300 МГц) δ 9,91 (s, 1H), 9,14 (dd, J=0,9, 6,9 Гц, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,74-7,71 (m, 1H), 7,59-7,51 (m, 2H), 7,18-7,13 (m, 1H), 2,44 (t, J=7,5 Гц, 2H), 2,30 (s, 3H), 1,17 (t, J=7,5 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 406,9 [M+H]⁺.

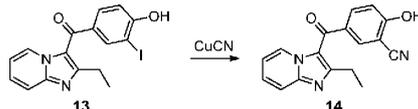
Пример 7. Синтез (2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(4-гидрокси-3-йодфенил)метанона (13)



13

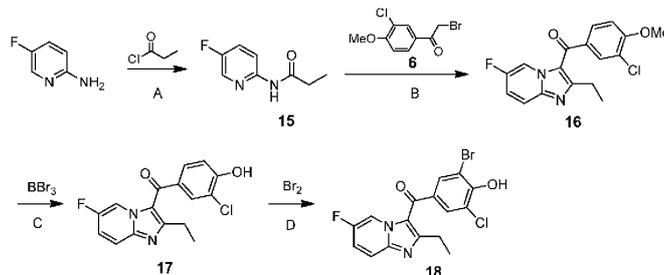
Соединение 13 получали в соответствии с методиками стадий А, В и С в примере 3 путем использования 1-йод-2-метоксibenзола в качестве альтернативного реагента. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 500 МГц) δ 11,16 (s, 1H), 9,13 (d, J=7,0 Гц, 1H), 8,02 (d, J=1,5 Гц, 1H), 7,71 (d, J=8,5 Гц, 1H), 7,61 (dd, J=2,0, 8,0 Гц, 1H), 7,57-7,54 (m, 1H), 7,16-7,13 (m, 1H), 7,01 (d, J=8,5 Гц, 1H), 2,45 (q, J=7,5 Гц, 2H), 1,15 (t, J=7,5 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 392,9 [M+H]⁺.

Пример 8. Синтез 5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидроксибензонитрила (14)



С использованием соединения 13 в качестве исходного вещества соединение 14 получали в соответствии с методикой примера 4. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 500 МГц) δ 11,91 (s, 1H), 9,19 (d, J=6,5 Гц, 1H), 7,98 (d, J=2,0 Гц, 1H), 7,85 (dd, J=2,0, 8,5 Гц, 1H), 7,74 (d, J=9,0 Гц, 1H), 7,61-7,57 (m, 1H), 7,19-7,15 (m, 2H), 2,43 (q, J=7,5 Гц, 2H), 1,13 (t, J=7,5 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 292,0 [M+H]⁺.

Пример 9. Синтез (3-бром-5-хлор-4-гидроксифенил)(2-этил-6-фторимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанона (18)



Стадия А.

К смеси 2-амино-5-фторпиридина (2,5 г, 22,3 ммоль) и триэтиламина (2,71 г, 26,8 ммоль) в безводном дихлорметан (25 мл) по каплям в бане из воды со льдом добавляли пропионилхлорид (2,17 г, 23,5 ммоль). После добавления реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, реакцию останавливали водой (40 мл) и экстрагировали дихлорметаном (40 мл×3). Объединенный органический слой промывали рассолом (30 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали

и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:5) и получали N-(5-фторпиридин-2-ил)пропионамид (15) (3,04 г) с 81,1% выходом.

Стадия В.

Смесь соединения 15 (960 мг, 5,71 ммоль) и соединения 6 (1,5 г, 5,69 ммоль) в толуоле (30 мл) перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение ночи, охлаждали до комнатной температуры, разбавляли водой (30 мл), значение pH устанавливали равным 8-9 насыщенным раствором карбоната калия и экстрагировали дихлорметаном (40 мл×3). Объединенный органический слой промывали водой, сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:30-1:1) и получали (3-хлор-4-метоксифенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон (16) (270 мг) с 14,3% выходом.

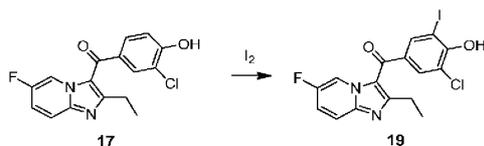
Стадия С.

1,0 М раствор триборида бора в толуоле (2,4 мл) по каплям добавляли к смеси соединения 16 (262 мг, 0,787 ммоль) в безводном дихлорметане (10 мл) в бане из воды со льдом. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч, разбавляли смесью воды со льдом (30 мл), значение pH устанавливали равным 7-8 насыщенным раствором бикарбоната натрия и экстрагировали этилацетатом (40 мл×3). Объединенный органический слой сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:6-1:4) и получали (3-хлор-4-гидроксифенил)(2-этил-6-фторимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон (17) (90 мг) с 35,9% выходом. МС (ИЭ, m/z): 339,7 [M+H]⁺.

Стадия D.

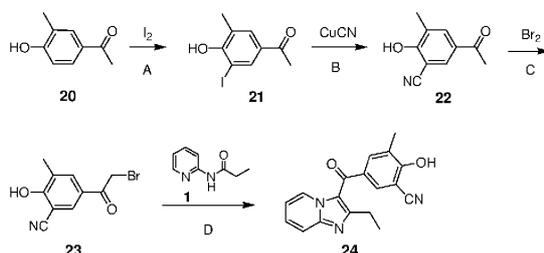
К смеси соединения 17 (41 мг, 0,129 ммоль) и ацетата натрия (26 мг, 0,317 ммоль) в уксусной кислоте (5 мл) добавляли бром (25 мг, 0,156 ммоль) в уксусной кислоте (1 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч, реакцию останавливали насыщенным водным раствором бисульфата натрия и затем концентрировали в вакууме. К остатку добавляли воду (20 мл) и значение pH смеси устанавливали равным 7-8 насыщенным раствором бикарбоната натрия и экстрагировали этилацетатом (30 мл×3). Объединенный органический слой сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:6-1:3) и получали (3-бром-5-хлор-4-гидроксифенил)-(2-этил-6-фторимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон (18). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 500 МГц) δ 11,06 (s, 1H), 9,22-9,21 (m, 1H), 7,86-7,83 (m, 2H), 7,76-7,70 (m, 2H), 2,43 (q, J=7,5 Гц, 2H), 1,16 (t, J=7,5 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 398,9 [M+H]⁺.

Пример 10. Синтез (3-хлор-4-гидрокси-5-йодфенил)(2-этил-6-фторимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанона (19)



Смесь соединения 17 (41 мг, 0,129 ммоль), ацетата натрия (12 мг, 0,146 ммоль) и йода (36 мг, 0,142 ммоль) в метаноле (10 мл) перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 1 ч и затем добавляли раствор гидроксида натрия (5 мг, 0,125 ммоль) в воде (3 мл). Реакционную смесь перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 1 ч, охлаждали до комнатной температуры и добавляли насыщенный водный раствор бисульфата натрия (10 мл). Образовавшиеся осадки собирали фильтрованием, промывали водой и сушили. Неочищенный продукт кристаллизовали из смеси петролейный эфир/этилацетат и получали (3-хлор-4-гидрокси-5-йодфенил)(2-этил-6-фторимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон (19). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 500 МГц) δ 9,13 (s, 1H), 7,97 (d, J=2,0 Гц, 1H), 7,83-7,80 (m, 1H), 7,71 (d, J=2,0 Гц, 1H), 7,69-7,65 (m, 1H), 2,46 (q, J=7,5 Гц, 2H), 1,17 (t, J=7,5 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 444,9 [M+H]⁺.

Пример 11. Синтез 5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидрокси-3-метилбензонитрила (24)



Стадия А.

Смесь 1-(4-гидрокси-3-метилфенил)этанона (4,95 г, 33,0 ммоль), ацетата натрия (2,98 г, 36,3 ммоль) и йода (9,21 г, 36,3 ммоль) в метаноле (80 мл) перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 1 ч и затем добавляли раствор гидроксида натрия (1,19 г, 29,7 ммоль) в воде (55 мл). Реакционную смесь перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 1 ч и выпаривали примерно до половины объема в вакууме. Образовавшиеся осадки собирали фильтрованием. Осадок на фильтре растворяли в этилацетате (200 мл) и раствор промывали насыщенным водным раствором бисульфата натрия (40 мл) и рассолом (40 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали и получали 1-(4-гидрокси-3-йод-5-метилфенил)этанон (21) (7,91 г) с 86,8% выходом.

Стадия В.

Смесь соединения 21 (3,90 г, 14,1 ммоль) и цианида меди(I) (1,90 г, 21,2 ммоль) в ДМФ (25 мл) перемешивали при 130°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через слой целита. К фильтрату добавляли воду (100 мл). Смесь экстрагировали этилацетатом (50 мл×3). Объединенный органический слой промывали водой (30 мл×2) и рассолом (30 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:15-1:3) и получали 5-ацетил-2-гидрокси-3-метилбензонитрил (22) (2,07 г) с 83,8% выходом.

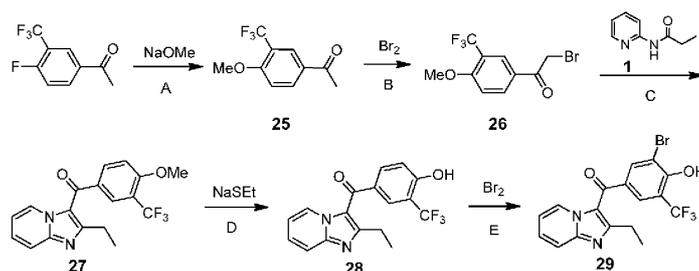
Стадия С.

К раствору соединения 22 (500 мг, 2,85 ммоль) в метаноле (10 мл) добавляли бром (548 мг, 3,43 ммоль) в метаноле (4 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. После добавления воды (50 мл) полученную смесь экстрагировали этилацетатом (40 мл×3). Объединенный органический слой промывали рассолом (20 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме и получали 5-(2-бромацетил)-2-гидрокси-3-метилбензонитрил (23) (800 мг). Неочищенный продукт 23 использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки.

Стадия D.

Смесь неочищенного соединения 23 (800 мг) и соединения 1 (600 мг, 3,99 ммоль) в толуоле (15 мл) перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение ночи и охлаждали до комнатной температуры. К реакционной смеси добавляли метанол (15 мл) и карбонат калия (1,10 г, 8,0 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, разбавляли водой (40 мл) и экстрагировали этилацетатом (50 мл×3). Органический слой сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:30-1:1) и получали 5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидрокси-3-метилбензонитрил (24). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 300 МГц) δ 10,99 (s, 1H), 9,15 (d, J=6,9 Гц, 1H), 7,79 (s, 1H), 7,74-7,72 (m, 2H), 7,60-7,55 (m, 1H), 7,19-7,14 (m, 1H), 2,43 (q, J=7,5 Гц, 2H), 2,26 (s, 3H), 1,14 (t, J=7,5 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 306,1 [M+H]⁺.

Пример 12. Синтез (2-трифторметил[1,2-а]пиридин-3-ил)(4-гидрокси-3-(трифторметил)фенил)метанона (28) и (3-бром-4-гидрокси-5-(трифторметил)фенил)-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанона (29)



Стадия А.

Смесь 1-(4-фтор-3-(трифторметил)фенил)этанона (1,0 г, 4,85 ммоль) и метоксида натрия (288 мг, 5,33 ммоль) в ДМФ (5 мл) перемешивали в течение 2 ч в бане из воды со льдом и затем при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь разбавляли водой (30 мл) и экстрагировали этилацетатом (30 мл×3). Объединенный органический слой промывали рассолом (20 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:40) и получали 1-(4-метокси-3-(трифторметил)фенил)этанон (25) (950 мг) с 89,8% выходом.

Стадии В и С проводили по методикам, использованным на стадиях С и D примера 11.

Стадия D.

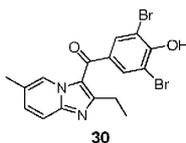
Гидрид натрия (60% в минеральном масле, 69 мг, 1,73 ммоль) порциями добавляли к раствору этантриола (107 мг, 1,73 ммоль) в ДМФ (5 мл) и смесь перемешивали в течение примерно 5 мин при комнатной температуре. Раствор соединения 27 (200 мг, 0,574 ммоль) в ДМФ (3 мл) добавляли в указанную

смесь. Реакционную смесь перемешивали при 120°C в течение 2 ч, охлаждали до комнатной температуры и разбавляли водой (40 мл). Значение pH смеси устанавливали равным 8-9 с помощью 2 М хлористоводородной кислоты и экстрагировали этилацетатом (40 мл×3). Объединенный органический слой промывали водой (30 мл) и рассолом (20 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:1) и получали (2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)-(4-гидрокси-3-(трифторметил)фенил)метанон (28) (120 мг) с 62,6% выходом. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 300 МГц) δ 11,55 (s, 1H), 9,17 (d, J=6,9 Гц, 1H), 7,86 (d, J=6,0 Гц, 2H), 7,75 (d, J=9,0 Гц, 1H), 7,63-7,57 (m, 1H), 7,21-7,16 (m, 1H), 2,43 (q, J=7,5 Гц, 2H), 1,15 (t, J=7,5 Гц, 3H). MS (ИЭ, m/z): 335,1 [M+H]⁺.

Стадия Е.

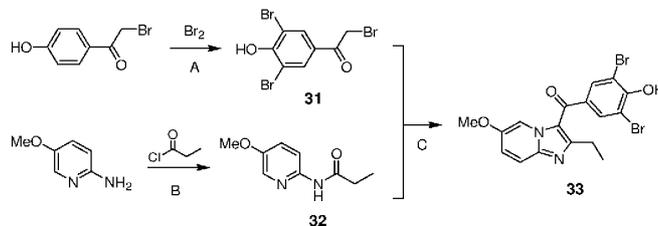
К смеси соединения 28 (96 мг, 0,287 ммоль) и ацетата натрия (59 мг, 0,719 ммоль) в уксусной кислоте (5 мл) добавляли бром (55 мг, 0,719 ммоль) в уксусной кислоте (1 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч, реакцию останавливали путем добавления насыщенного водного раствора бисульфата натрия, концентрировали в вакууме и затем разбавляли водой (20 мл). Значение pH смеси устанавливали равным 7-8 насыщенным раствором бикарбоната натрия, экстрагировали этилацетатом (40 мл×2), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:5-3:2) и получали (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон (29) (85 мг) с 71,9% выходом. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 500 МГц) δ 9,19 (d, J=6,5 Гц, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,77 (d, J=9,0 Гц, 1H), 7,66-7,62 (m, 1H), 7,24-7,21 (m, 1H), 2,41 (q, J=7,5 Гц, 2H), 1,16 (t, J=7,5 Гц, 3H). MS (ИЭ, m/z): 413,0 [M+H]⁺.

Пример 13. Синтез (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-этил-6-метилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанона (30)



Соединение 30 получали в соответствии с методикой примера 1 путем использования 5-метилпиридин-2-амина в качестве альтернативного реагента на стадии А. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 500 МГц) δ 9,04 (s, 1H), 7,87 (s, 2H), 7,69 (d, J=9,0 Гц, 1H), 7,52 (d, J=9,0 Гц, 1H), 2,42-2,38 (m, 5H), 1,15 (t, J=7,5 Гц, 3H). MS (ИЭ, m/z): 436,9 [M+H]⁺.

Пример 14. Синтез (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-этил-6-метоксиимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанона (33)



Стадия А.

К смеси 2-бром-1-(4-гидроксифенил)этанона (639 мг, 2,98 ммоль) и ацетата натрия (740 мг, 9,02 ммоль) в уксусной кислоте (10 мл) добавляли бром (960 мг, 6,0 ммоль) в уксусной кислоте (5 мл) и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. После добавления воды (40 мл) образовавшиеся осадки собирали фильтрованием, промывали водой и сушили и получали 2-бром-1-(3,5-дибром-4-гидроксифенил)этанон (31) (890 мг) с 80,1% выходом.

Стадия В.

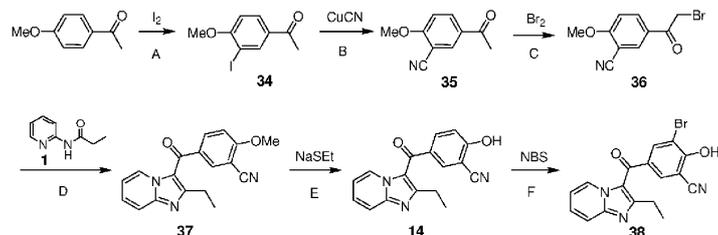
К смеси 5-метоксипиридин-2-амина (1,0 г, 8,05 ммоль) и триэтиламина (981 мг, 9,69 ммоль) в дихлорметане (8 мл) по каплям в бане из воды со льдом добавляли пропионилхлорид (777 мг, 8,4 ммоль). После добавления реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. К реакционной смеси добавляли воду (40 мл) и экстрагировали дихлорметаном (30 мл×3). Объединенный органический слой промывали рассолом (30 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:30-1:8). Продукт перекристаллизовывали из петролейного эфира и получали N-(5-метоксипиридин-2-ил)пропионамид (32) (349 мг) с 21,4% выходом.

Стадия С.

Смесь соединения 31 (790 мг, 2,12 ммоль) и соединения 32 (340 мг, 1,89 ммоль) в толуоле (20 мл) перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 48 ч и охлаждали до комнатной

температуры. К смеси добавляли воду (50 мл) и значение pH полученной смеси устанавливали равным 8-9 насыщенным раствором карбоната калия и экстрагировали дихлорметаном (50 мл×3). Объединенный органический слой сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:10-2:5) и получали (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-этил-6-метоксиимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон (33) (87 мг) с 10,1% выходом. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 500 МГц) δ 8,71 (s, 1H), 7,79 (s, 2H), 7,64 (d, J=10,0 Гц, 1H), 7,34 (d, J=10,0 Гц, 1H), 3,81 (s, 3H), 2,45 (q, J=7,5 Гц, 2H), 1,16 (t, J=7,5 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 452,9 [M-H].

Пример 15. Синтез 3-бром-5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидроксибензонитрила (38)



Стадия А.

1-(4-Метоксифенил)этанон (44 г, 293 ммоль) в бане из воды со льдом добавляли к смеси 1-хлорметил-4-фтор-1,4-диазониабисцикло[2,2,2]октан-бис-(тетрафторбората) (104 г, 294 ммоль) и йода (38,6 г, 152 ммоль) в ацетонитриле (440 мл). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. К смеси добавляли воду (1350 мл). Образовавшиеся осадки собирали фильтрованием, промывали водой и сушили и получали 1-(3-йод-4-метоксифенил)этанон (34) (70 г) с 86,5% выходом.

Стадия В.

Смесь соединения 34 (70,0 г, 254 ммоль) и цианида меди(I) (34,0 г, 380 ммоль) в ДМФ (400 мл) перемешивали при 130°C в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через слой целита. К фильтрату добавляли воду (1600 мл) и смесь экстрагировали этилацетатом (800 мл×3). Объединенный органический слой промывали водой (40 мл×2) и рассолом (400 мл), сушили над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме и получали 5-ацетил-2-метоксибензонитрил (35) (50,0 г). Неочищенный продукт использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки.

Стадия С.

К раствору неочищенного соединения 35 (45,0 г) в метаноле (250 мл) добавляли бром (49,0 г, 307 ммоль) в метаноле (50 мл) и полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. К смеси добавляли воду (900 мл) и осадок собирали фильтрованием, промывали водой и сушили и получали 5-(2-бромацетил)-2-метоксибензонитрил (36) (41,0 г). Полный выход стадий В и С составлял 70,6%.

Стадия D.

Смесь соединения 36 (41,0 г, 161 ммоль) и соединения 1 (24,0 г, 161 ммоль) в толуоле (600 мл) перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 48 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли водой (400 мл), значение pH устанавливали равным 7-8 насыщенным раствором бикарбоната натрия и экстрагировали дихлорметаном (600 мл×3). Объединенный органический слой сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:30-2:1) и получали 5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-метоксибензонитрил (37) (25,7 г) с 52,3% выходом.

Стадия E.

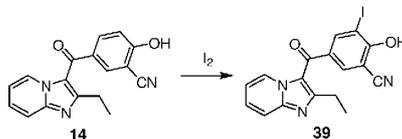
Гидрид натрия (60% дисперсия в минеральном масле, 4,8 г, 120 ммоль) порциями добавляли к раствору этантриола (8,4 мл) в ТГФ (тетрагидрофуран) (30 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение примерно 5 мин и фильтровали. Осадок на фильтре добавляли к раствору соединения 37 (9,0 г, 29,5 ммоль) в ДМФ (25 мл). Полученную смесь перемешивали при 60°C в течение 2 ч, охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через слой целита. К фильтрату добавляли воду (100 мл) и значение pH смеси устанавливали равным 5-6 с помощью 2 М водного раствора лимонной кислоты. Образовавшиеся осадки собирали фильтрованием, промывали водой и сушили. Осадок на фильтре кристаллизовали из ацетонитрил и получали 5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидроксибензонитрил (14) (7,2 г) с 83,8% выходом.

Стадия F.

К раствору соединения 14 (7,2 г, 24,7 ммоль) в ДМФ (70 мл) порциями добавляли N-бромсукцинимид (5,28 г, 29,7 ммоль). После добавления реакцию перемешивали в течение

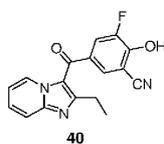
еще 1 ч и разбавляли водой (210 мл). Осадки собирали фильтрованием, промывали водой и сушили. Осадок на фильтре кристаллизовали из ацетонитрила и получали 3-бром-5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидроксibenзонитрил (38) (7,0 г) с 76,8% выходом. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 300 МГц) δ 9,01 (d, $J=6,9$ Гц, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,78-7,75 (m, 1H), 7,65-7,59 (m, 1H), 7,22-7,17 (m, 1H), 2,58-2,50 (m, 2H), 1,19 (t, $J=7,2$ Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 368,0 [M-H] $^-$.

Пример 16. Синтез 5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидрокси-3-йодбензонитрила (39)



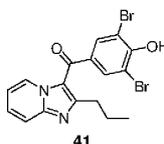
С использованием соединения 14 в качестве исходного вещества соединение 39 получали в соответствии с методикой примера 10. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 500 МГц) δ 9,04 (d, $J=7,0$ Гц, 1H), 8,23 (d, $J=1,5$ Гц, 1H), 7,87 (s, 1H), 7,77 (d, $J=8,5$ Гц, 1H), 7,66-7,63 (m, 1H), 7,23-7,21 (m, 1H), 2,56-2,50 (m, 2H), 1,20 (t, $J=7,5$ Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 416, 0 [M-H] $^-$.

Пример 17. Синтез 5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-3-фтор-2-гидроксибензонитрила (40)



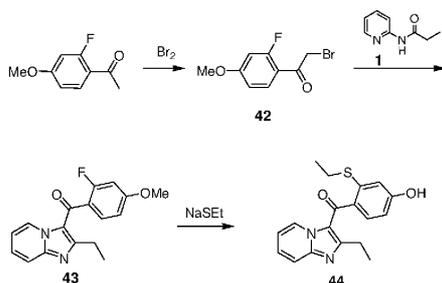
Соединение 40 получали в соответствии с методиками стадий А, В и С в примере 11 и стадии С в примере 14 путем использования 1-(3-фтор-4-гидроксифенил)этанона в качестве альтернативного реагента. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 300 МГц) δ 9,18 (d, $J=6,9$ Гц, 1H), 7,83-7,75 (m, 3H), 7,64-7,59 (m, 1H), 7,23-7,18 (m, 1H), 2,46-2,41 (m, 2H), 1,15 (t, $J=7,2$ Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 310,1 [M+H] $^+$.

Пример 18. Синтез (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-пропилимидазо[1,2-а]-пиридин-3-ил)метанона (41)



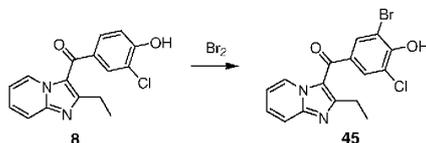
Соединение 41 получали в соответствии с методикой примера 1 путем использования бутирилхлорида на стадии А. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 500 МГц) δ 10,81 (s, 1H), 9,18 (d, $J=6,5$ Гц, 1H), 7,86 (s, 2H), 7,73 (d, $J=9,0$ Гц, 1H), 7,61-7,58 (m, 1H), 7,19-7,17 (m, 1H), 2,38 (q, $J=7,5$ Гц, 2H), 1,68-1,63 (m, 2H), 0,76 (t, $J=7,5$ Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 436, 9 [M-H] $^-$.

Пример 19. Синтез (2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(2-этилсульфанил-4-гидроксифенил)метанона (44)



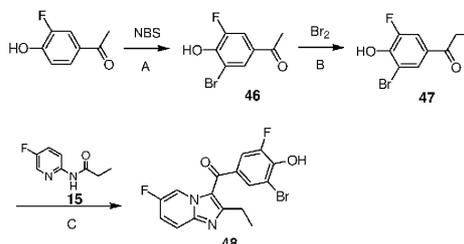
Соединение 44 получали в соответствии с методиками стадий В, С и D в примере 12 путем использования 1-(2-фтор-4-метоксифенил)этанона в качестве альтернативного реагента. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 500 МГц) δ 10,08 (s, 1H), 9,42 (d, $J=7,0$ Гц, 1H), 7,74 (d, $J=8,5$ Гц, 1H), 7,63-7,59 (m, 1H), 7,27-7,20 (m, 2H), 6,88 (d, $J=2,0$ Гц, 1H), 6,68 (dd, $J=2,0, 8,0$ Гц, 1H), 2,88 (q, $J=7,5$ Гц, 2H), 2,26 (q, $J=7,5$ Гц, 2H), 1,16 (t, $J=7,5$ Гц, 3H), 1,05 (t, $J=7,5$ Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 325,1 [M-H] $^-$.

Пример 20. Синтез (3-бром-5-хлор-4-гидроксифенил)(2-этилимидазо[1,2-а]-пиридин-3-ил)метанона (45)



С использованием соединения 8 в качестве исходного вещества соединение 45 получали в соответствии с методикой стадии D в примере 9. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 500 МГц) δ 9,19 (d, $J=6,5$ Гц, 1H), 7,83 (d, $J=2,0$ Гц, 1H), 7,76-7,74 (m, 2H), 7,61-7,58 (m, 1H), 7,20-7,17 (m, 1H), 2,43 (q, $J=7,5$ Гц, 2H), 1,16 (t, $J=7,5$ Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 379, 0 [M-H] $^-$.

Пример 21. Синтез (3-бром-5-фтор-4-гидроксифенил)(2-этил-6-фторимидазо-[1,2-а]пиридин-3-ил)метанона (48)



Стадия А.

К раствору 1-(3-фтор-4-гидроксифенил)этанона (806 мг, 5,23 ммоль) в ДМФ (10 мл) порциями добавляли N-бромсукцинимид (977 мг, 5,49 ммоль). После добавления реакционную смесь перемешивали в течение еще 1 ч. Добавляли воду (50 мл) и смесь экстрагировали этилацетатом (50 мл \times 3). Объединенный органический слой промывали водой (30 мл \times 3) и рассолом (20 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток кристаллизовали из смеси петролейный эфир/этилацетат и получали 1-(3-бром-5-фтор-4-гидроксифенил)этанон (46) (1,0 г) с 82,0% выходом.

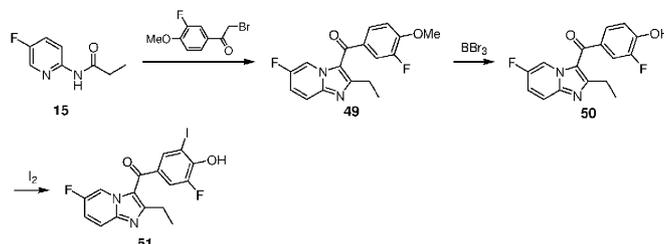
Стадия В.

К раствору соединения 46 (1,0 г, 4,29 ммоль) в метаноле (20 мл) добавляли бром (824 мг, 5,16 ммоль) в метаноле (5 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, реакцию останавливали водой (60 мл) и экстрагировали этилацетатом (60 мл \times 3). Объединенный органический слой промывали рассолом (30 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:5) и получали 2-бром-1-(3-бром-5-фтор-4-гидроксифенил)этанон (47) (940 мг) с 70,2% выходом.

Стадия С.

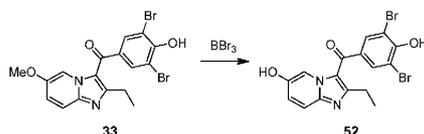
Смесь соединения 15 (210 мг, 1,25 ммоль) и соединения 47 (300 мг, 0,962 ммоль) в 1-метил-2-пирролидине (10 мл) перемешивали при 150 $^\circ\text{C}$ в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли воду (50 мл). Значение pH смеси устанавливали равным 7-8 с помощью 2 М водного раствора лимонной кислоты и экстрагировали дихлорметаном (50 мл \times 3). Объединенный органический слой сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:25-1:5) и получали (3-бром-5-фтор-4-гидроксифенил)(2-этил-6-фторимидазо[1,2-а]-пиридин-3-ил)метанон (48). ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 500 МГц) δ 11,44 (s, 1H), 9,24-9,22 (m, 1H), 7,88-7,85 (m, 1H), 7,75-7,71 (m, 2H), 7,63-7,60 (m, 1H), 2,47 (q, $J=7,5$ Гц, 2H), 1,18 (t, $J=7,5$ Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 379,0 [M-H] $^-$.

Пример 22. Синтез (2-этил-6-фторимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(3-фтор-4-гидрокси-5-йодфенил)метанона (51)



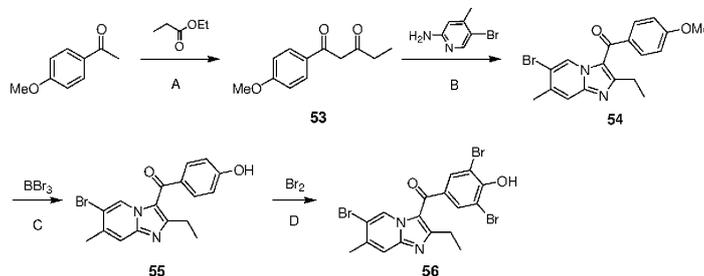
С использованием соединения 15 в качестве исходного вещества соединение 51 получали в соответствии с методиками стадий В и С в примере 9, затем по методике, приведенной в примере 10. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 300 МГц) δ 11,44 (s, 1H), 9,19-9,17 (m, 1H), 7,86-7,81 (m, 2H), 7,73-7,66 (m, 1H), 7,60-7,56 (m, 1H), 2,49-2,41 (m, 2H), 1,16 (t, $J=7,5$ Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 427,1 [M-H] $^-$.

Пример 23. Синтез (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-этил-6-гидроксиимидазо-[1,2-а]пиридин-3-ил)метанона (52)



С использованием соединения 33 в качестве исходного вещества соединение 52 получали в соответствии с методикой стадии С в примере 1. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц) δ 10,00 (s, 1H), 8,92 (s, 1H), 7,84 (s, 2H), 7,63 (d, $J=9,6$ Гц, 1H), 7,31-7,29 (m, 1H), 2,37 (q, $J=7,6$ Гц, 2H), 1,13 (t, $J=7,6$ Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 441,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 24. Синтез (6-бром-2-этил-7-метилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)-(3,5-дибром-4-гидроксифенил)метанона (56)



Стадия А.

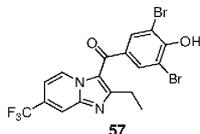
Гидрид натрия (60% дисперсия в минеральном масле, 1,68 г, 42 ммоль) порциями добавляли к раствору 1-(4-метоксифенил) этанона (3,0 г, 20,0 ммоль) в ДМФ (15 мл) при $-10-0^\circ\text{C}$. Смесь перемешивали при этой температуре в течение еще 40 мин и добавляли этилпропионат (2,04 г, 20 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, разбавляли водой (60 мл) и экстрагировали этилацетатом (30 мл \times 3). Объединенный органический слой промывали рассолом (20 мл \times 2), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:30) и получали 1-(4-метоксифенил)пентан-1,3-дион (53) (3,16 г) с 76,6% выходом.

Стадия В.

К раствору 5-бром-4-метилпиридин-2-амина (187 мг, 1,0 ммоль) и соединения 53 (247 мг, 1,2 ммоль) в ТГФ (6 мл) в бане из воды со льдом добавляли (диацетоксийодо)бензол (386 мг, 1,2 ммоль) и эфират трифторида бора (28 мг, 0,2 ммоль). После добавления реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи и разбавляли водой (30 мл). Значение pH смеси устанавливали равным 7-8 насыщенным раствором бикарбоната натрия и экстрагировали этилацетатом (30 мл \times 3). Объединенный органический слой промывали рассолом (20 мл), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:30) и получали (6-бром-2-этил-7-метилимидазо-[1,2-а]пиридин-3-ил)(4-метоксифенил)метанон (54) (120 мг) с 32,2% выходом.

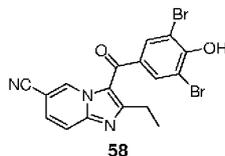
Методики, использованные на стадиях С и D примера 1, применяли на стадиях С и D и получали (6-бром-2-этил-7-метилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(3,5-дибром-4-гидроксифенил)метанон (56). ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц) δ 9,35 (s, 1H), 7,86 (s, 2H), 7,80 (s, 1H), 2,41 (q, $J=7,6$ Гц, 2H), 1,16 (t, $J=7,6$ Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 518,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 25. Синтез (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-этил-7-(трифторметил)-имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанона (57)



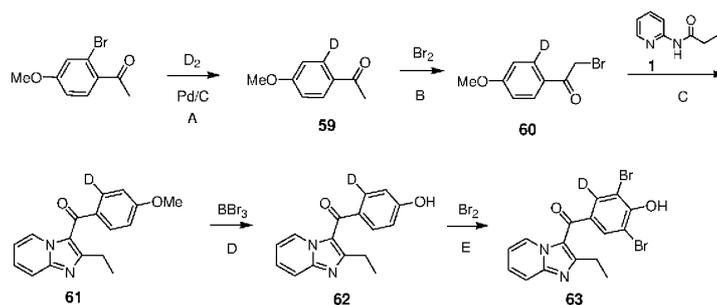
С использованием 5-(трифторметил)пиридин-2-амина в качестве исходного вещества соединение 57 получали в соответствии с методикой стадии В в примере 25 и методиками стадий С и D в примере 1. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц) δ 9,23 (d, $J=7,2$ Гц, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,93 (s, 2H), 7,45 (dd, $J=2,0, 7,2$ Гц, 1H), 2,50-2,48 (m, 2H), 1,20 (t, $J=7,2$ Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 492,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 26. Синтез 3-(3,5-дибром-4-гидроксибензоил)-2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-6-карбонитрила (58)



С использованием 6-аминоникотинитрила в качестве исходного вещества соединение 58 получали в соответствии с методикой стадии В в примере 25 и методиками стадий С и D в примере 1. ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц) δ 9,56-9,55 (m, 1H), 7,92-7,89 (m, 3H), 7,86-7,83 (m, 1H), 2,48-2,46 (m, 2H), 1,22-1,17 (m, 3H). МС (ИЭ, m/z): 450,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Пример 27. Синтез (2-дейтеро-4-гидроксифенил)(2-этилимидазо[1,2-а]-пиридин-3-ил)метанона (62) и (2-дейтеро-3,5-дибром-4-гидроксифенил)-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанона (63)



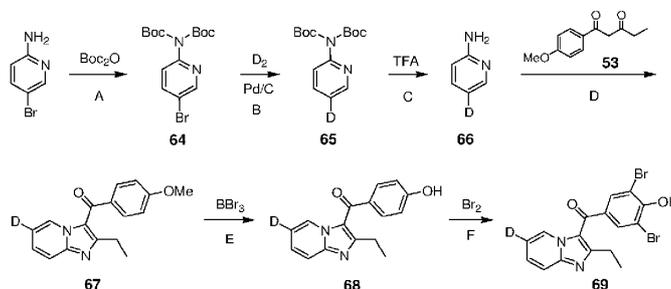
Стадия А.

К смеси 1-(2-бром-4-метоксифенил)этанона (1,28 г, 5,59 ммоль) и дейтероксида (0,5 мл) в ДМФ (10 мл) добавляли палладий на активированном угле (5%, 100 мг). После обмена с газообразным дейтерием реакционную смесь перемешивали в атмосфере дейтерия из баллона в течение ночи и фильтровали через слой целита. К фильтрату добавляли воду (40 мл) и смесь экстрагировали этилацетатом (30 мл×2). Объединенный органический слой промывали водой (10 мл×4), сушили над безводным сульфатом натрия, концентрировали в вакууме и получали 1-(2-дейтеро-4-метоксифенил)этанон (59) (910 мг) с 100% выходом.

Методику, использованную на стадии С примера 15, применяли на стадии В и получали соединение 60.

Методики, описанные на стадиях В, С и D в примере 1, применяли на стадиях С, D и E и получали (2-дейтеро-4-гидроксифенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон (62) и (2-дейтеро-3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон (63). Соединение 62: ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц) δ 11,20 (s, 1H), 9,16 (d, J=6,8 Гц, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,74 (d, J=8,8 Гц, 1H), 7,61-7,56 (m, 2H), 7,19-7,15 (m, 1H), 7,11-7,09 (m, 1H), 2,46 (q, J=7,2 Гц, 2H), 1,15 (t, J=7,2 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 268,2 [M+H] $^+$. Соединение 63: ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц) δ 9,19 (d, J=6,8 Гц, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,76 (d, J=8,8 Гц, 1H), 7,63-7,59 (m, 1H), 7,21-7,18 (m, 1H), 2,44 (q, J=7,2 Гц, 2H), 1,17 (t, J=7,2 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 426,0 [M+H] $^+$.

Пример 28. Синтез ((6-дейтеро-2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(3,5-дибром-4-гидроксифенил)метанона (69)



Стадия А.

Смесь 5-бромпиридин-2-амина (5,19 г, 30,0 ммоль), этилдиизопропиламина (8,58 г, 66,4 ммоль), 4-диметиламинопиридина (366 мг, 3,0 ммоль) и ди-трет-бутилдикарбоната (14,4 г, 66,0 ммоль) в дихлорметане (30 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:20-1:3) и получали (2-(4-бром-2-пиридинил)-1,3-бис(1,1-диметилэтиловый)) эфир имидодикарбоновой кислоты (64) (5,38 г) с 48,0% выходом.

Стадия В.

К смеси соединения 64 (5,59 г, 15,0 ммоль), ДМФ (25 мл) и дейтероксида (0,5 мл) добавляли палладий на активированном угле (5%, 200 мг). После обмена с газообразным дейтерием реакционную смесь перемешивали в атмосфере дейтерия из баллона в течение 48 ч. Реакционную смесь фильтровали через слой целита. К фильтрату добавляли воду (100 мл) и экстрагировали этилацетатом (50 мл×3). Объединенный органический слой промывали водой (30 мл×3), сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:40-1:1) и получали (2-(4-дейтеро-2-пиридинил)-1,3-бис(1,1-диметилэтиловый)) эфир имидодикарбоновой кислоты (65) (2,70 г) с 60,9% выходом.

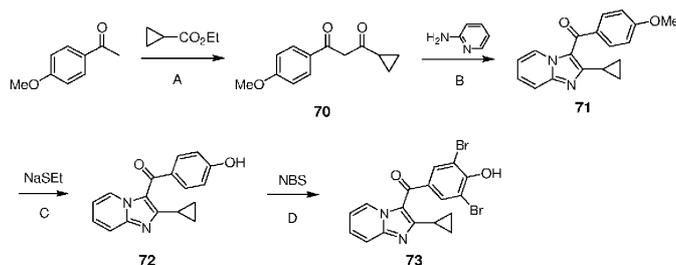
Стадия С.

Смесь соединения 65 (2,69 г, 9,11 ммоль), трифторуксусной кислоты (4 мл) и воды (0,5 мл) в ди-

хлорметане (20 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. К реакционной смеси добавляли воду (30 мл) и значение pH смеси устанавливали равным pH 8-9 с помощью 2 М водного раствора гидроксида натрия и экстрагировали этилацетатом (40 мл×3). Объединенный органический слой сушили над безводным сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле (при элюировании смесью этилацетат/петролейный эфир=1:10:1) и получали 2-амино-4-дейтеропиридин (66) (676 мг) с 78,0% выходом.

Методики, описанные на стадиях В, С и D в примере 25, применяли на стадиях D, Е и F и получали (6-дейтеро-2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(3,5-дибром-4-гидроксибензил)метанон (69). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц) δ 9,20-9,19 (m, 1H), 7,88 (s, 2H), 7,77-7,75 (m, 1H), 7,64-7,59 (m, 1H), 2,43 (q, J=7,6 Гц, 2H), 1,16 (t, J=7,6 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 426,0 [M+H]⁺.

Пример 29. Синтез (2-циклопропилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(3,5-дибром-4-гидроксибензил)метанона (73)

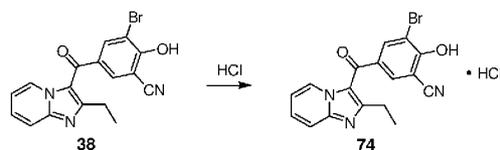


С использованием этилциклопропанкарбоксилата в качестве исходного вещества соединение 71 получали в соответствии с методиками стадий А и В в примере 24. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц) δ 9,24-9,23 (m, 1H), 7,81-7,79 (m, 2H), 7,68-7,65 (m, 1H), 7,58-7,56 (m, 1H), 7,16-7,09 (m, 3H), 3,87 (s, 3H), 1,56-1,54 (m, 1H), 1,08-1,06 (m, 2H), 0,88-0,85 (m, 2H).

Методику, использованную на стадии Е в примере 15, применяли на стадии С и получали (2-циклопропилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(4-гидроксибензил)метанон (72). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц) δ 9,17-9,16 (m, 1H), 7,72-7,70 (m, 2H), 7,66-7,64 (m, 1H), 7,55-7,51 (m, 1H), 7,14-7,10 (m, 1H), 6,91-6,89 (m, 2H), 1,62-1,60 (m, 1H), 1,07-1,05 (m, 2H), 0,88-0,85 (m, 2H).

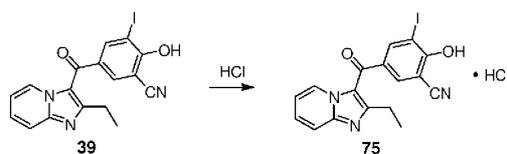
Методику, использованную на стадии F примера 15, применяли на стадии D и получали (2-циклопропилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(3,5-дибром-4-гидроксибензил)метанон (73). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц) δ 9,25-9,23 (m, 1H), 7,97 (s, 2H), 7,70-7,68 (m, 1H), 7,61-7,57 (m, 1H), 7,20-7,16 (m, 1H), 1,58-1,55 (m, 1H), 1,13-1,10 (m, 2H), 0,94-0,89 (m, 2H). МС (ИЭ, m/z): 437,0 [M+H]⁺.

Пример 30. Синтез 3-бром-5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидроксибензонитрилгидрохлорида (74)



Смесь соединения 38 (970 мг, 2,62 ммоль) в этилацетате (200 мл) перемешивали при кипячении с обратным холодильником в течение 20 мин и получали прозрачный раствор, затем охлаждали до комнатной температуры, пропускали хлорид водорода в течение примерно 5 мин. Образовавшиеся осадки собирали фильтрованием и получали 3-бром-5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидроксибензонитрилгидрохлорид (74) (794 мг) с 74,5% выходом. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 300 МГц) δ 9,12 (d, J=6,9 Гц, 1H), 8,22 (d, J=2,1 Гц, 1H), 8,09 (d, J=2,1 Гц, 1H), 7,99-7,91 (m, 2H), 7,50-7,45 (m, 1H), 2,57 (q, J=7,5 Гц, 2H), 1,23 (t, J=7,5 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 368,0 [M-H]⁻.

Пример 31. Синтез 5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидрокси-3-йодбензонитрилгидрохлорида (75)



С использованием соединения 39 в качестве исходного вещества соединение 75 получали по той же методике, что и в примере 30. ¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 300 МГц) δ 9,11 (d, J=6,9 Гц, 1H), 8,41 (d, J=1,8 Гц, 1H), 8,11 (d, J=2,1 Гц, 1H), 8,02-7,95 (m, 2H), 7,54-7,49 (m, 1H), 2,59 (q, J=7,5 Гц, 2H), 1,25 (t, J=7,5 Гц, 3H). МС (ИЭ, m/z): 416,0 [M-H]⁻.

Пример 32: Исследование ингибирования транспорта мочевой кислоты соединениями в трансфицированных клетках линии HEK293-hURAT1.

1. Материалы.

Бензбромарон приобретали у фирмы Sigma-Aldrich Co. LLC. Плазмиду pCMV6-hURAT1 приобретали у фирмы Origene Technologies, Inc. G418 приобретали у фирмы Sangon Biotech (Shanghai) Co., Ltd. Клетки линии HEK293 приобретали у фирмы Cell Resource Center of Shanghai Institutes for Biological Sciences of the Chinese Academy of Sciences. ¹⁴C-Мочевую кислоту приобретали у фирмы American Radio-labeled Chemicals, Inc. Глюконат натрия, глюконат калия, глюконат кальция, КН₂РО₄, MgSO₄, глюкозу и НЕРЕС приобретали у фирмы Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd. Культуральную среду DMEM и фетальную бычью сыворотку приобретали у фирмы Thermo Fisher Scientific Inc.

2. Экспериментальные методики.

2.1. Подготовка стабильной линии клеток HEK293 с высоким экспрессированием hURAT1: Плазмиду pCMV6-hURAT1 трансфицировали в клетки HEK293, затем стабильный штамм получали с помощью скрининга резистентности G418 (конечная концентрация 500 мкг/мл), который характеризуется высокой экспрессией мембранного белка переноса hURAT1. Его можно использовать для *in vitro* исследования ингибирования переносчика мочевой кислоты hURAT1. (Weaver Y.M., Ehresman D.J., Butenhoff J.L., et al. Roles of rat renal organic anion transporters in transporting perfluorinated carboxylates with different chain lengths. *Toxicological Sciences*, 2009, 113(2):305-314).

2.2. В 24-луночный планшет с покрытием добавляли 200 мкл 0,1 мг/мл по/лунка и планшет выдерживали в течение ночи. Полилизин удаляли из лунок. Лунки тщательно очищали асептической водой и для использования сушили.

2.3. В указанный выше 24-луночный планшет с покрытием добавляли стабильные клетки HEK293-hURAT1 (2×10⁵ клеток/лунка). Клетки выращивали при 37°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 3 дней.

2.4. Подготовка буфера HBSS: указанные ниже реагенты отвешивали для обеспечения конечной концентрации равной 125 мМ глюконата натрия, 4,8 мМ глюконата калия, 1,3 мМ глюконата кальция, 1,2 мМ КН₂РО₄, 1,2 мМ MgSO₄, 5,6 мМ глюкозы и 25 мМ НЕРЕС в деионизированной воде. Раствор тщательно перемешивали и получали буфер HBSS (значение pH: 7,4). Буфер хранили при -20°C.

2.5. Буфер HBSS нагревали при 37°C на водяной бане. Клетки дважды промывали с помощью HBSS, в лунку добавляли 160 мкл HBSS и 20 мкл исследуемого соединения. Конечная концентрация исследуемого соединения в лунке равнялась 500 нМ. Холостая контрольная лунка содержала только 180 мкл HBSS без исследуемого соединения. Планшет держали при комнатной температуре в течение 30 мин.

2.6. В каждую лунку добавляли 20 мкл 50 мкМ ¹⁴C-мочевой кислоты. Планшет держали при комнатной температуре в течение 20 мин.

2.7. Раствор из каждой лунки удаляли и клетки каждой лунки промывали с помощью повторно охлажденного буфера HBSS. В каждую лунку добавляли 0,2 М NaOH для растворения клеток. Раствор, содержащий фрагменты клеток, собирали и добавляли надлежащее количество сцинтилляционной жидкости. Затем интенсивность излучения радиоизотопа ¹⁴C-мочевой кислоты (значение CPM) детектировали с помощью жидкостного сцинтилляционного анализатора PerkinElmer MicroBeta Trilux 1450.

2.8. Все исследования повторяли трижды и результаты усредняли и рассчитывали стандартное отклонение (SD). Формула для расчета степени ингибирования переноса мочевой кислоты соединениями приведена ниже:

$$\text{Степень ингибирования (\%)} = \frac{\text{CPM холостой контрольной лунки} - \text{CPM лунки с исследуемым соединением}}{\text{CPM холостой контрольной лунки}} \times 100\%$$

3. Результаты исследований.

Степени ингибирования переноса мочевой кислоты соединениями 4, 5, 9, 11, 12, 18, 19, 29, 30, 33, 38, 39, 41, 45, 51, 52, 56, 69, 74, 75 и бензбромароном при 500 нМ, установленные по указанным выше экспериментальным методикам. Результаты исследования приведены в табл. 1. Результаты показывали, что по сравнению с контрольным лекарственным средством бензбромароном соединения оказывают такое же или лучшее ингибирующее воздействие на перенос мочевой кислоты в линии трансфицированных клеток HEK293-hURAT1.

Таблица 1
 Степени ингибирования переноса мочевой кислоты исследуемыми соединениями и бензбромароном при 500 нМ в линии трансфицированных клеток HEK293-hURAT1

Номер соединения или лекарственного средства	Степени ингибирования переноса мочевой кислоты, \pm SD (%)
BBR	55,57 \pm 1,42
4	71,68 \pm 1,84
5	63,00 \pm 3,33
9	60,63 \pm 0,82
11	63,55 \pm 0,95
12	56,24 \pm 0,12
18	65,44 \pm 0,71
19	68,84 \pm 2,83
29	64,35 \pm 0,12
30	68,05 \pm 1,49
33	65,06 \pm 0,39
38	62,41 \pm 0,72
39	64,12 \pm 2,25
41	55,53 \pm 1,02
45	62,93 \pm 3,34
51	61,32 \pm 1,10
52	57,50 \pm 3,61
56	62,80 \pm 9,34
69	71,10 \pm 2,50
74	62,75 \pm 5,73
75	62,58 \pm 0,84

BBR - бензбромарон.

Пример 33. Исследование цитотоксичности соединений для линий нормальных клеток печени человека L-02 и WRL-68.

Сообщали, что бензбромарон характеризуется сильной гепатотоксичностью. Поэтому бензбромарон использовали в этом исследовании в качестве положительного контрольного лекарственного средства. Исследовали цитотоксичность соединений для двух линий нормальных клеток печени человека L-02 и WRL-68 соответственно.

1. Материалы.

Линию нормальных клеток печени человека L-02 приобретали у фирмы Procell Life Science & Technology Co., Ltd. Линию нормальных клеток печени человека WRL-68 получали у Life Science Institute of Nanjing University. Бензбромарон, резазурин и метиленовый синий приобретали у фирмы Sigma-Aldrich Co. LLC. Феррицианид калия и ферроцианид калия приобретали у фирмы Aladdin (Shanghai) Biological Technology Co., Ltd. Культуральную среду DMEM, не содержащую феноловый красный, культуральную среду DMEM и фетальную бычью сыворотку, приобретали у фирмы Thermo Fisher Scientific Inc. Пенициллин и стрептомицин приобретали у фирмы Beyotime Biotechnology Co., Ltd.

2. Экспериментальные методики.

2.1. Линии нормальных клеток печени L-02 и WRL-68 выращивали в культуральной среде DMEM (содержащей 10% фетальной бычьей сыворотки, 100 МЕ/мл пенициллина и 0,1 мг/мл стрептомицина) в инкубаторе в атмосфере 5% CO₂ при 37°C, пока плотность клеток не становилась равной примерно 90% соответственно.

2.2. Клетки инокулировали в 96-луночный планшет при содержании клеток, равной 1×10³/лунка, и затем выращивали в инкубаторе в атмосфере 5% CO₂ при 37°C в течение 24 ч.

2.3. Исследуемые соединения и бензбромарон при разных градиентах концентрации получали путем использования культуральной среды DMEM и добавляли в лунки по 100 мкл/лунка и их использовали в качестве лунок с соединениями. Культуральную среду DMEM добавляли в лунки по 100 мкл/лунка без исследуемого соединения и их использовали в качестве отрицательных контрольных лунок. Все планшеты держали в инкубаторе в атмосфере 5% CO₂ при 37°C в течение 120 ч.

2.4. Резазурин (15 мг/50 мл, 200×), метиленовый синий (25 мг/10 мл, 1000×), феррицианид калия (0,329 г/100 мл, 100×) и ферроцианид калия (0,422 г/100 мл, 100×) растворяли в PBS (0,1 М, pH 7,4) и

получали исходный раствор 10×Alamar Blue. Перед использованием этот раствор 10×Alamar Blue разбавляли раствором 1×Alamar Blue с культуральной средой DMEM без фенолового красного.

2.5. Клетки дважды промывали с помощью PBS (0,1 M, pH 7,4). Раствор Alamar Blue добавляли в лунки по 100 мкл/лунка. 100 мкл раствора Alamar Blue добавляли в лунки без клеток для использования в качестве холостых контрольных лунок. 96-Луночный планшет держали в инкубаторе в атмосфере 5% CO₂ при 37°C в течение 3 ч. Для каждой концентрации соединения исследование повторяли трижды.

2.6. Интенсивность флуоресценции клеток детектировали при длине волны возбуждения 530/испускания 590 нм с помощью ELISA Victor X4 (Perkin Elmer). Интенсивность флуоресценции клеток, содержащих соединение, обозначена с помощью F_(исследуемое соединение); интенсивность флуоресценции клеток без соединения, холостых контрольных, обозначена с помощью F_(холостой контроль); интенсивность флуоресценции отрицательных контрольных клеток обозначена с помощью E_(отрицательный контроль). Среднее значение и стандартное отклонение для жизнеспособности клеток при трех повторяющихся концентрациях рассчитывали по следующей формуле:

$$\text{Жизнеспособность клеток (\%)} = \frac{F_{(\text{исследуемое соединение})} - F_{(\text{холостой контроль})}}{F_{(\text{отрицательный контроль})} - F_{(\text{холостой контроль})}} \times 100\%$$

2.7. Концентрацию полумаксимального ингибирования (IC₅₀) соединениями для клеток L-02 и WRL-68 получали по данным для жизнеспособности клеток с помощью программного обеспечения Prism Graph.

3. Результаты исследований.

Концентрация полумаксимального ингибирования (IC₅₀) соединениями 4, 5, 9, 18, 33, 38, 39, 45, 51, 52, 56, 69, 74 и 75 для линий нормальных клеток печени человека L-02 и WRL-68 превышала 100 мкМ. IC₅₀ для бензбромарона для L-02 и WRL-68 составляла 40,17 мкМ и 45,54 мкМ соответственно.

Пример 34. Исследование выведения мочевой кислоты с помощью соединения 74 у мышей с гиперурикемией

1. Материалы.

1.1. Приготовление исследуемого соединения 74 и бензбромарона.

В соединение 74 или бензбромарон добавляли некоторое количество раствора 0,5% СМС-Na и смесь перемешивали при комнатной температуре и получали суспензию, соответствующую заданной дозе.

1.2. Животные.

Виды: мыши Kingming (Clean Level); массы тела от 25 до 30 г; возраст от 4 до 5 недель; пол: самцы. Этих мышей приобретали у фирмы Shanghai SLAC Laboratory Animal Co., Ltd. Certificate No.: SCXK (HU) 2012-2002. Сертификат качества животных № 2015000522173.

1.3. Реагенты.

Порошкообразный экстракт дрожжей приобретали у фирмы Beijing Aoxing Biology Co., Ltd. Аденин и окосонат калия приобретали у фирмы Aladdin (Shanghai) Biological Technology Co., Ltd. СМС-Na приобретали у фирмы Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd. Набор для исследования мочевой кислоты (методика на основе фосфорновольфрамовой кислоты) приобретали у фирмы Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute.

2. Экспериментальные методики.

2.1. Приготовление смешанной суспензии экстракта дрожжей и аденина.

Отвешивали некоторое количество аденина и порошкообразного экстракта дрожжей и добавляли некоторое количество бидистиллированной воды. Смесь перемешивали примерно при 60°C в течение 40 мин и получали суспензию, в которой концентрация экстракта дрожжей равнялась 0,6 г/мл и концентрация аденина равнялась 12 мг/мл.

2.2. Приготовление суспензии окосоната калия.

Суспензию 20 мг/мл окосоната калия готовили перед использованием путем смешивания некоторого количества окосоната калия с 0,5% раствором СМС-Na.

2.3. Образование модели гиперурикемии у мышей и введение исследуемых веществ.

Самцов мышей Kingming случайным образом разделяли на 4 группы: холостую контрольную группу, модельную группу, группу получавших соединение 74 и группу получавших бензбромарон. В каждую группу входили 6 мышей. До использования все мыши голодали в течение от 2 до 3 ч. Мышам модельной группы, группы получавших бензбромарон и группы получавших соединение 74 перорально давали суспензию экстракта дрожжей и аденина, приготовленную выше, с достижением конечной дозы, равной 10 г/кг (массы тела) экстракта дрожжей и 200 мг/кг (массы тела) аденина соответственно. Мышам холостой контрольной группы перорально давали только такой же объем обычного физиологического раствора. Через 2,5 ч всем мышам группы получавших соединение 74 и группы получавших бензбромарон давали 10 мл/кг суспензии соединения 74 (1,5 мг/мл) и 10 мл/кг суспензии бензбромарона (1,5 мг/мл) соответственно. Мышам холостой контрольной группы перорально давали такой же объем 0,5% раствора

СМС-На. Всех животных лечили одинаковым образом в течение 7 дней путем использования методик введения, описанных выше. В последний день после введения суспензии экстракта дрожжей и аденина мышам модельной группы, группы получавших соединение 74 и группы получавших бензбромарон, всем мышам этих 3 групп внутрибрюшинно вводили 12,5 мл/кг окосоната калия (20 мг/мл). Мышам холостой контрольной группы внутрибрюшинно вводили только такой же объем 0,5% раствора СМС-На. Через 30 мин мышам перорально давали соединение 74 и бензбромарон в таких же дозах, как и выше для группы получавших соединение 74 и группы получавших бензбромарон соответственно. Мышам холостой контрольной группы и модельной группы перорально давали такой же объем 0,5% раствора СМС-На.

2.3. Отбор и анализ образцов.

Отбор образцов мочи.

После введения исследуемых соединений в последний день всех мышей по отдельности помещали в клетки для изучения метаболизма с нормальным кормовым рационом. Собирали 24-часовую мочу и определяли объем мочи. Мочу центрифугировали при 3000 об/мин в течение 20 мин и собирали надосадочную жидкость.

Определение концентрации мочевой кислоты в образцах мочи мышей: концентрацию мочевой кислоты в образцах определяли с помощью набора для исследования мочевой кислоты (методика на основе фосфорновольфрамовой кислоты) по методикам, описанным в инструкции.

3. Результаты исследований.

Результаты стимулирования выведения мочевой кислоты у мышей с гиперурикемией приведены в табл. 2. И соединение 74, и бензбромарон значительно увеличивали выведение мочевой кислоты у мышей с гиперурикемией. Эффективность соединения 74 при стимулировании выведения мочевой кислоты была значительно выше, чем у бензбромарона. По сравнению с модельной группой мышей с гиперурикемией выведение мочевой кислоты соединением 74 увеличилось примерно на 46,77%, тогда как выведение мочевой кислоты бензбромароном увеличилось примерно на 25,35%.

Таблица 2

Исследование выведения мочевой кислоты с помощью соединения 74 и бензбромарона при пероральном введении мышам с гиперурикемией

Группа	Количество мышей	Доза (мг/кг)	Содержание мочевой кислоты в моче за 24 ч, \pm SD (ммоль)	Изменения выведения мочевой кислоты (по сравнению с модельной группой, %)
Холостая контрольная	6	/	6,80 \pm 2,17	63,61
Модельная	6	/	10,69 \pm 1,48**	100
ВВР	6	15	13,40 \pm 1,59*	125,35
Соединение 74	6	15	15,69 \pm 1,53***	146,77

Изменение выведения мочевой кислоты в модельной группе принято за 100%;

по сравнению с холостой контрольной группой ^{##} означает P<0,01;

по сравнению с модельной группой * означает P<0,05, ** означает P<0,01;

по сравнению с группой получавших бензбромарон [▲] означает P<0,05.

Пример 35. Исследование острой токсичности одной дозы соединения 74 для крыс.

1. Материалы.

1.1. Приготовление исследуемого соединения 74 и бензбромарона соединение 74 и бензбромарон размалывали и до использования некоторое количество 0,5% раствора СМС-На добавляли к приготовленной суспензии соответственно. Бензбромарон приобретали у фирмы Mianyang Kaixing Pharmaceutical Technology Co., Ltd. Номер партии ВXML-201506005.

1.2. Животные.

Виды: крысы SD (SPF Level); массы тела от 120 до 180 г; возраст от 5 до 6 недель. Источник: приобретали у фирмы Animal Research Center of Wuhan University; certificate No.: SCXK (E) 2014-0004; сертификат качества животных № 2015000522173.

2. Экспериментальные методики и результаты.

В предварительном исследовании острой токсичности для крыс наибольшая доза, равная 5 г/кг соединения 74, не приводила к гибели крыс. Поэтому в этом исследовании дозу соединения 74 принимали равной 5 г/кг. Доза бензбромарона, равная 0,14 г/кг, в предварительном исследовании не приводила к гибели крыс. Поэтому в этом исследовании дозу бензбромарона принимали равной 0,14 г/кг.

Крыс случайным образом разделяли на группу А1, группу В1 и холостую контрольную группу. В

каждую группу входили 10 крыс, половину составляли самцы и половину самки. Разовую дозу суспензии соединения 74, суспензии бензбромарона и 0,5% раствора СМС-На по 20 мл/кг давали перорально крысам группы А1, группы В1 и холостой контрольной группы соответственно после голодания в течение 6 ч.

Дозы и смертность для каждой группы приведены в табл. 3. Непосредственная токсичность не обнаружена ни для одной группы и отложенная токсичность не обнаружена при наблюдении в течение от 24 ч до 14 дней. Все крысы выживали в хорошем состоянии и с увеличением массы. Изменения массы приведены в табл. 4. Максимальные переносимые дозы соединения 74 и бензбромарона при исследовании острой токсичности равнялись 5 и 0,14 г/кг соответственно.

Таблица 3

Дозы и смертность крыс SD в каждой группе

Группа	Образец	Доза (г/кг)	Количество образца (мг)	Объем (мл)	Концентрация (мг/мл)	Смертность
А1	74	5,0	7520,9	30,0	250	0/10
В1	ВВР	0,14	272,2	38,9	7	0/10

В каждую группу входили 10 крыс.

Таблица 4

Изменения массы крыс SD в каждой группе

Образец	Количество и пол крыс	0 день	7 день	14 день	Увеличение массы (%)
		$(\bar{x} \pm SD)$ (г)	$(\bar{x} \pm SD)$ (г)	$(\bar{x} \pm SD)$ (г)	
74	5 (М)	149,06±5,9 5	204,04± 21,69	258,12± 17,65	+73,2
	5 (F)	135,94±5,6 2	183,02± 11,10	208,04± 11,90	+53,0
ВВР	5 (М)	149,36±3,2 5	207,80± 8,72	273,88± 13,54	+83,4
	5 (F)	139,04±6,6 0	175,00± 6,24	201,30± 19,84	+44,8
Холостой контроль ный	5 (М)	147,64±4,4 8	191,16± 13,65	248,34± 23,13	+68,2
	5 (F)	134,20±4,0 7	173,28± 9,27	204,44± 15,70	+52,3

"Увеличение массы" означает увеличение массы крыс на 14 день по сравнению с днем 0 и "+" означает увеличение массы.

Пример 36. Исследование фармакокинетики соединения 74 после внутривенного и перорального введения крысам SD.

1. Материалы.

1.1. Приготовление раствора исследуемого соединения 74.

Приготовление дозы препарата для ПО (пероральное введение): Отвешивали необходимое количество соединения 74. Добавляли примерно 70% 0,5% СМС-На при перемешивании, взбалтывании и обработке ультразвуком содержимого лунок до видимого образования хорошей суспензии. Затем добавляли оставшийся разбавитель до целевого конечного объема и перемешивали взбалтыванием.

Приготовление дозы препарата для ВВ (внутривенное введение): Отвешивали необходимое количество соединения 74. При обработке ультразвуком добавляли надлежащее количество ДМСО до растворения, затем добавляли надлежащее количество водного раствора НР-β-циклодекстрина (20%, мас./об.) при взбалтывании для перемешивания содержимого лунки.

1.2. Животные.

Виды: крысы SD (SPF Level); пол: самцы; источник: Sino-British SIPPR/BK Lab Animal Ltd., Shanghai.

2. Методики.

2.1. Доза и введение.

Животные, которым дозу давали перорально, до перорального введения голодали в течение ночи (10-14 ч). Животным, которым дозу давали перорально, возобновляли выдачу корма через 4 ч после введения дозы. Информация о вводимых дозах приведена в табл. 5.

Таблица 5

Дозы соединения для крыс SD						
Образец	Группа	Масса (г)	Доза (мг/кг)	Концентрация (мг/мл)	Объем (мл)	Путь введения
74	А-1	188,2	10	1	1,9	Пероральный (ПО)
		197,3			2,0	
		213,0			2,1	
	А-2	207,8	1	0,2	1,0	Внутривенный (ВВ)
		221,1			1,1	
		220,9			1,1	

2.2. Сбор и биологический анализ образцов.

Пробы крови (примерно 250 мкл/проба) отбирали из яремной вены до введения и после введения (5, 15, 30 мин, 1, 2, 4, 6, 8 и 24 ч). Пробы крови помещали в пробирки, содержащие гепарин-натрий, и центрифугировали при 8000 об/мин в течение 6 мин при 2-8°C для отделения плазмы от проб. Образец плазмы (50 мкл) переносили в пробирку, затем к нему добавляли 250 мкл раствора IS (200 нг/мл толбу-тамида). После взбалтывания в течение 1 мин и центрифугирования в течение 5 мин при 15000 об/мин аликвоты надосадочной жидкости по 200 мкл переносили в 96-луночный планшет для анализа с помощью ЖХ-МС/МС (ЖХ - жидкостная хроматография, МС - масс-спектрометрия). Градуировочный график для соединения 74 строили в диапазоне от 1 до 1000 нг/мл. LLOQ для плазмы равнялось 1 нг/мл.

2.3. Фармакокинетический анализ.

Для расчета параметров использовали неблочный модуль программы WinNonlin® Professional 5.2. Биологическую доступность рассчитывали по формуле

$$F\% = \frac{\text{Доза}_{(ВВ)} \times \text{AUC}_{(0-t)(ПО)}}{\text{Доза}_{(ПО)} \times \text{AUC}_{(0-t)(ВВ)}} \times 100\%$$

3. Результаты.

Фармакокинетические параметры для крыс SD при введении соединения 74, полученные с помощью указанных выше методик, приведены в табл. 6. Соединение 74, предлагаемое в настоящем изобретении, обладает хорошими фармакокинетическими параметрами и высокой биологической доступностью для крыс SD.

Таблица 6

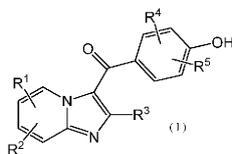
Фармакокинетические параметры соединения 74 для крыс SD после перорального введения и внутривенного введения

Пероральное введение (ПО: 10 мг/кг)							
Количество крыс	t _{1/2} (ч)	T _{max} (ч)	C _{max} (нг/мл)	AUC _(0-t) (нг/мл*ч)	MRT _(0-∞) (ч)	F*	(%)
101	2,70	2,00	8251,74	89284,20	6,00	100,28	
102	2,90	2,00	9205,06	89890,12	5,90	100,96	
103	3,00	6,00	6976,14	96188,83	6,80	108,04	
Mean	2,90	3,30	8144,31	91787,72	6,30	103,09	
SD	0,10	2,30	1118,34	3823,50	0,50	4,29	
Внутривенное введение (ВВ: 1 мг/кг)							
Количество крыс	t _{1/2} (ч)	T _{max} (ч)	C _{max} (нг/мл)	AUC _(0-t) (нг/мл*ч)	Vz (мл/кг)	Clz (мл/ч/кг)	MRT _(0-∞) (ч)
201	5,40	0,10	5494,59	8786,13	858,55	110,23	5,40
202	6,00	0,10	6705,53	9076,84	917,79	105,66	5,60
203	6,00	0,10	6885,21	8847,27	934,49	108,65	5,40
Mean	5,80	0,10	6361,78	8903,41	903,61	108,18	5,50
SD	0,30	0,00	756,36	153,27	39,90	2,32	0,10

* - определено по AUC_(0-t)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I)



или его фармацевтически приемлемая соль, в которой

R^1 и R^2 независимо выбраны из группы, включающей водород, дейтерий, галоген, цианогруппу, гидроксигруппу, C_{1-5} алкил, замещенный C_{1-5} алкил, C_{1-3} алкоксигруппу, C_{1-3} алкоксигруппу, замещенную одним или большим количеством заместителей;

R^3 выбран из группы, включающей $C_{1,4}$ алкил или $C_{3,4}$ циклоалкил;

R^4 и R^5 независимо выбраны из группы, включающей галоген, цианогруппу, C_{1-3} алкил, замещенный C_{1-3} алкил, C_{1-3} алкилтиогруппу или C_{1-3} алкилтиогруппу, замещенную одним или большим количеством заместителей;

где заместители в R^1 , R^2 , R^4 и R^5 независимо выбраны из галогена.

2. Соединение по п.1 формулы (I) или его фармацевтически приемлемая соль, в котором

R^1 и R^2 независимо выбраны из группы, включающей водород, дейтерий, фтор, хлор, бром, цианогруппу, гидроксигруппу, C_{1-3} алкил, замещенный C_{1-3} алкил, C_{1-3} алкоксигруппу или C_{1-3} алкоксигруппу, замещенную одним или большим количеством заместителей;

где заместители независимо выбраны из галогена.

3. Соединение по п.2 или его фармацевтически приемлемая соль, в котором

R^1 и R^2 независимо выбраны из группы, включающей водород, дейтерий, фтор, хлор, бром, CN, C_{1-3} алкил, C_{1-3} галогенированный алкил или C_{1-3} алкоксигруппу.

4. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, в котором

R^3 выбран из группы, включающей C_{1-3} алкил и $C_{3,4}$ циклоалкил.

5. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, в котором

R^4 и R^5 независимо выбраны из группы, включающей галоген, цианогруппу, $C_{1,2}$ алкил, замещенный $C_{1,2}$ алкил, $C_{1,2}$ алкилтиогруппу или $C_{1,2}$ алкилтиогруппу, замещенную одним или большим количеством заместителей;

где заместители независимо выбраны из галогена.

6. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, в котором

R^4 и R^5 независимо выбраны из группы, включающей галоген, цианогруппу, $C_{1,2}$ алкил, $C_{1,2}$ галогенированный алкил или $C_{1,2}$ алкилтиогруппу.

7. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, выбранная из группы, включающей

- (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон;
- (2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(4-гидрокси-3,5-дйодфенил)метанон;
- (3-хлор-4-гидроксифенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон;
- (3-хлор-4-гидрокси-5-йодфенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон;
- 3-хлор-5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидроксибензонитрил;
- (3-бром-4-гидрокси-5-йодфенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон;
- (2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(4-гидрокси-3-йод-5-метилфенил)метанон;
- (3-бром-5-хлор-4-гидроксифенил)(2-этил-6-фторимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон;
- (3-хлор-4-гидрокси-5-йодфенил)(2-этил-6-фторимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон;
- 5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидрокси-3-метилбензонитрил;
- (3-бром-4-гидрокси-5-(трифторметил)фенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон;
- (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-этил-6-метилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон;
- (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-этил-6-метоксиимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон;
- 3-бром-5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидроксибензонитрил;
- 5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидрокси-3-йодбензонитрил;
- 5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-3-фтор-2-гидроксибензонитрил;
- (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-пропилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон;
- (3-бром-5-хлор-4-гидроксифенил)(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон;
- (3-бром-5-фтор-4-гидроксифенил)(2-этил-6-фторимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон;
- (2-этил-6-фторимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(3-фтор-4-гидрокси-5-йодфенил)метанон;
- (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-этил-6-гидроксиимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон;
- (6-бром-2-этил-7-метилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(3,5-дибром-4-гидроксифенил)метанон;
- (3,5-дибром-4-гидроксифенил)(2-этил-7-(трифторметил)имидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)метанон;
- 3-(3,5-дибром-4-гидроксифенил)-2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-6-карбонитрил;
- (6-дейтеро-2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(3,5-дибром-4-гидроксифенил)метанон;

(2-циклопропилимидазо[1,2-а]пиридин-3-ил)(3,5-дибром-4-гидроксифенил)метанон;
3-бром-5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидроксибензонитрилгидрохлорид и
5-(2-этилимидазо[1,2-а]пиридин-3-карбонил)-2-гидрокси-3-йодбензонитрилгидрохлорид.

8. Фармацевтическая композиция, обладающая ингибирующим действием на переносчик 1 аниона урата (URAT1), включающая соединение по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемую соль в качестве активного ингредиента и фармацевтически приемлемый носитель.

9. Применение соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли для приготовления лекарственного средства для увеличения выведения мочевой кислоты.

10. Применение соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли для приготовления лекарственного средства для лечения или предупреждения гиперурикемии, нефроза или подагры.

