

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037744**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.05.17

(21) Номер заявки
201892480

(22) Дата подачи заявки
2017.06.09

(51) Int. Cl. **C07D 401/14** (2006.01)
C07D 413/14 (2006.01)
A61K 31/42 (2006.01)
A61K 31/415 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) СОЕДИНЕНИЯ, МОДУЛИРУЮЩИЕ FXR (NR1H4)

(31) **62/349,479**

(32) **2016.06.13**

(33) **US**

(43) **2019.07.31**

(86) **PCT/US2017/036743**

(87) **WO 2017/218337 2017.12.21**

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

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

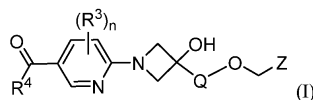
(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) **WO-A1-2013007387**
WO-A1-2011020615

CAROTTI, A. ET AL.: "Beyond Bile Acids: Targeting Farnesoid X Receptor (FXR) with Natural and Synthetic Ligands", CURRENT TOPICS IN MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 14, 2014, pages 2129-2142, XP002772460, figure 8

CARR ROTONYA M. ET AL.: "FXR Agonists as Therapeutic Agents for Non-alcoholic Fatty Liver Disease", CURRENT ATHEROSCLEROSIS REPORTS, CURRENT SCIENCE, US, vol. 17, no. 4, 18 February 2015 (2015-02-18), pages 1-14, XP035470130, ISSN: 1523-3804, DOI: 10.1007/S11883-015-0500-2 [retrieved on 2015-02-18], the whole document

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

**B1****037744****037744 B1**

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США № 62/349479, поданной 13 июня 2016, содержание которой включено в настоящую заявку посредством ссылки.

Перечень последовательностей

Перечень последовательностей, связанных с настоящей заявкой, представлен в текстовом ASCII файле вместо бумажной копии и, таким образом, включен в настоящее описание посредством ссылки. Название текстового файла, содержащего перечень последовательностей, представляет собой 1164_PF_ST25.txt. Текстовый файл, созданный 16 мая 2017, имеет размер примерно 550 байт и представляется в электронном виде при помощи EFS-Web.

Область техники

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

Уровень техники

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

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

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

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

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

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

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

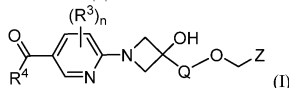
клеточной экспрессии генов FXR, по-видимому, также участвует в паракринной и эндокринной передаче сигналов посредством повышающей регуляции экспрессии цитокина, фактора роста фибробластов 15 (грызуны) или 19 (обезьяны, люди A).

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

Краткое описание изобретения

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

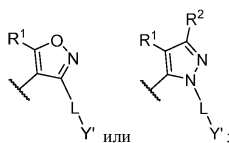
В настоящем изобретении предложены соединения в соответствии с формулой (I)



где

Q представляет собой фенилен или пиридилен, каждый из которых необязательно замещен одним или двумя заместителями, выбранными из галогена;

Z представляет собой



L представляет собой связь;

Y' представляет собой фенил или пиридил, где указанные фенил и пиридил замещены одним, двумя или тремя группами, выбранными из галогена;

R¹ представляет собой C₃₋₆циклоалкил,

R² представляет собой водород;

R³ представляет собой галоген, C₁₋₄алкил или галоген-C₁₋₄алкил;

R⁴ представляет собой гидроксил;

n равняется 0 или 1;

или их фармацевтически приемлемая соль.

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

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

Подробное описание изобретения

Определения

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

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

Изобретение, иллюстративно описанное в настоящем документе, можно подходящим образом применять на практике при отсутствии любого элемента или элементов, ограничения или ограничений, конкретно не раскрытых в настоящем документе. Таким образом, например, термины "содержащий", "включающий" и т.п. следует читать в широком смысле и без ограничений. Кроме того, термины и выражения, применяемые в настоящем документе, применяют в качестве терминов описания, а не ограничения, и применение таких терминов и выражений не подразумевает исключение любых эквивалентов представленных и описанных отличительных признаков или их фрагментов и подразумевает, что возможны различные модификации в пределах объема заявленного изобретения.

Штрих ("-"), который не находится между двумя буквами или символами, применяют для указания места присоединения заместителя. Например, -C(O)NH₂ присоединен через атом углерода. Штрих в начале или конце химической группы используют для удобства; химические группы могут быть изображены с одним или более штрихами или без них без потери своего обычного значения. Волнистая линия, проведенная через структуру, указывает место присоединения группы. Если химически или структурно не требуется, направленность не указывается и не подразумевается порядком, в котором написана или названа химическая группа.

Приставка "C_{u-v}" указывает, что следующая группа содержит от u до v атомов углерода. Например, "C₁₋₆алкил" указывает, что алкильная группа содержит от 1 до 6 атомов углерода.

В настоящем документе ссылка на "примерное" значение или параметр включает (и описывает) ва-

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

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

Применяемый в настоящем документе термин "галогеналкил" относится к алкильной цепи, в которой один или более атомов водорода заменены на галоген. Неограничивающим примером является CF₃.

"Алкилен" относится к алкильной группе, которая является двухвалентной и соединяет присоединенный остаток с остальной частью молекулы.

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

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

"Галоген" или "галоген-" относится к атому F, Cl, Br или I.

"Гидроксил" или "гидрокси" относится к -ОН.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Соединения согласно настоящему изобретению могут находиться в форме фармацевтически приемлемой соли. Термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к солям, полученным из фарма-

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

Композиции, предложенные в настоящем документе, содержат соединение, описанное в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемые соли.

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

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

Меченные или замеченные дейтерием терапевтические соединения согласно настоящему изобретению могут иметь улучшенные свойства DMPK (метаболизм и фармакокинетика лекарственного средства), связанные с распределением, метаболизмом и выделением (ADME). Замена более тяжелыми изо-

топами, такими как дейтерий, может обеспечивать определенные терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, например, увеличение периода полувыведения *in vivo*, снижение требований к дозировке и/или улучшение терапевтического индекса. Соединение, меченое ^{18}F , может подходить для применения для ПЭТ или ОФЭКТ исследований.

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

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

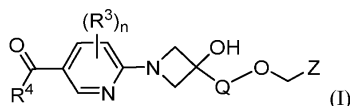
"Фармацевтическая композиция" обозначает один или более активных ингредиентов и один или более инертных ингредиентов, которые составляют вещество-носитель, а также любой продукт, который прямо или косвенно образуется в результате комбинирования, комплексообразования или агрегации любых двух или более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

Список аббревиатур и акронимов

2-Ме-ТГФ - 2-Метилтетрагидрофуран
 БСА - Бычий сывороточный альбумин
 ВОС или Вос - трет-Бутилоксикарбонил
 ССР - Сбалансированный солевой раствор
 calcd - Вычислено
 ДХМ - Дихлорметан
 ДМФ - Диметилформамид
 ДМСО - Диметилсульфоксид
 Et - Этил
 ЭДТА - Этилендиаминтетрауксусная кислота
 ИЭР - Ионизация электрораспылением
 Et₂O - Диэтиловый эфир
 EtOAc - Этилацетат
 EtOH - Этанол
 ФБС - Фетальная бычья сыворотка
 ч - Час(ы)
 i-Pr - Изопропил
 ИПТГ - Изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид
 ЖХМС или - Жидкостная хроматография/масс-спектрометрия
 ЖХ/МС
 МЕМ - Минимальная питательная среда
 MeOH - Метанол
 мин - Минута(ы)
 МС - Масс-спектрометрия
 m/z - Отношение массы к заряду
 ЯМР - Спектроскопия ядерного магнитного резонанса
 NCS - N-хлорсукцинимид
 n-BuLi - n-Бутиллитий
 об/мин - Обороты в минуту
 КТ - Комнатная температура
 ТБАФ - Тетрабутиламмония фторид
 TBS или TBDMS - трет-Бутилдиметилсилил
 ТГФ - Тетрагидрофуран

Соединения

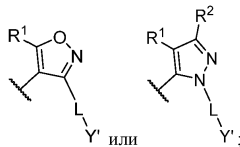
В настоящем изобретении предложены соединения в соответствии с формулой (I)



где

Q представляет собой фенилен или пиридилен, каждый из которых необязательно замещен одним или двумя заместителями, выбранными из галогена;

Z представляет собой



L представляет собой связь;

Y' представляет собой фенил или пиридил, где указанные фенил и пиридил замещены одним, двумя или тремя группами, выбранными из галогена;

R¹ представляет собой C₃₋₆циклоалкил,

R² представляет собой водород;

R³ представляет собой галоген, C₁₋₄алкил или галоген-C₁₋₄алкил;

R⁴ представляет собой гидроксил;

n равняется 0 или 1;

или их фармацевтически приемлемая соль.

В некоторых вариантах реализации Q представляет собой фенилен или пиридилен, каждый из которых необязательно замещен одним или двумя заместителями, выбранными из галогена. В некоторых вариантах реализации Q представляет собой фенилен, необязательно замещенный одним или двумя заместителями, выбранными из галогена. В некоторых вариантах реализации Q представляет собой пиридилен, необязательно замещенный одним или двумя заместителями, выбранными из галогена.

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

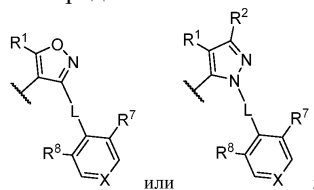
В некоторых вариантах реализации Q представляет собой фенилен, замещенный одним атомом хлора. В некоторых вариантах реализации Q представляет собой пиридилен, замещенный одним атомом хлора.

В некоторых вариантах реализации R¹ представляет собой C₃₋₆циклоалкил. В некоторых вариантах реализации R¹ представляет собой циклопропил. В некоторых вариантах реализации L представляет собой связь.

В некоторых вариантах реализации Y' представляет собой фенил, замещенный одной, двумя или тремя группами, выбранными из галогена.

В некоторых вариантах реализации Y' представляет собой пиридил, замещенный одной, двумя или тремя группами, выбранными из галогена.

В некоторых вариантах реализации Z представляет собой



где

L представляет собой связь;

X представляет собой CH или N;

R¹ представляет собой C₃₋₆циклоалкил,

R² представляет собой водород;

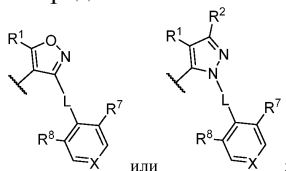
R³ представляет собой галоген, C₁₋₄алкил или галоген-C₁₋₄алкил;

R⁴ представляет собой гидроксил;

n равняется 0 или 1;

или их фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах реализации Z представляет собой



где

L представляет собой связь;

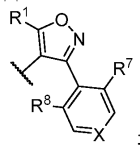
X представляет собой СН или N;

R¹ представляет собой C₃₋₆циклоалкил;

R² представляет собой водород и

R⁷ и R⁸ независимо представляют собой галоген.

В некоторых вариантах реализации Z представляет собой



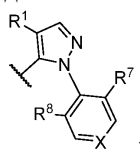
где

X представляет собой СН или N;

R¹ представляет собой циклопропил и

R⁷ и R⁸ независимо представляют собой галоген.

В некоторых вариантах реализации Z представляет собой



где

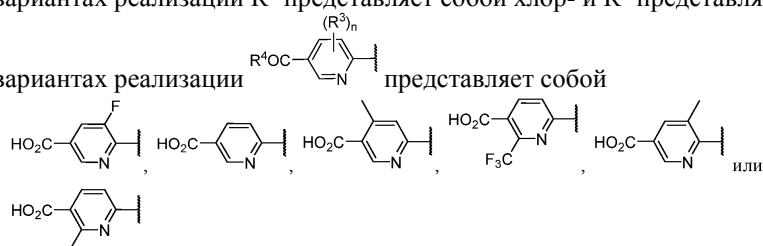
X представляет собой СН или N;

R¹ представляет собой C₃₋₆циклоалкил и

R⁷ и R⁸ независимо представляют собой галоген.

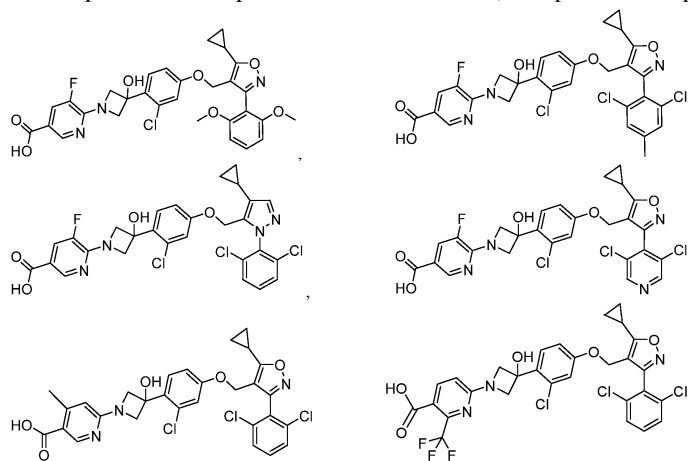
В некоторых вариантах реализации R⁷ представляет собой хлор- и R⁸ представляет собой хлор-.

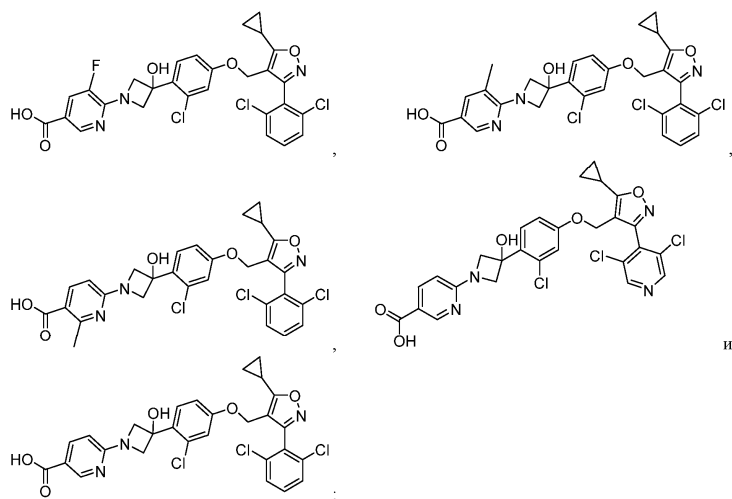
В некоторых вариантах реализации



В некоторых вариантах реализации R³ представляет собой галоген. В некоторых вариантах реализации R³ представляет собой фтор-. В некоторых вариантах реализации R³ представляет собой C₁₋₄алкил. В некоторых вариантах реализации R³ представляет собой метил. В некоторых вариантах реализации R³ представляет собой -CF₃.

В некоторых вариантах реализации предложено соединение, выбранное из группы, состоящей из





или его фармацевтически приемлемая соль.

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

Таблица 1

Пример	Структура	Наименование по ИЮПАК
1		6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотиновая кислота
2		6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотиновая кислота

3		6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-2-метилникотиновая кислота
4		6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-метилникотиновая кислота
5		6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота
6		6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-2-(трифторметил)никотиновая кислота
7		6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-4-метилникотиновая кислота
8		6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-диметоксифенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота
9		6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-метилфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота
10		6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота
11		6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота

Фармацевтические композиции и способы введения

Кроме того, в настоящем изобретении предложены фармацевтические композиции, содержащие по меньшей мере одно соединение согласно настоящему изобретению или его пролекарство, фармацевтиче-

ски приемлемую соль или сольват в качестве активного ингредиента вместе с фармацевтически приемлемым веществом-носителем.

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

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

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

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

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

Различные другие материалы могут присутствовать в виде покрытий или для модификации физической формы стандартной лекарственной формы. Например, таблетки можно покрывать шеллаком, сахаром или ими обоими. Сироп или эликсир в дополнение к активному ингредиенту может содержать сахарозу в качестве подсластителя, метил- и пропилпарабены в качестве консервантов, краситель и ароматизатор, такой как вишневый или апельсиновый ароматизатор.

Поскольку солевые формы ионных соединений могут существенно влиять на биодоступность, соединения согласно настоящему изобретению также можно применять в виде солей с различными противоионами для получения перорально доступного состава. Фармацевтически приемлемые противоионы могут представлять собой моно- или бивалентные ионы, такие как ионы аммония, щелочных металлов, натрия или калия, или щелочноземельных металлов, магния или кальция, некоторых фармацевтически приемлемых аминов, таких как трис(гидроксиметил)аминометан, этилендиамин, диэтиламин, пиперазин или другие, или некоторых катионогенных аминокислот, таких как лизин или аргинин.

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

Фармацевтические формы, подходящие для инъекционного применения, включают стерильные водные растворы или дисперсии и стерильные порошки для приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий для немедленного приема. Во всех случаях форма должна быть стерильной и должна быть достаточно жидкой, чтобы ее можно было легко вводить шприцем. Она должна являться стабильной в условиях производства и хранения и должна быть защищена от загрязнения микроорганиз-

мами, такими как бактерии и грибки. Вещество-носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, этанол, многоатомный спирт (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль), их подходящие смеси и растительные масла.

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

Наборы

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

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

Способы лечения и применения

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

"Предотвращение" или "профилактика" относится к лечению заболевания или состояния, которое приводит к тому, что клинические симптомы заболевания или состояния не развиваются или не прогрессируют. В некоторых вариантах реализации соединения можно вводить субъекту (включая человека), который находится в группе риска или имеет семейную историю заболевания или состояния, для предотвращения заболевания или состояния.

"Субъект" относится к животному, такому как млекопитающее (включая человека), которое было или будет объектом лечения, наблюдения или эксперимента. Способы, описанные в настоящем документе, могут подходить для применения для терапии человека и/или в ветеринарных применениях. В некоторых вариантах реализации субъект представляет собой млекопитающее. В одном из вариантов реализации субъект представляет собой человека.

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

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

В частности, настоящее изобретение относится к применению соединений в соответствии с форму-

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

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

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

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

Тот факт, что FXR, по-видимому, является основным метаболитным сенсором и регулятором для синтеза, экспорта и рециркуляции желчных кислот, подразумевает использование лигандов FXR для индуцирования потока желчи и изменения композиции желчных кислот в сторону более гидрофильного состава. С разработкой первого синтетического лиганда FXR GW4064 в качестве фармакологически активного соединения и полусинтетического искусственного лиганда желчной кислоты 6-альфа-этил-ХДХК стало возможным проанализировать влияние суперстимуляции FXR сильными агонистами. Было показано, что оба лиганда индуцируют поток желчи у животных с лигированными желчными протоками. Кроме того, в дополнение к желчегонным эффектам также могут наблюдаться гепатопротекторные эффекты. Указанный гепатопротекторный эффект был дополнительно сужен до антифиброзного эффекта, который является результатом репрессии тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ, TIMP-1 и 2, индуцирования матриксной металлопротеиназы 2, расщепляющей отложения коллагена, в звездчатых клетках печени и последующего уменьшения уровня мРНК альфа-коллагена и мРНК трансформи-

рующего ростового фактора бета (ТРФ-бета), которые оба являются профибротическими факторами, под действием агонистов FXR. Кроме того, антихолестатическая активность была продемонстрирована на моделях животных с лигированными желчными протоками, а также на моделях животных с индуцированным эстрогенами холестазом.

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

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

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

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

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

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

С момента открытия первого синтетического агониста FXR и его введения грызунам стало очевидно, что FXR является ключевым регулятором триглицеридов сыворотки. За последние шесть лет было опубликовано множество доказательств того, что активация FXR синтетическими агонистами приводит к значительному снижению уровня триглицеридов в сыворотке, главным образом в виде снижения ЛПОНП, но также и к снижению общего холестерина в сыворотке.

Но снижение уровня триглицеридов в сыворотке не является обособленным эффектом. Лечение мышей линии db/db или ob/ob синтетическим агонистом FXR GW4064 приводит к значительному и комбинированному снижению уровней триглицеридов в сыворотке, общего холестерина, свободных жирных кислот, кетоновых тел, таких как бутират 3-ОН Butyrate. Более того, активация FXR связана с внутриклеточным сигнальным путем инсулина в гепатоцитах, что приводит к снижению выработки глюкозы в результате глюконеогенеза в печени, но сопровождающемуся увеличением гликогена в печени. Лечение

посредством FXR оказывает положительное влияние на чувствительность к инсулину, а также толерантность к глюкозе. Также недавно наблюдали влияние на снижение массы тела у мышей, которых перекормливали рационом с высоким содержанием липидов. Указанный эффект потери массы может являться результатом опосредованного FXR индуцирования FGF19, фактора роста фибробластов, который, как известно, приводит к потере массы и формированию атлетичного фенотипа. Было продемонстрировано влияние агониста FXR на снижение массы тела.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Наконец, FXR, по-видимому, также участвует в контроле антибактериальной защиты в кишечнике, хотя точный механизм не представлен. Тем не менее, на основе опубликованных данных можно сделать вывод о том, что лечение агонистами FXR может оказывать благоприятное воздействие в терапии воспа-

лительных заболеваний кишечника (IBD), в частности тех форм, при которых поражена верхняя (подвздошная) часть кишечника (например, болезнь Крона подвздошной кишки), поскольку она, по видимому, является местом действия FXR-опосредованного контроля над ростом бактерий. При IBD десенсибилизация адаптивного иммунного ответа каким-то образом нарушается в кишечной иммунной системе. Избыточный бактериальный рост может являться причиной возникновения хронического воспалительного ответа. Следовательно, подавление роста бактерий посредством FXR-опосредованных механизмов может являться ключевым механизмом предотвращения острых воспалительных состояний.

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

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

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

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

Дозировка

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

При лечении или предотвращении FXR-опосредованных состояний, для которых указаны соединения согласно настоящему изобретению, обычно удовлетворительные результаты получают при введении соединений согласно настоящему изобретению в суточной дозировке от примерно 0,1 до примерно 100 мг на килограмм массы тела животного. В некоторых вариантах реализации соединения согласно настоящему изобретению представлены в виде одной суточной дозы, или в виде разделенных доз для приема от двух до шести раз в день, или в форме замедленного высвобождения. Для большинства крупных млекопитающих общая суточная дозировка составляет от примерно 1 до примерно 1000 мг или от примерно 1 до примерно 50 мг. В случае взрослого человека весом 70 кг общая суточная доза обычно составляет от примерно 7 до примерно 350 мг. Указанный режим дозирования можно корректировать для обеспечения оптимального терапевтического ответа. В некоторых вариантах реализации общая суточная дозировка составляет от примерно 1 до примерно 900 мг, от примерно 10 до примерно 800 мг, от примерно 20 до примерно 700 мг, от примерно 30 до примерно 600 мг, от примерно 40 до примерно 550 мг или от примерно 50 до примерно 400 мг.

Соединения согласно настоящей заявке или их композиции можно вводить один, два, три или четыре раза в день с применением любого подходящего способа, описанного выше. Кроме того, введение или лечение соединениями можно продолжать в течение нескольких дней; например обычно лечение продолжают в течение по меньшей мере 7, 14 или 28 дней для одного цикла лечения. Циклы лечения хорошо известны в химиотерапии рака и часто чередуются с периодами отдыха, составляющими примерно от 1 до 28 дней, обычно примерно 7 или примерно 14 дней, между циклами. В других вариантах реализации циклы лечения также могут являться непрерывными.

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

100 мг. Дозировку можно увеличивать ежедневно, через день, два раза в неделю или один раз в неделю.

Комбинированные терапии

В некоторых вариантах реализации соединение, описанное в настоящем изобретении, вводят в комбинации с одним или более дополнительными терапевтическими агентами для лечения или предотвращения заболевания или состояния, описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах реализации один или более дополнительные терапевтические агенты представляют собой а(н) ингибитор АСЕ, ингибитор ацетил-КоА-карбоксилазы, агонист аденозиновых рецепторов АЗ, агонист рецепторов адипонектина, ингибитор протеинкиназы АКТ, АМФ-активируемые протеинкиназы (АМФК), агонист рецепторов амилина, антагонист рецепторов ангиотензина II АТ-1, ингибиторы аутоаксина, биоактивный липид, агонист кальцитонина, ингибитор каспазы, стимулятор каспазы-3, ингибитор катепсина, ингибитор кавеолина 1, антагонист хемокинов CCR2, антагонист хемокинов CCR3, антагонист хемокинов CCR5, стимулятор хлоридного канала, ингибитор CNR1, ингибитор циклина D1, ингибитор цитохрома P450 7A1, ингибитор DGAT1/2, ингибитор дипептидилпептидазы IV, модулятор эндосиалина, ингибитор лиганда эотаксина, модулятор белков внеклеточного матрикса, агонист фарнезоидного X-рецептора, ингибиторы синтаз жирных кислот, агонист рецептора FGF1, лиганды фактора роста фибробластов (FGF15, FGF19, FGF21), ингибитор галектина-3, агонист глюконогового рецептора, агонист глюконогоподобного пептида 1, агонист связанного с G-белками рецептора желчных кислот 1, модулятор Hedgehog (Hh), ингибитор протеазы NS3 вируса гепатита С, модулятор ядерного фактора гепатоцитов 4-альфа (HNF4A), модулятор фактора роста гепатоцитов, ингибитор ГМГ-КоА-редуктазы, агонист ИЛ-10, антагонист ИЛ-17, ингибитор натрий-зависимого котранспортера желчных кислот в подвздошной кишке, усилитель чувствительности к инсулину, модулятор интегрин, ингибитор ассоциированной с рецептором интерлейкина-1 киназы 4 (IRAK4), ингибитор тирозинкиназы Jak2, стимулятор Клото-бета, ингибитор 5-липоксигеназы, ингибитор липопротеинлипазы, печеночный рецептор X, стимулятор гена LPL, антагонист рецептора лизофосфатидата-1, ингибитор гомолога 2 лизилоксидазы, ингибитор матриксных металлопротеиназ (MMP), ингибитор протеинкиназы MEKK-5, ингибитор мембранной аминоксидазы, содержащей медь (VAP-1), ингибитор метионинаминопептидазы-2, модулятор метил-СrG-связывающего белка 2, ингибитор микроРНК-21 (miR-21), митохондриальный разобщающий белок, стимулятор основного белка миелина, ингибитор содержащего домены NACHT, LRR и PYD белка 3 (NLRP3), стимулятор НАД-зависимой деацетилазы сиртуин, ингибитор НАДФ-оксидазы (NOX), агонист рецептора никотиновой кислоты 1, стимулятор пуринового рецептора P2Y13, ингибитор PDE 3, ингибитор PDE 4, ингибитор PDE 5, модулятор бета-рецептора PDGF, ингибитор фосфолипазы C, агонист PPAR-альфа, агонист PPAR-дельта, агонист PPAR-гамма, модулятор PPAR-гамма, антагонист активируемого протеазой рецептора-2, модулятор протеинкиназы, ингибитор Rho-ассоциированной протеинкиназы, ингибитор натрий-глюкозного транспортера-2, ингибитор транскрипционных факторов SREBP, ингибитор STAT-1, ингибитор стеарил-КоА-десатуразы-1, стимулятор супрессора цитокиновых сигналов-1, стимулятор супрессора цитокиновых сигналов-3, трансформирующий ростовой фактор-β (ТрФ-β), активируемую трансформирующим ростовым фактором-β киназу 1 (TAK1), агонист бета-рецепторов тиреоидных гормонов, антагонист TLR-4, ингибитор трансглутаминазы, модулятор тирозинкиназных рецепторов, модулятор GPCR, модулятор ядерного гормонального рецептора, модуляторы WNT или модулятор YAP/TAZ.

Неограничивающие примеры одного или более дополнительных терапевтических агентов включают

- ингибиторы АСЕ, такие как эналаприл;
- ингибиторы ацетил-КоА-карбоксилазы (ACC), такие как NDI-010976, DRM-01, гемкабен, PF-05175157 и QLT-091382;
- агонисты аденозиновых рецепторов, такие как CF-102, CF-101, CF-502 и CGS21680;
- агонисты рецепторов адипонектина, такие как ADP-355;
- агонисты рецепторов амилина/кальцитонина, такие как KBR-042;
- стимуляторы АМФ-активируемых протеинкиназ, такие как O-304;
- антагонисты рецепторов ангиотензина II АТ-1, такие как ирбесартан;
- ингибиторы аутоаксина, такие как PAT-505, PAT-048, GLPG-1690, X-165, PF-8380 и AM-063;
- биоактивные липиды, такие как DS-102;
- ингибиторы каннабиноидных рецепторов 1 типа (CNR1), такие как намацизумаб и GWP-42004;
- ингибиторы каспазы, такие как эмикасан;
- ингибиторы Рап-катепсина В, такие как VBY-376;
- ингибиторы Рап-катепсина, такие как VBY-825;
- антагонисты хемокинов CCR2/CCR5, такие как ценикривирок;
- антагонисты хемокинов CCR2, такие как пропагерманиум;
- антагонисты хемокинов CCR3, такие как бертилиумаб;
- стимуляторы хлоридного канала, такие как кобипростон;
- ингибиторы диацилглицерид-ацилтрансферазы 2 (DGAT2), такие как IONIS-DGAT2Rx;
- ингибиторы дипептидилпептидазы IV, такие как линаглиптин;

ингибиторы лиганда эотаксина, такие как бертилимуаб;
 модуляторы белков внеклеточного матрикса, такие как CNX-024;
 агонисты фарнезоидного X-рецептора (FXR), такие как AGN-242266, AKN-083, EDP-305, GNF-5120, GS-9674, LJN-452, LMB-763, обетихолевая кислота, Px-102, Px-103, M790, M780, M450, M480, PX20606, EYP-001 и INT-2228;
 агонисты фарнезоидного X-рецептора (FXR)/связанного с G-белками рецептора желчных кислот 1 (TGR5), такие как INT-767;
 ингибиторы синтаз жирных кислот, такие как TVB-2640;
 ингибиторы фактора роста фибробластов 19 (rhFGF19)/цитохрома P450 (CYP) 7A1, такие как NGM-282;
 лиганд фактора роста фибробластов 21 (FGF21), такой как BMS-986171, BMS-986036;
 агонисты фактора роста фибробластов 21 (FGF21)/глюкагоноподобного пептида 1 (GLP-1), такие как YH-25723;
 ингибиторы галектина-3, такие как GR-MD-02;
 агонисты глюкагоноподобного пептида 1 (GLP1R), такие как AC-3174, лираглутид, семаглутид;
 агонисты связанного с G-белками рецептора желчных кислот 1 (TGR5), такие как RDX-009, INT-777;
 ингибиторы белка теплового шока 47 (HSP47), такие как ND-L02-s0201;
 ингибиторы ГМГ-КоА-редуктазы, такие как аторвастатин, флувастатин, питавастатин, правастатин, розувастатин и симвастатин;
 агонисты ИЛ-10, такие как пегилодекакин;
 ингибиторы натрий-зависимого котранспортера желчных кислот в подвздошной кишке, такие как A-4250, воликсбата калия этанолат гидрат (SHP-262) и GSK2330672;
 усилители чувствительности к инсулину, такие как KBP-042, MSDC-0602K, Px-102, RG-125 (AZD4076) и VVP-100X;
 агонист Клото-бета (KLB)-FGF1c, такой как NGM-313; ингибиторы 5-липоксигеназы, такие как типелукаст (MN-001);
 ингибиторы липопротеинлипазы, такие как CAT-2003;
 стимуляторы гена LPL, такие как алиоген типарвовек;
 модуляторы печеночного рецептора X (LXR), такие как PX-L603, PX-L493, BMS-852927, T-0901317, GW-3965 и SR-9238;
 антагонисты рецептора лизофосфатидата-1, такие как BMT-053011, UD-009, AR-479, ITMN-10534, BMS-986020 и KI-16198;
 ингибиторы гомолога 2 лизилоксидазы, такие как ситузумаб;
 ингибиторы протеинкиназы MEKK-5, такие как GS-4997;
 ингибиторы семикарбазид-чувствительной аминоксидазы/белка сосудистой адгезии-1 (SSAO/VAP-1), такие как PXS-4728A;
 ингибиторы метионинаминопептидазы-2, такие как ZGN-839;
 модуляторы метил-СрG-связывающего белка 2, такие как меркаптамин;
 митохондриальные разобщающие белки, такие как 2,4-динитрофенол;
 стимуляторы основного белка миелина, такие как олезоксим;
 ингибиторы НАДФ-оксидазы 1/4, такие как GKT-831;
 агонисты рецептора никотиновой кислоты 1, такие как ARI-3037MO;
 ингибиторы содержащего домены NACHT, LRR и PYD белка 3 (NLRP3), такие как KDDF-201406-03 и NBC-6;
 модуляторы ядерных рецепторов, такие как DUR-928;
 стимуляторы пуринорецептора P2Y13, такие как CER-209;
 ингибиторы PDE 3/4, такие как типелукаст (MN-001);
 ингибиторы PDE 5, такие как силденафил;
 модуляторы бета-рецептора PDGF, такие как BOT-191, BOT-509;
 агонисты PPAR, такие как элафибранор (GFT-505), MBX-8025, R-энантиомер дейтерированного пиоглитазона, пиоглитазона, DRX-065, сароглитазар и IVA-337;
 антагонисты активируемого протеазой рецептора-2, такие как PZ-235;
 модуляторы протеинкиназы, такие как CNX-014;
 ингибиторы Rho-ассоциированной протеинкиназы (ROCK), такие как KD-025;
 ингибиторы натрий-глюкозного транспортера-2 (SGLT2), такие как ипраглифлозин, ремоглифлозин-на этабонат, эртуглифлозин, дапаглифлозин и сотаглифлозин;
 ингибиторы транскрипционных факторов SREBP, такие как CAT-2003 и MDV-4463;
 ингибиторы стеариол-КоА-десатуразы-1, такие как арамхол;
 агонисты бета-рецепторов тиреоидных гормонов, такие как MGL-3196, MGL-3745, VK-2809;
 антагонисты TLR-4, такие как JKB-121;
 модуляторы тирозинкиназных рецепторов, такие как CNX-025;
 модуляторы GPCR, такие как CNX-023; и
 модуляторы ядерного гормонального рецептора, такие как Px-102.

В некоторых конкретных вариантах реализации один или более дополнительные терапевтические агенты выбраны из A-4250, AC-3174, ацетилсалициловой кислоты, АК-20, алипоген типаровека, арамхола, ARI-3037MO, ASP-8232, бертилимуаба, безводного бетаина, BI-1467335, BMS-986036, BMS-986171, BMT-053011, BOT-191, BTT-1023, CAT-2003, ценикривирока, CER-209, CF-102, CGS21680, CNX-014, CNX-023, CNX-024, CNX-025, кобипростона, колесевелама, дапаглифлозина, R-энантиомера дейтерированного пиоглитазона, 2,4-динитрофенола, DRX-065, DS-102, DUR-928, EDP-305, элафибранора (GFT-505), эмрикасана, эналаприла, эртуглифлозина, эвоглиптина, F-351, GKT-831, GNF-5120, GRMD-02, GS-4997, GS-9674, гидрохлоротиазида, этилового эфира эйкозапентаеновой кислоты, IMM-124-E, INT-767, IONIS-DGAT2Rx, ипраглифлозина, ирбесартана, пропагерманиума, IVA-337, JKB-121, KBGE-001, KBP-042, KD-025, M790, M780, M450, метформина, силденафила, LC-280126, линаглиптина, лираглутида, LJN-452, LMB-763, MBX-8025, MDV-4463, меркаптамина, MGL-3196, MGL-3745, MSDC-0602K, намацизумаба, NC-101, NDI-010976, ND-L02-s0201, NGM-282, NGM-313, NGM-386, NGM-395, нор-урсодезоксихолевой кислоты, O-304, обетихолевой кислоты, 25HC3S, олезоксима, PAT-505, PAT-048, пегилодекакина, пиоглитазона, пирфенидона, PRI-724, PX20606, Px-102, PX-L603, PX-L493, PXS-4728A, PZ-235, RDX-009, ремоглифлозина этабоната, RG-125 (AZD4076), сароглитазара, семаглутида, симтузумаба, солитромицина, сотаглифлозина, статинов (аторвастатина, флувастатина, питавастатина, правастатина, розувастатина, симвастатина), TCM-606F, TEV-45478, типелукаста (MN-001), TLY-012, TRX-318, TVB-2640, UD-009, урсодезоксихолевой кислоты, VBY-376, VBY-825, VK-2809, висмодегиба, воликсбата калия этанолат гидрата (SHP-626), WP-100X, WAV-301, WNT-974 и ZGN-839.

Примеры

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

Соединения согласно настоящему изобретению можно получать в соответствии со способами, представленными в следующих схемах и примерах, с применением соответствующих материалов, и они дополнительно проиллюстрированы следующими конкретными примерами. Кроме того, путем применения способов, описанных в настоящем документе, в сочетании с обычными навыками специалиста в данной области техники можно легко получать дополнительные соединения согласно настоящему изобретению, заявленные в настоящем документе. Тем не менее, соединения, проиллюстрированные в примерах, не должны рассматриваться в качестве образующих единственный пример соединений, охватываемых настоящим изобретением. Примеры дополнительно подробно иллюстрируют получение соединений согласно настоящему изобретению. Специалистам в данной области техники понятно, что для получения указанных соединений можно использовать известные варианты условий и процессов следующих способов получения.

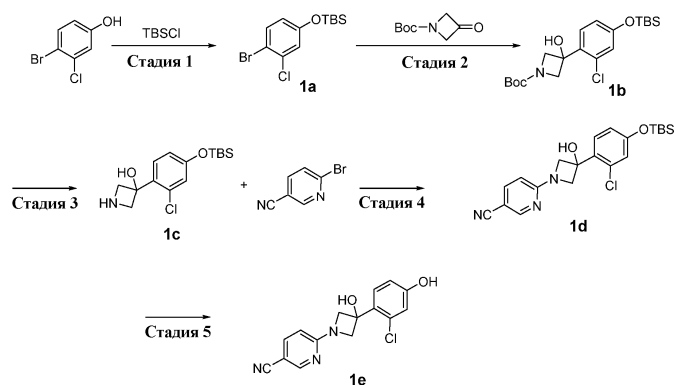
Для синтеза соединений, которые представляют собой варианты реализации, описанные в настоящем изобретении, проверка структуры соединения, которое должно быть синтезировано, позволяет определять характеристики каждой группы заместителя. Характеристики конечного продукта, как правило, однозначно определяют характеристики необходимых исходных материалов в рамках простой проверки с учетом примеров, приведенных в настоящем документе. Соединения согласно настоящему изобретению обычно выделяют в форме их фармацевтически приемлемых солей, таких как соли, описанные выше. В целом, соединения, описанные в настоящем документе, обычно являются стабильными и выделяемыми при комнатной температуре и давлении.

Основания, не содержащие аминогрупп, соответствующие выделенным солям, можно получать путем нейтрализации подходящим основанием, таким как водные растворы гидрокарбоната натрия, карбоната натрия, гидроксида натрия и гидроксида калия, и экстракции освобожденного основания, не содержащего аминогрупп, в органический растворитель с последующим выпариванием. Изолированное таким образом основание, не содержащее аминогрупп, можно дополнительно превращать в другую фармацевтически приемлемую соль путем растворения в органическом растворителе с последующим добавлением соответствующей кислоты и последующим выпариванием, осаждением или кристаллизацией. Кислоты, не содержащие карбоксильных групп, соответствующие выделенным солям, можно получать путем нейтрализации подходящей кислотой, такой как водные растворы хлористоводородной кислоты, гидросульфата натрия, дигидрофосфата натрия, и экстракции освобожденной кислоты, не содержащей карбоксильных групп, в органический растворитель с последующим выпариванием. Изолированную таким образом кислоту, не содержащую карбоксильных групп, можно дополнительно превращать в другую фармацевтически приемлемую соль путем растворения в органическом растворителе с последующим добавлением соответствующего основания и последующим выпариванием, осаждением или кристаллизацией.

Ниже проиллюстрировано получение соединений согласно настоящему изобретению. Если на схе-

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

Общий синтез 1



Стадия 1: (4-бром-3-хлорфенокси)(трет-бутил)диметилсилан (1a)

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

Стадия 2: трет-бутил-3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат (1b)

К раствору (4-бром-3-хлорфенокси)(трет-бутил)диметилсилана (1a, 60 г, 187 ммоль) в ТГФ (500 мл) по каплям добавляли n-BuLi (2,5 М, 75 мл) при -78°C в атмосфере N₂. Реакционную смесь перемешивали при -78°C в течение 1 ч. Затем к смеси по каплям добавляли раствор трет-бутил 3-оксоазетидин-1-карбоксилата (27 г, 155 ммоль) в ТГФ (500 мл) при -78°C. Затем реакционную смесь перемешивали при 20°C в течение 3 ч. Реакционную смесь погружали в H₂O (1 л) и три раза экстрагировали EtOAc (2 л). Объединенные органические слои промывали водой (1 л), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный продукт очищали путем хроматографии на силикагеле, элюируя 10:1 смесью петролевым эфир:EtOAc, с получением трет-бутил-3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата (1b).

Стадия 3: 3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)азетидин-3-ол (1c)

К раствору трет-бутил-3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата (1b, 35 г, 85 ммоль) в EtOAc (50 мл) добавляли HCl (350 мл, 1 М раствор в EtOAc). Затем смесь перемешивали при 20°C в течение 2 ч. Затем реакционную смесь концентрировали досуха. Неочищенный продукт промывали трет-бутилметилловым эфиром (150 мл), фильтровали и сушили в вакууме с получением 3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)азетидин-3-ола (1c, HCl соль).

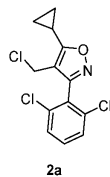
Стадия 4: 6-(3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотинитрил (1d)

Карбонат калия (350 мг, 2,5 ммоль) добавляли к трифлату серебра (840 мг, 3,3 ммоль), 6-бромникотинитрилу (200 мг, 1,1 ммоль) и 3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)азетидин-3-ола гидрохлориду (1c, 380 мг, 1,1 ммоль) в ДМФ (1,8 мл). Через 1 ч реакцию гасили H₂O и EtOAc, смесь разделяли, промывали соевым раствором, сушили с Na₂SO₄ и концентрировали. В результате очистки путем хроматографии (4 г колонка с силикагелем ISCO) с применением градиента 100% гексан - 1:3 гексан/EtOAc получали 6-(3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотинитрил (1d).

Стадия 5: 6-(3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотинитрил (1e)

К раствору 6-(3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотинитрила (1d, 250 мг, 0,6 ммоль) в 2-Ме-ТГФ (4,5 мл) добавляли 1 М раствор ТБАФ в ТГФ (0,7 мл, 0,67 ммоль) при комнатной температуре. Через 30 мин реакцию гасили водой и смесь экстрагировали EtOAc. Органическую фазу промывали соевым раствором (10 мл), сушили с Na₂SO₄ и концентрировали с получением 6-(3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотинитрила (1e), который применяли непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки.

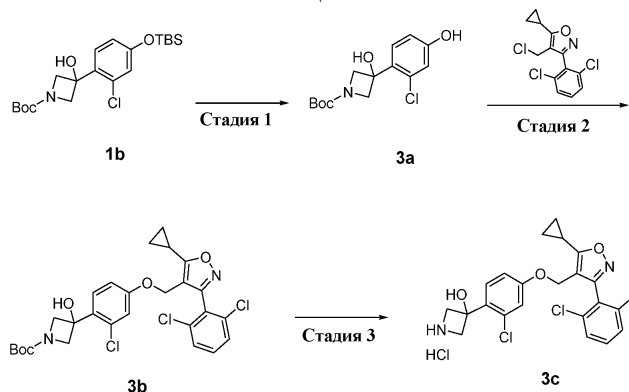
Общий синтез 2



2a

Промежуточное соединение 2a получали, как описано в международной опубликованной заявке № WO 2011/020615.

Общий синтез 3



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

В круглодонной колбе, снабженной магнитной мешалкой, объединяли трет-бутил-3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат (1b, 900 мг, 2,174 ммоль) и ТГФ (20 мл). Смесь охлаждали до -5°C , затем по каплям добавляли раствор ТБАФ в ТГФ (2,174 мл, 1,0 н. раствор в ТГФ, 2,174 ммоль) и смесь перемешивали при указанной температуре в течение 30 мин, а затем при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и остаток пропускали через колонку с силикагелем (MeOH:ДХМ=от 0:100 до 25:75) с получением целевого продукта (3a).

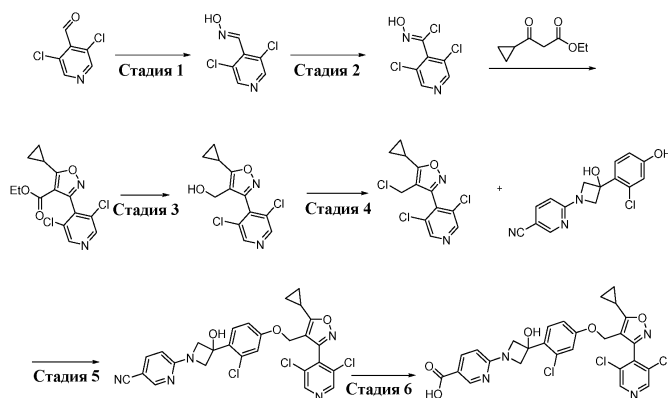
Стадия 2: трет-бутил-3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат (3b)

В круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой, добавляли 4-(хлорметил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол (2a, 617 мг, 2,17 ммоль), ДХМ (10 мл). После добавления SOCl_2 (1,11 мл, 15,20 ммоль) смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Смесь концентрировали в вакууме и полученный остаток применяли без очистки. 4-(хлорметил)-5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол (544,6 мг, 1,80 ммоль) растворяли в ДМФ (13,5 мл). После добавления K_2CO_3 (706,3 мг, 11,39 ммоль), NaI (468,0 мг, 3,122 ммоль) и трет-бутил-3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата (3a, 580,0 мг, 1,837 ммоль) смесь перемешивали при 60°C в течение ночи. Реакционную смесь погружали в воду (50 мл), экстрагировали этилацетатом (50 мл $\times$ 3), объединенные органические фазы промывали водой (20 мл $\times$ 1), соевым раствором (20 мл $\times$ 1), сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали путем колоночной хроматографии на силикагеле (этилацетат:гексан=от 0:100 до 100:0) с получением целевого продукта (3b).

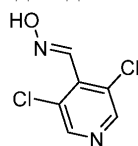
Стадия 3: 3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)азетидин-3-ола гидрохлоридная соль (3c)

Трет-бутил-3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат (3b, 800,0 мг, 1,414 ммоль) в ДХМ (80 мл) добавляли в круглодонную колбу, снабженную магнитной мешалкой, а затем добавляли HCl в диоксане (4 н., 14,14 мл, 56,56 ммоль) и смесь перемешивали при КТ в течение 3,5 ч. Смесь концентрировали в вакууме с получением 3c.

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

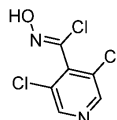


Стадия 1: оксим 3,5-дихлоризоникотинальдегида



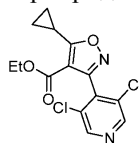
Оксим 3,5-дихлоризоникотинальдегида получали аналогично процедурам, описанным в международной опубликованной заявке № WO 2011/020615, начиная с 3,5-дихлоризоникотинальдегида.

Стадия 2: хлорид 3,5-дихлор-N-гидроксиизоникотинимидоила



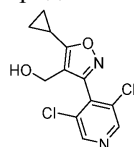
Хлорид 3,5-дихлор-N-гидроксиизоникотинимидоила получали аналогично процедурам, описанным в международной опубликованной заявке № WO 2011/020615, начиная с оксима 3,5-дихлоризоникотинальдегида.

Стадия 3: этил-5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-карбоксилат



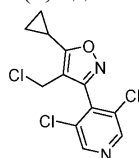
Этил-5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-карбоксилат получали аналогично процедурам, описанным в международной опубликованной заявке № WO 2011/020615, начиная с хлорида 3,5-дихлор-N-гидроксиизоникотинимидоила.

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



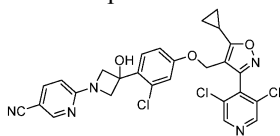
(5-Циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-ил)метанол получали аналогично процедурам, описанным в международной опубликованной заявке № WO 2011/020615, начиная с (5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-ил)метанола.

Стадия 5: 4-(хлорметил)-5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол



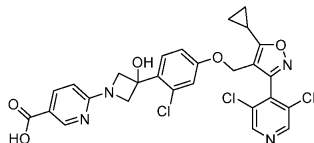
К раствору (5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-ил)метанола (310 мг, 1,1 ммоль) в CH_2Cl_2 (5,4 мл) добавляли тионилхлорид (0,23 мл, 3,2 ммоль) при комнатной температуре. Смесь грели при температуре обратной конденсации в течение 1 ч и охлаждали до комнатной температуры. Смесь концентрировали в вакууме. Добавляли дополнительное количество CH_2Cl_2 (5 мл) и смесь снова концентрировали. Указанный процесс повторяли три раза для удаления избытка тионилхлорида. Неочищенный остаток применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

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



4-(Хлорметил)-5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол (44 мг, 0,15 ммоль), 6-(3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотинитрил (1e) (51 мг, 0,17 ммоль) и K_2CO_3 (43 мг, 0,31 ммоль) объединяли в безводном ДМФ (0,8 мл) при комнатной температуре. Смесь нагревали до $65^\circ C$ в атмосфере азота. Через 16 ч раствор охлаждали до комнатной температуры, реакцию гасили H_2O и смесь экстрагировали $EtOAc$. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. В результате очистки путем хроматографии: ISCO (12 г колонка с силикагелем) с применением градиента 100% CH_2Cl_2 - 100% предварительно смешанной 60:35:5 смеси $CH_2Cl_2:Et_2O:MeOH$ получали титульное соединение.

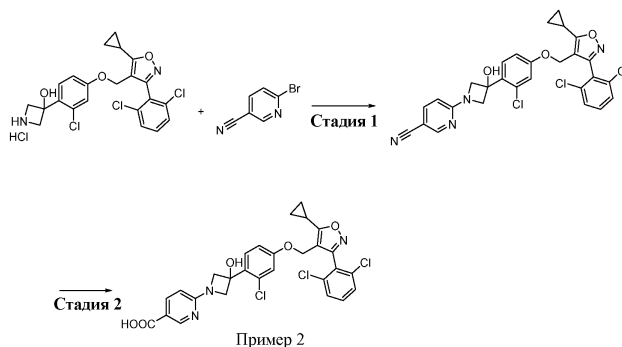
Стадия 7: 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотиновая кислота (пример 1)



10 М водный раствор гидроксида натрия (0,2 мл) добавляли к 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотинитрилу (69 мг, 0,06 ммоль) в этаноле (0,6 мл) и H_2O (0,6 мл) в герметичной пробирке при комнатной температуре и смесь грели при $65^\circ C$ в течение 5 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры и регулировали pH до примерно 5 при помощи 1 М раствора HCl , что вызывало выпадение осадка из раствора. Раствор фильтровали и твердое вещество промывали Et_2O и сушили в вакууме с получением 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотиновой кислоты (пример 1).

1H -ЯМР (300 МГц, $DMCO-d_6$) δ 8,80 (s, 2H), 8,58 (dd, $J=2,2$, 0,7 Гц, 1H), 7,93 (dd, $J=8,8$, 2,3 Гц, 1H), 7,38 (d, $J=8,7$ Гц, 1H), 6,92 (d, $J=2,6$ Гц, 1H), 6,73 (dd, $J=8,7$, 2,6 Гц, 1H), 6,47 (d, $J=8,8$ Гц, 1H), 4,99 (s, 2H), 4,54 (d, $J=9,7$ Гц, 2H), 4,22 (d, $J=9,7$ Гц, 2H), 2,46 (d, $J=3,1$ Гц, 1H), 1,27-1,09 (m, 4H). МС (ИЭР $^+$) m/z 589,1 (M+H).

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



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

3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)азетидин-3-ола гидрохлорид (3с, 500 мг, 1,07 ммоль), 6-бромникотинитрил (295 мг, 1,61 ммоль), карбонат калия (666 мг, 10,7 ммоль) и ДМФ (20 мл) объединяли и грели при $80^\circ C$ в течение 45 мин в герметичной пробирке. Добавляли воду (20 мл) и полученную смесь экстрагировали $EtOAc$ (50 мл $\times$ 3), объединенные органические фазы промывали соевым раствором (20 мл), сушили над Na_2SO_4 и фильтровали, растворители удаляли в вакууме. Путем колоночной хроматографии на силикагеле получали целевой продукт.

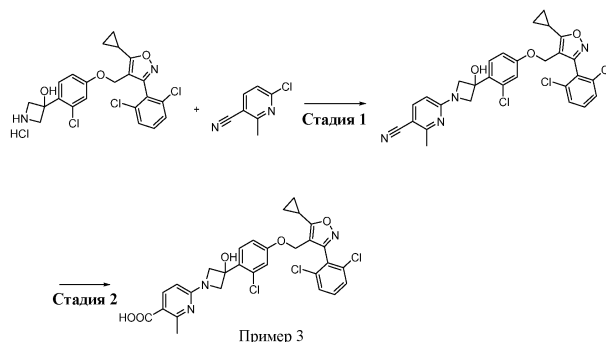
Стадия 2: 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотиновая кислота (пример 2)

6-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотинитрил (434 мг, 0,76 ммоль), $EtOH$ (4 мл) и 30% $NaOH$ (0,82 мл, 6,1 ммоль) объединяли и грели при $80^\circ C$ в течение ночи в герметичной пробирке. После регулирования pH до примерно 4 при помощи 4 н. раствора HCl добавляли этилацетат (200 мл). Смесь промывали водой (10 мл $\times$ 2) и соевым раствором (20 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. В

результате колоночной хроматографии на силикагеле получали 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)никотиновую кислоту (пример 2).

^1H -ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,59 (m, 1H), 7,91 (dd, $J=12,4$ Гц, $J=3,6$ Гц, 1H), 7,63 (d, $J=2,8$ Гц, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,53 (dd, $J=12,4$ Гц, $J=8,8$ Гц, 1H), 7,39 (d, $J=11,6$ Гц, 1H), 6,93 (d, $J=3,6$ Гц, 1H), 6,76 (dd, $J=11,6$ Гц, $J=2,6$ Гц, 1H), 6,43 (d, $J=11,2$ Гц, 1H), 6,26 (s, 1H), 4,91 (s, 2H), 4,52 (d, $J=13,2$ Гц, 2H), 4,20 (d, $J=12,0$ Гц, 2H), 2,45 (m, 1H), 1,09-1,23 (m, 4H), ppm; МС (ИЭР $^+$) m/z 587,91 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

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



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

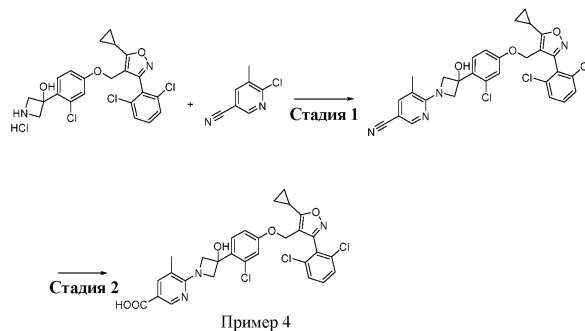
3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)азетидин-3-ола гидрохлорид (3с, 200 мг, 0,40 ммоль), 6-хлор-2-метилникотинитрил (73 мг, 0,47 ммоль), карбонат калия (247 мг, 4,0 ммоль) и ДМФ (2 мл) объединяли и смесь грели при 80°C в течение 4 ч в герметичной пробирке. Добавляли воду (20 мл) и полученную смесь экстрагировали EtOAc (50 мл $\times$ 3), объединенные органические фазы промывали соевым раствором (20 мл), сушили над Na_2SO_4 и фильтровали, растворители удаляли в вакууме. В результате колоночной хроматографии на силикагеле получали целевой продукт.

Стадия 2: 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-2-метилникотиновая кислота (пример 3)

6-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-2-метилникотинитрил (200 мг, 0,34 ммоль), EtOH (3,0 мл) и 30% NaOH (0,73 мл, 5,5 ммоль) объединяли и грели при 80°C в течение ночи в герметичной пробирке. После регулирования pH до примерно 4 при помощи 4 н. раствора HCl добавляли этилацетат (200 мл). Смесь промывали водой (10 мл $\times$ 2) и соевым раствором (20 мл), сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали в вакууме. В результате колоночной хроматографии на силикагеле получали 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-2-метилникотиновую кислоту (пример 3).

^1H -ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 7,93 (d, $J=11,2$ Гц, 1H), 7,62 (m, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,53 (m, 1H), 7,38 (d, $J=11,6$ Гц, 1H), 6,92 (m, 1H), 6,76 (d, $J=11,6$ Гц, 1H), 6,28 (d, $J=11,2$ Гц, 1H), 6,21 (s, 1H), 4,91 (s, 2H), 4,50 (d, $J=13,2$ Гц, 2H), 4,18 (d, $J=12,4$ Гц, 2H), 2,58 (s, 3H), 2,44 (m, 1H), 1,09-1,24 (m, 4H) ppm; МС m/z 602,15 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

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



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

3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)азетидин-3-ола гидрохлорид (3с, 200 мг, 0,4 ммоль), 6-хлор-5-метилникотинитрил (73 мг, 0,48 ммоль), карбонат калия (27 мг, 4,0 ммоль) и ДМФ (2 мл) объединяли и смесь грели при 80°C в течение 3 ч в герметичной про-

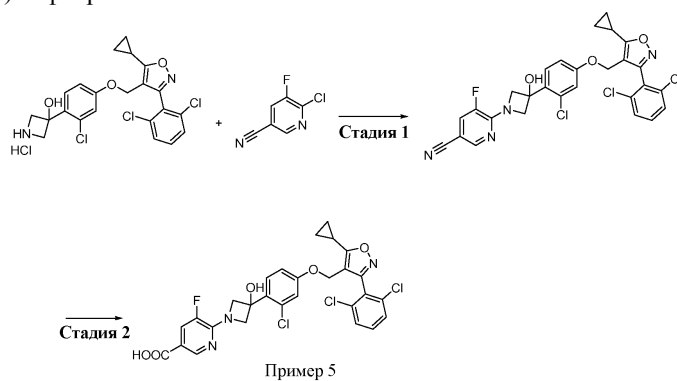
бирке. Добавляли воду (20 мл) и полученную смесь экстрагировали EtOAc (50 мл×3), объединенные органические фазы промывали солевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. В результате колоночной хроматографии на силикагеле получали целевой продукт.

Стадия 2: 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-метилникотиновая кислота (пример 4)

6-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-метилникотинитрил (180 мг, 0,34 ммоль), EtOH (3,0 мл), 30% NaOH (2,2 мл, 16,5 ммоль) объединяли и смесь грели при 80°C в течение ночи в герметичной пробирке. После регулирования pH до примерно 4 при помощи 4 н. раствора HCl добавляли этилацетат (200 мл). Смесь промывали водой (10 мл×2) и солевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. В результате колоночной хроматографии на силикагеле получали 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-метилникотиновую кислоту (пример 4).

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,46 (m, 1H), 7,55-7,70 (m, 4H), 7,37 (d, J=9,6 Гц, 1H), 6,92 (s, 1H), 6,76 (m, 1H), 6,12 (s, 1H), 4,91 (s, 2H), 4,67 (d, J=10,4 Гц, 2H), 4,34 (d, J=10,4 Гц, 2H), 2,23 (s, 3H), 1,13-1,16 (m, 4H) ppm; MS m/z 602,16 [M+H]⁺.

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



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

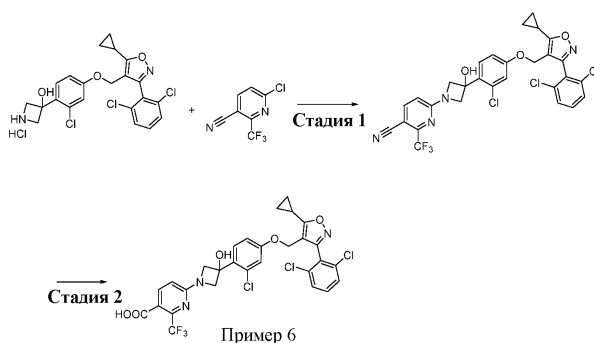
3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)азетидин-3-ола гидрохлорид (3с, 200 мг, 0,4 ммоль), 6-хлор-5-фторникотинитрил (74,8 мг, 0,48 ммоль), карбонат калия (247 мг, 4,0 ммоль) и ДМФ (2 мл) объединяли и смесь грели при 80°C в течение 3 ч в герметичной пробирке. Добавляли воду (20 мл) и полученную смесь экстрагировали EtOAc (50 мл×3), объединенные органические фазы промывали солевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. В результате колоночной хроматографии на силикагеле получали целевой продукт.

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

6-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинитрил (157 мг, 0,27 ммоль), EtOH (3,0 мл) и 30% NaOH (1,72 мл, 12,9 ммоль) объединяли и смесь грели при 80°C в течение ночи в герметичной пробирке. После регулирования pH до примерно 4 при помощи 4 н. раствора HCl добавляли этилацетат (200 мл). Смесь промывали водой (10 мл×2) и солевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. В результате колоночной хроматографии на силикагеле получали 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновую кислоту (пример 5).

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,39 (s, 1H), 7,50-7,68 (m, 4H), 7,37 (d, J=11,6 Гц, 1H), 6,92 (s, 1H), 6,75 (d, J=10,4 Гц, 1H), 6,23 (s, 1H), 4,91 (s, 2H), 4,64 (d, J=13,2 Гц, 2H), 4,29 (d, J=12,4 Гц, 2H), 2,42-2,47 (m, 1H), 1,13-1,24 (m, 4H) ppm; MS m/z 606,12 [M+H]⁺.

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



Стадия 1: 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-2-(трифторметил)никотинитрил

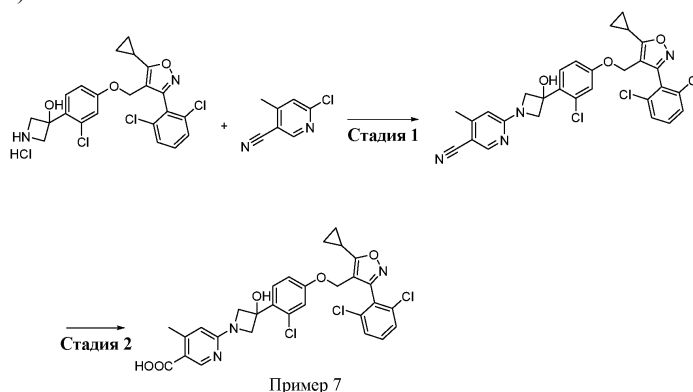
3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)азетидин-3-ола гидрохлорид, (3с, 300 мг, 0,60 ммоль), 6-хлор-2-(трифторметил)никотинитрил (148 мг, 0,72 ммоль), карбонат калия (371 мг, 6,0 ммоль) и ДМФ (3,0 мл) объединяли и смесь грели при 80°C в течение 4 ч в герметичной пробирке. Добавляли воду (20 мл) и полученную смесь экстрагировали EtOAc (50 мл×3), объединенные органические фазы промывали солевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. В результате колоночной хроматографии на силикагеле получали целевой продукт.

Стадия 2: 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-2-(трифторметил)никотиновая кислота (пример 6)

6-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-2-(трифторметил)никотинитрил (163 мг, 0,26 ммоль), EtOH (3,0 мл) и 30% NaOH (0,55 мл, 4,1 ммоль) объединяли и смесь грели при 80°C в течение ночи в герметичной пробирке. После регулирования pH до примерно 4 при помощи 4 н. раствора HCl добавляли этилацетат (200 мл). Смесь промывали водой (10 мл×2) и солевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄ и фильтровали, растворители удаляли в вакууме. В результате колоночной хроматографии на силикагеле получали 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-2-(трифторметил)никотиновую кислоту (пример 6).

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 7,95 (d, J=11,6 Гц, 1H), 7,62 (d, J=3,6 Гц, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,53 (dd, J=12,4 Гц, J=8,4 Гц, 1H), 7,39 (d, J=11,2 Гц, 1H), 6,93 (d, J=2,4 Гц, 1H), 6,76 (dd, J=11,2 Гц, J=3,6 Гц, 1H), 6,70 (d, J=11,2 Гц, 1H), 6,27 (s, 1H), 4,92 (s, 2H), 4,56 (d, J=13,2 Гц, 2H), 2,43-2,48 (m, 1H), 1,12-1,23 (m, 4H) ppm; MS m/z 656,14 [M+H]⁺.

Пример 7. 6-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-4-метилникотиновая кислота



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

3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)азетидин-3-ола гидрохлорид (3с, 200 мг, 0,40 ммоль), 6-хлор-4-метилникотинитрил (73 мг, 0,48 ммоль), карбонат калия (247 мг, 4,0 ммоль) и ДМФ (2,0 мл) объединяли и смесь грели при 80°C в течение 3 ч в герметичной пробирке. Добавляли воду (20 мл) и полученную смесь экстрагировали EtOAc (50 мл×3), объединенные органические фазы промывали солевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄ и фильтровали, растворители удаляли в вакууме. В результате колоночной хроматографии на силикагеле получали целевой продукт.

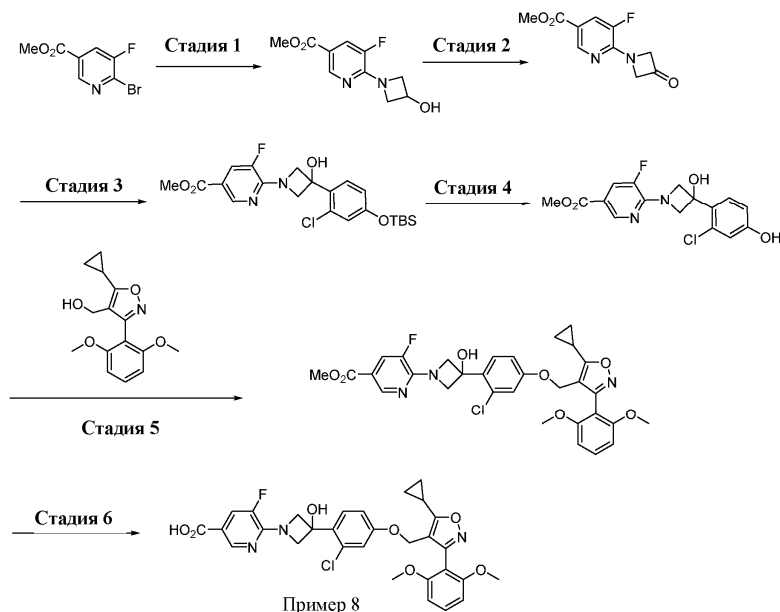
Стадия 2: 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-4-метилникотиновая кислота (пример 7)

6-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазе-

тидин-1-ил)-4-метилникотинонитрил (201 мг, 0,35 ммоль), EtOH (3,0 мл) и 30% NaOH (2,2 мл, 16,6 ммоль) объединяли и смесь грели при 80°C в течение ночи в герметичной пробирке. После регулирования pH до примерно 4 при помощи 4 н. раствора HCl добавляли этилацетат (200 мл). Смесь промывали водой (10 мл × 2) и соевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄ и фильтровали, растворители удаляли в вакууме. В результате колоночной хроматографии на силикагеле получали 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлорфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-4-метилникотиновую кислоту (пример 7).

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,35 (s, 1H), 7,59 (m, 2H), 7,50-7,54 (m, 1H), 7,50 (d, J=10,8 Гц, 1H), 6,90 (s, 1H), 6,74 (d, J=11,6 Гц, 1H), 6,06 (s, 1H), 4,90 (s, 2H), 4,34 (d, J=11,6 Гц, 2H), 4,08 (d, J=11,6 Гц, 2H), 2,43 (m, 1H), 1,13-1,19 (m, 4H) ppm; МС m/z 602,20 [M+H]⁺.

Пример 8. 6-(3-(2-Хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-диметоксифенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота



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

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

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

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

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

Раствор (4-бром-3-хлорфенокси)(трет-бутил)диметилсилана (1а, 4,5 г, 14 ммоль) в 2-метилтетрагидрофуране (14 мл) обрабатывали раствором хлорид изопропилмагния/хлорид лития (Aldrich, 1,3 M, 11 мл, 15 ммоль) путем добавления по каплям через шприц. Полученную смесь перемешивали в течение примерно одного часа, а затем охлаждали на водяной бане со льдом. Порциями добавляли метил-5-фтор-6-(3-оксоазетидин-1-ил)никотинат (2,0 г, 8,9 ммоль) в течение 2 ч. Смесь выдерживали в течение ночи при комнатной температуре. Реакцию гасили 10% водным раствором лимонной кислоты. Водную фазу три раза экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои один раз промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом магния, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного целевого продукта, который применяли без дополнительной очистки. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₂₂H₂₉ClFN₂O₄Si: 467,2; установлено: 467,1.

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

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

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

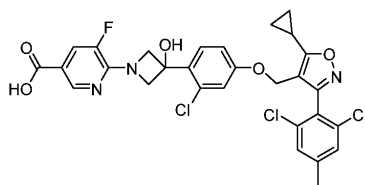
К раствору (5-циклопропил-3-(2,6-диметоксифенил)изоксазол-4-ил)метанола (полученного аналогично процедурам, описанным в международной опубликованной заявке № WO 2011/020615, начиная с 2,6-диметоксibenзальдегида) (125 мг, 0,454 ммоль) в ДХМ (4,50 мл) по каплям добавляли тионилхлорид (0,166 мл, 2,27 ммоль). Раствор грели при 45°C в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрировали досуха. К неочищенному хлориду добавляли раствор метил-6-(3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотината (160 мг, 0,454 ммоль) в ДМФ (4,90 мл), а затем добавляли карбонат калия (188 мг, 1,36 ммоль) и йодид натрия (47,0 мг, 0,314 ммоль). Смесь грели при 60°C в течение 18 ч. Реакционную смесь фильтровали через целит, концентрировали, разбавляли водой и экстрагировали EtOAc (3×). Объединенные органические слои промывали водой и солевым раствором, сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали путем хроматографии на силикагеле (ДХМ/Et₂O/MeOH). ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено: 610,18; установлено: 610,05.

Стадия 6: 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-диметоксифенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота (пример 8)

К раствору метил-6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-диметоксифенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотината (202 мг, 0,331 ммоль) в смеси ТГФ/вода (1:1, 10 мл) добавляли моногидрат гидроксида лития (30,0 мг, 0,715 ммоль). Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Добавляли уксусную кислоту (75,8 мкл, 1,33 ммоль) и раствор концентрировали досуха. Добавляли воду и смесь обрабатывали ультразвуком. Затем смесь фильтровали, промывали водой и эфиром и сушили в вакууме с получением 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-диметоксифенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновой кислоты (пример 8). ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено: 596,16; установлено: 596,05.

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆, отсутствует R-CO₂H) δ 8,41 (t, J=1,6 Гц, 1H), 7,68 (dd, J=12,7, 1,7 Гц, 1H), 7,45-7,27 (m, 2H), 6,89 (d, J=2,5 Гц, 1H), 6,77-6,72 (m, 3H), 6,23 (s, 1H), 4,78 (s, 2H), 4,66 (d, J=9,7 Гц, 2H), 4,32 (d, J=9,7 Гц, 2H), 3,67 (s, 6H), 2,37-2,31 (m, 1H), 1,16-0,98 (m, 4H).

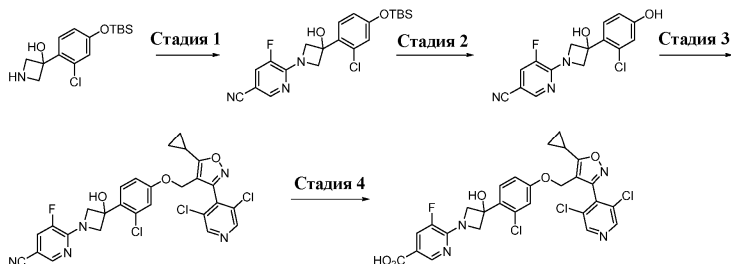
Пример 9: 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-метилфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота



В соответствии с общей процедурой, описанной в примере 8, с применением 5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-метилфенил)изоксазол-4-ил)метанола (полученного аналогично процедурам, описанным в международной опубликованной заявке № WO 2011/020615, начиная с 2,6-дихлор-4-метилбензальдегида) на стадии 5 получали 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(2,6-дихлор-4-метилфенил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновую кислоту (пример 9). ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено: 618,08; установлено: 618,05.

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,82 (шир. s, 1H), 8,44 (t, J=1,6 Гц, 1H), 7,70 (dd, J=12,7, 1,8 Гц, 1H), 7,45 (s, 2H), 7,38 (d, J=8,7 Гц, 1H), 6,92 (d, J=2,5 Гц, 1H), 6,77 (dd, J=8,6, 2,6 Гц, 1H), 6,26 (s, 1H), 4,90 (s, 2H), 4,69 (d, J=9,9 Гц, 2H), 4,34 (d, J=9,8 Гц, 2H), 2,48-2,41 (m, J=13,3, 8,5, 5,3 Гц, 1H), 2,34 (s, 3H), 1,23-1,06 (m, 4H).

Пример 10: 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота



Стадия 1: 6-(3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинитрил

Смесь 3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)азетидин-3-ола гидрохлорида (1с, 0,40 г, 1,1 ммоль), 2-хлор-3-фторпиридин-5-карбонитрила (0,18 г, 1,1 ммоль) и карбоната калия (0,43 г, 3,1 ммоль) в ДМФ (2,5 мл) грели при 65°C в течение 30 мин. Смесь очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением целевого продукта. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₂₁H₂₆ClFN₃O₂Si: 434,1; установлено: 434,0.

Стадия 2: 6-(3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинитрил

Раствор фторида тетра-н-бутиламмония (Aldrich, 1 М раствор в тетрагидрофуране, 2,5 мл, 2,5 ммоль) добавляли к раствору 6-(3-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)-2-хлорфенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинитрила (0,32 г, 0,74 ммоль) в 2-метилтетрагидрофуране (12 мл). Смесь перемешивали в течение одного часа при комнатной температуре, а затем концентрировали и применяли без дополнительной очистки. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₁₅H₁₂ClFN₃O₂: 320,1; установлено: 319,9.

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

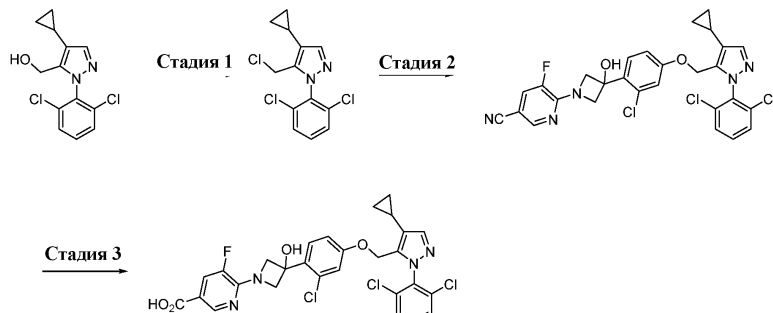
Смесь 6-(3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинитрила (0,74 ммоль), 4-(хлорметил)-5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазола (полученного, как описано в примере 1, стадии 1-5; 0,23 г, 0,76 ммоль) и карбоната калия (0,26 г, 1,8 ммоль) в ДМФ (5 мл) грели в течение ночи при 65°C. Смесь охлаждали до комнатной температуры и очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением целевого продукта. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₂₇H₂₀Cl₃FN₅O₃: 586,1; установлено: 585,9.

Стадия 4: 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота (пример 10)

Раствор 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинитрила (0,17 г, 0,29 ммоль) в этаноле (3 мл) обрабатывали водным раствором гидроксида натрия (7,5 М, 1 мл). Смесь грели в течение ночи при 90°C. После охлаждения смесь обрабатывали 10% водным раствором хлористоводородной кислоты. Полученную суспензию разбавляли водой и три раза экстрагировали дихлорметаном. pH водной фазы регулировали до 5 при помощи насыщенного водного раствора гидрокарбоната натрия, а затем смесь еще два раза экстрагировали дихлорметаном. Объединенные органические экстракты сушили над безводным сульфатом магния, фильтровали и концентрировали досуха при пониженном давлении. Остаток очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропил-3-(3,5-дихлорпиридин-4-ил)изоксазол-4-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновой кислоты (пример 10). ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₂₇H₂₀Cl₃FN₄O₅: 605,1; установлено: 605,2.

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,82 (s, 1H), 8,81 (s, 2H), 8,44 (t, J=1,6 Гц, 1H), 7,69 (dd, J=12,7, 1,7 Гц, 1H), 7,39 (d, J=8,7 Гц, 1H), 6,92 (d, J=2,5 Гц, 1H), 6,73 (dd, J=8,7, 2,6 Гц, 1H), 6,26 (s, 1H), 4,99 (s, 2H), 4,69 (d, J=9,8 Гц, 2H), 4,34 (d, J=9,8 Гц, 2H), 2,48-2,44 (m, 1H, скрыт сигналом ДМСО), 1,28-1,08 (m, 4H).

Пример 11. 6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1H-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота



Стадия 1: 5-(хлорметил)-4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1H-пиразол

Тионилхлорид (0,55 мл, 7,6 ммоль) добавляли к раствору (4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1H-

пиразол-5-ил)метанола (полученного, как описано в документе № WO 2009/012125; 0,71 г, 2,5 ммоль) в дихлорметане (12 мл) при КТ. Смесь грели при 65°C в течение 5 ч, а затем концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный целевой продукт применяли без дополнительной очистки. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₁₃H₁₂Cl₃N₂: 301,1; установлено: 301,1.

Стадия 2: 6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинитрил

Раствор неочищенного 5-(хлорметил)-4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1Н-пиразола (0,30 г, 0,98 ммоль) в ДМФ (5 мл) добавляли к смеси 6-(3-(2-хлор-4-гидроксифенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинитрила (полученного, как описано в примере 10, стадии 1-2; 0,26 г, 0,82 ммоль) и карбоната калия (0,28 г, 2,0 ммоль). Смесь грели в течение 2 ч при 65°C, а затем в течение 8 ч при 75°C. Охлажденную смесь очищали путем флэш-хроматографии (силикагель) с получением целевого продукта. ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₂₈H₂₂Cl₃FN₅O₂: 584,1; установлено: 584,1.

Стадия 43: 6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновая кислота (пример 11)

Раствор 6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотинитрила (0,45 г, 0,77 ммоль) в этаноле (8 мл) обрабатывали водным раствором гидроксида натрия (7,5 М, 2,6 мл). Смесь грели в течение ночи при 85°C. После охлаждения смесь концентрировали при пониженном давлении с получением водной смеси, которую затем обрабатывали 10% водным раствором хлористоводородной кислоты. Полученную смесь три раза экстрагировали дихлорметаном. Объединенные органические экстракты сушили над безводным сульфатом магния, фильтровали и концентрировали досуха при пониженном давлении с получением 6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропил-1-(2,6-дихлорфенил)-1Н-пиразол-5-ил)метокси)фенил)-3-гидроксиазетидин-1-ил)-5-фторникотиновой кислоты (пример 11). ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вычислено для C₂₈H₂₂Cl₃FN₄O₄: 603,1; установлено: 603,2.

¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,81 (s, 1H), 8,44 (t, J=1,6 Гц, 1H), 7,69 (dd, J=12,7, 1,8 Гц, 1H), 7,67 (d, J=0,9 Гц, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,57-7,48 (m, 2H), 7,38 (d, J=8,7 Гц, 1H), 6,97 (d, J=2,6 Гц, 1H), 6,78 (dd, J=8,6, 2,6 Гц, 1H), 6,26 (s, 1H), 5,00 (s, 2H), 4,69 (d, J=9,8 Гц, 2H), 4,40-4,21 (m, 2H), 1,89 (tt, J=8,4, 5,1 Гц, 1H), 0,93 (m, 2H), 0,66 (m, 2H).

Пример 12. FRET анализ активности

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

Подготовка лиганд-связывающего домена FXR-альфа человека: LBD FXR-альфа человека экспрессировали в штамме BL21 (DE3) E. coli как гибридный белок, помеченный N-концевой GST. ДНК, кодирующую лиганд-связывающий домен FXR, клонировали в вектор pDEST15 (Invitrogen). Экспрессию контролировали индуцируемым ИПТГ промотором T7. Аминокислотными границами лиганд-связывающего домена являлись 187-472 аминокислоты из базы данных NM_005123 (RefSeq).

Экспрессия и очистка FXR-LBD: предварительно культивированную в течение ночи культуру трансформированного штамма E.coli разбавляли в отношении 1:20 в среде LB с ампициллином и выращивали при 30°C до оптической плотности OD₆₀₀=0,4-0,6. Затем индуцировали экспрессию гена путем добавления 0,5 mM ИПТГ. Клетки инкубировали в течение дополнительных 6 ч при 30°C, 180 об/мин. Клетки собирали путем центрифугирования (7000×g, 7 мин, КТ). Клетки повторно ресуспендировали в 10 мл буфера для лизиса (50 mM глюкозы, 50 mM Трис pH 7,9, 1 mM ЭДТА и 4 мг/мл лизоцима) на литр исходной клеточной культуры и оставляли во льду на 30 мин. Затем клетки обрабатывали ультразвуком и удаляли клеточный дебрис путем центрифугирования (22000 ×g, 30 мин, 4°C). На 10 мл надосадочной жидкости добавляли 0,5 мл предварительно промытой глутатион-4В-сефарозной суспензии (Qiagen) и полученную суспензию продолжали медленно вращать в течение 1 ч при 4°C. Глутатион-4В-сефарозные шарики осаждали путем центрифугирования (2000×g, 15 с, 4°C) и два раза промывали в промывочном буфере (25 mM Трис, 50 mM KCl, 4 mM MgCl₂ и 1 M NaCl). Осадок ресуспендировали в 3 мл элюирующего буфера на литр исходной культуры (элюирующий буфер: 20 mM Трис, 60 mM KCl, 5 mM MgCl₂ и 80 mM глутатиона, добавленного в виде порошка непосредственно перед применением). Суспензию оставляли вращаться в течение 15 мин при 4°C, шарики осаждали и снова элюировали половиной объема элюирующего буфера по сравнению с первым разом. Элюаты объединяли и подвергали диализу в течение ночи в 20 mM буфере Hepes (pH 7,5), содержащем 60 mM KCl, 5 mM MgCl₂, а также 1 mM дитиотреитол и 10% (об./об.) глицерина. Белок анализировали путем ДНС-ПААГ.

Способ позволяет измерять способность предполагаемых лигандов модулировать взаимодействие между очищенным лиганд-связывающим доменом (LBD) FXR, экспрессируемого бактериями, и синтетическим биотинилированным пептидом на основе остатков 676-700 SRC-1 (LCD2, 676-700). Последовательность применяемого пептида представляла собой B-CPSSSHSLTERHKILHRLQLQEGSPS-COOH (SEQ ID №: 1), где N-конец являлся биотинилированным (B). Лиганд-связывающий домен (LBD) FXR экспрессировали как гибридный белок с GST в клетках BL-21 с использованием вектора pDEST15. Клетки лизировали ультразвуком и гибридные белки очищали при помощи глутатион-сефарозы (Pharmacia) в

соответствии с инструкциями производителя. Для определения влияния соединений на взаимодействие FXR и пептида применяли технологию Perkin Elmer LANCE. Указанный способ основан на зависимой от связывания передаче энергии от донора к акцептору флуорофора, присоединенного к интересующему партнеру связывания. Для простоты обработки и снижения фона от соединений во флуоресцентной технологии LANCE применяют универсальные флуорофорные метки и детектирование с временным разрешением.

Анализы проводили в конечном объеме 25 мкл в 384-луночном планшете в буфере на основе Трис (20 mM Трис-HCl pH 7,5; 60 mM KCl, 5 mM MgCl₂; 35 нг/мкл БСА), содержащем 20-60 нг/луночка рекомбинантно экспрессированного FXR-LBD, слитого с GST, 200-600 нМ N-концевого биотинилированного пептида, представляющего 676-700 аминокислоты SRC1, 200 нг/луночка конъюгата стрептавидин-xLAPC (прозим) и 6-10 нг/луночка Eu W1024 - анти-GST (Perkin Elmer). Содержание ДМСО в образцах поддерживали на уровне 1%. После получения смеси для анализа и разбавления лигандов, потенциально модулирующих FXR, смесь для анализа оставляли для установления равновесия на 1 ч в темноте при КТ в черных 384-луночных планшетах для ФИА (Greiner). Сигнал LANCE детектировали при помощи многофункционального счетчика Perkin Elmer VTCTOR2VTM. Результаты визуализировали путем построения графика отношения испускаемого света при 665 и 615 нм. Базальный уровень образования комплекса FXR-пептид наблюдали при отсутствии добавленного лиганда. Лиганды, которые способствуют образованию комплекса, вызывают зависимое от концентрации увеличение сигнала флуоресценции с временным разрешением. Ожидают, что соединения, которые одинаково хорошо связываются как с мономерным FXR, так и с комплексом FXR-пептид, не приведут к изменению сигнала, тогда как лиганды, которые связываются преимущественно с мономерным рецептором, будут вызывать зависимое от концентрации снижение наблюдаемого сигнала.

Для оценки агонистического потенциала соединений определяли значения EC₅₀ для соединений, представленных ниже в табл. 2 (FRET EC₅₀).

Пример 13. Анализ одноклеточной системы млекопитающих (M1H)

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

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

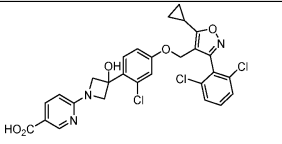
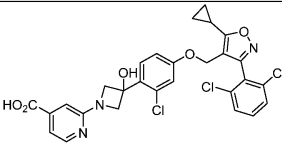
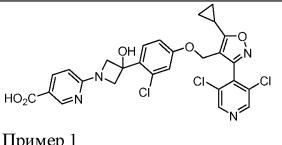
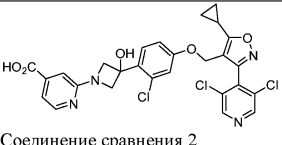
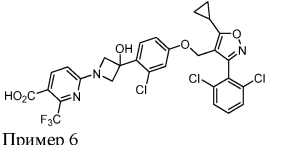
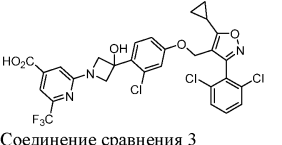
Для оценки агонистической активности соединений, приведенных в примерах, в отношении FXR активность определяли в M1H анализе, как указано ниже в табл. 2 (M1H EC₅₀).

Таблица 2

Пример	FRET EC ₅₀ (нМ)	МНН EC ₅₀ (нМ)
1	6,1	95
2	2,6	7,1
3	4,4	6,9
4	3,9	5,1
5	4,8	4,5
6	3,1	56
7	8,5	6,7
8	15	593
9	57	26
10	3,4	6,4
11	3,8	4,9

Соединения согласно настоящему изобретению демонстрировали улучшенную биохимическую и клеточную активность по сравнению со структурно подобными соединениями. Табл. 3 содержит структуры и значения активностей примеров 1, 2 и 6 согласно настоящему изобретению по сравнению со структурами и значениями активностей соединений сравнения 1, 2 и 3, которые могут быть получены в соответствии с процедурами, описанными в международной опубликованной заявке № WO 2013/007387.

Таблица 3

 Пример 2 FRET EC₅₀ = 2,6 нМ МНН EC₅₀ = 7,1 нМ	 Соединение сравнения 1 FRET EC₅₀ = 14 нМ МНН EC₅₀ = 774 нМ
 Пример 1 FRET EC₅₀ = 6,1 нМ МНН EC₅₀ = 95 нМ	 Соединение сравнения 2 FRET EC₅₀ = 48 нМ МНН EC₅₀ = 744 нМ
 Пример 6 FRET EC₅₀ = 3,1 нМ МНН EC₅₀ = 56 нМ	 Соединение сравнения 3 FRET EC₅₀ = 47 нМ МНН EC₅₀ = 131 нМ

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

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

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

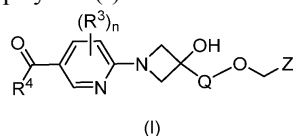
Кроме того, если отличительные признаки или аспекты настоящего изобретения описаны в терминах групп Маркуша, специалистам в данной области техники понятно, что настоящее изобретение также описано в терминах любого отдельного члена или подгруппы членов группы Маркуша.

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

настоящего изобретения очевидны для специалистов в области техники, к которой относится настоящее изобретение.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

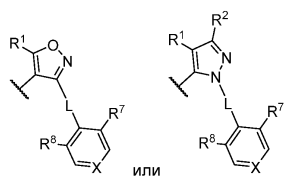
1. Соединение в соответствии с формулой (I)



где

Q представляет собой фенилен или пиридилен, каждый из которых необязательно замещен одним или двумя заместителями, выбранными из галогена;

Z представляет собой



L представляет собой связь;

X представляет собой CH или N;

R¹ представляет собой C₃₋₆циклоалкил;

R² представляет собой водород;

R³ представляет собой галоген, C₁₋₄алкил или галоген-C₁₋₄алкил;

R⁴ представляет собой гидроксил;

R⁷ и R⁸ независимо представляют собой галоген и

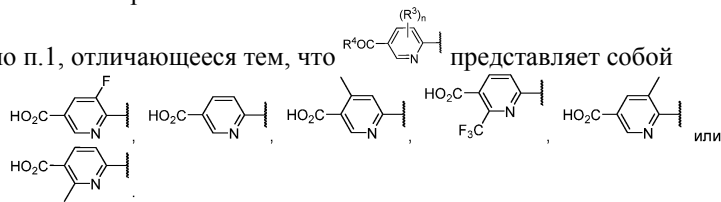
n равняется 0 или 1;

или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п.1, отличающееся тем, что Q представляет собой фенилен, замещенный одним атомом хлора;

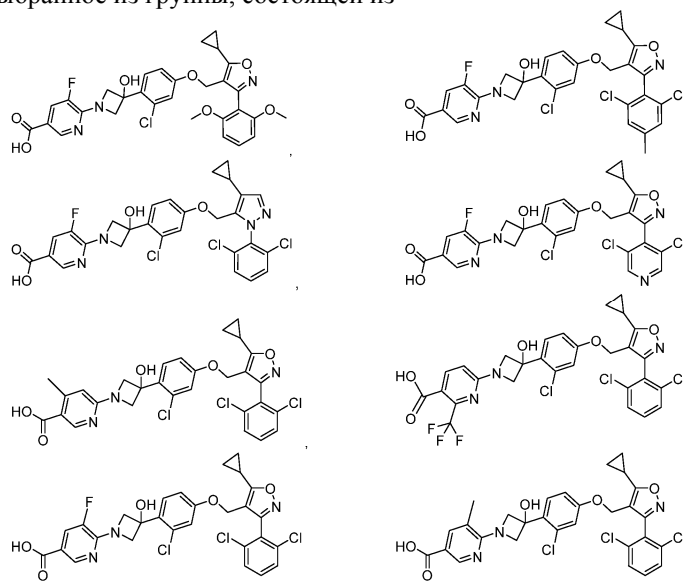
или его фармацевтически приемлемая соль.

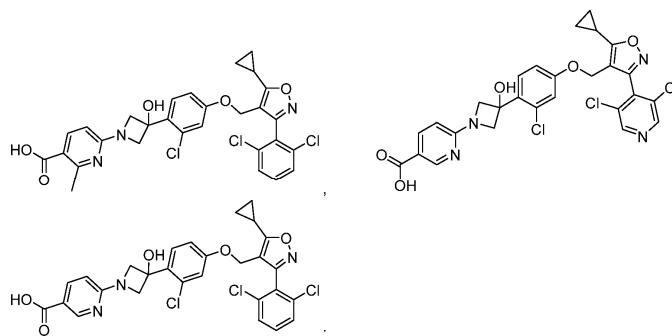
3. Соединение по п.1, отличающееся тем, что R⁴OC- представляет собой



или его фармацевтически приемлемая соль.

4. Соединение, выбранное из группы, состоящей из





или его фармацевтически приемлемая соль.

5. Фармацевтическая композиция для лечения состояния, опосредованного рецептором NR1H4 (FXR - фарнезоидный X-рецептор альфа), содержащая терапевтически эффективное количество соединения по любому из пп.1-4 и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

6. Способ лечения пациента, страдающего от заболевания или состояния, по меньшей мере частично опосредованного FXR, включающий введение соединения по любому из пп.1-4 или композиции по п.5 пациенту, нуждающемуся в этом.

7. Способ по п.6, отличающийся тем, что FXR-опосредованное состояние выбрано из группы, состоящей из

хронического внутрипеченочного или внепеченочного холестатического состояния;

фиброза печени;

обструктивного воспалительного расстройства печени;

хронического воспалительного расстройства печени;

цирроза печени;

стеатоза печени;

холестатических или фиброзных эффектов, которые связаны с циррозом, вызванным алкоголем, или с вирусными формами гепатита;

печеночной недостаточности или ишемии печени;

стеатогепатита, ассоциированного с химиотерапией (CASH);

острой печеночной недостаточности и

воспалительного заболевания кишечника.

8. Способ по п.6, отличающийся тем, что FXR-опосредованное состояние выбрано из группы, состоящей из

диабета I типа;

диабета II типа;

диабетической нефропатии, диабетической невропатии, диабетической ретинопатии;

неалкогольной жировой болезни печени (НЖБП);

неалкогольного стеатогепатита (НАСГ);

первичного билиарного цирроза (ПБЦ);

первичного склерозирующего холангита (ПСХ);

ожирения;

метаболического синдрома, выбранного из группы, состоящей из дислипидемии и диабета;

острого инфаркта миокарда;

острого инсульта и

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

9. Способ по п.6, отличающийся тем, что FXR-опосредованное состояние выбрано из группы, состоящей из

гепатоцеллюлярной карциномы, аденомы толстой кишки и полипоза;

аденокарциномы толстой кишки;

рака молочной железы;

аденокарциномы поджелудочной железы;

пищевода Барретта и

опухолевых заболеваний желудочно-кишечного тракта и печени.

10. Применение соединения или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.1-4 для лечения FXR-опосредованного состояния.

11. Применение композиции по п.5 для лечения FXR-опосредованного состояния.

12. Применение по п.10 или 11, отличающееся тем, что FXR-опосредованное состояние представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).

13. Применение по п.10 или 11, отличающееся тем, что FXR-опосредованное состояние представляет собой первичный билиарный цирроз (ПБЦ).

14. Применение по п.10 или 11, отличающееся тем, что FXR-опосредованное состояние представля-

ет собой первичный склерозирующий холангит (ПСХ).

15. Применение соединения или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп.1-4 для производства лекарственного средства для лечения FXR-опосредованного состояния.

16. Применение композиции по п.5 для производства лекарственного средства для лечения FXR-опосредованного состояния

17. Применение по п.15 или 16, отличающееся тем, что FXR-опосредованное состояние представляет собой неалкогольный стеатогепатит (НАСГ).

18. Применение по п.15 или 16, отличающееся тем, что FXR-опосредованное состояние представляет собой первичный билиарный цирроз (ПБЦ).

19. Применение по п.15 или 16, отличающееся тем, что FXR-опосредованное состояние представляет собой первичный склерозирующий холангит (ПСХ).



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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