



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** (11) **2 375 358** (13) **C2**

(51) МПК
C07D 417/12 (2006.01)
C07D 413/12 (2006.01)
A61K 31/4245 (2006.01)
A61K 31/425 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2006138485/04, 30.03.2005

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
30.03.2005

(30) Конвенционный приоритет:
01.04.2004 US 60/558,419

(43) Дата публикации заявки: 10.05.2008

(45) Опубликовано: 10.12.2009 Бюл. № 34

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **BIOORG. MED. CHEM**, v.7, 1999, 1475-1485, figure 1. **WO 00/78313 A1**, 28.11.2000. **WO 01/00603 A1**, 04.01.2000. **RU 2002128733 A1**, 10.03.2004.

(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу: 01.11.2006

(86) Заявка РСТ:
US 2005/010854 (30.03.2005)

(87) Публикация РСТ:
WO 2005/097762 (20.10.2005)

Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городиский и
Партнеры", пат.пов. Е.Е.Назиной

(72) Автор(ы):

МАКГАРРИ Дэниэл Г. (US),
ЧАНДРОСС Карен (US),
МЕРРИЛЛ Джин (US),
ГЕРЛИТЦЕР Йохен (DE),
КАЙЛЬ Штефани (DE),
ВЕНДЛЕР Вольфганг (DE),
БЕРНАРДЕЛЛИ Патрик (FR)

(73) Патентообладатель(и):

АВЕНТИС ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК.
(US)

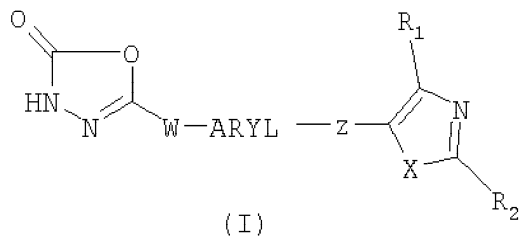
(54) 1,3,4-ОКСАДИАЗОЛ-2-ОНЫ В КАЧЕСТВЕ МОДУЛЯТОРОВ PPAR-ДЕЛЬТА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(57) Реферат:

Описываются производные 1,3,4-оксадиазол-2-она формулы I, а также их фармацевтически приемлемые соли, где ARYL представляет собой фенил, который может иметь один заместитель, выбранный из галогена; W представляет собой связь или $(CH_2)_m$, где m обозначает целое число от 1 до 4; Z представляет собой $-O(CH_2)_n-$, $-(CH_2)_n-Y-(CH_2)_n-$, где Y обозначает O, n независимо обозначает целое число от 1 до 5; X

представляет собой O или S; R_1 представляет собой C_{1-6} алкил; R_2 представляет собой замещенный фенил, где заместители выбирают из группы, включающей C_{1-6} алкил, C_{1-4} перфторалкил. Соединения обладают агонистической или антагонистической активностью в отношении PPAR-дельта рецептора. Описываются также фармацевтическая композиция и способ лечения заболевания у млекопитающего, в котором заболевание может модулироваться

активностью связывания PPAR-дельта
рецептора. 3 н. и 6 з.п. ф-лы, 2 табл.



R U 2 3 7 5 3 5 8 C 2

R U 2 3 7 5 3 5 8 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.
C07D 417/12 (2006.01)
C07D 413/12 (2006.01)
A61K 31/4245 (2006.01)
A61K 31/425 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION(21), (22) Application: **2006138485/04, 30.03.2005**(24) Effective date for property rights:
30.03.2005(30) Priority:
01.04.2004 US 60/558,419(43) Application published: **10.05.2008**(45) Date of publication: **10.12.2009 Bull. 34**(85) Commencement of national phase: **01.11.2006**(86) PCT application:
US 2005/010854 (30.03.2005)(87) PCT publication:
WO 2005/097762 (20.10.2005)

Mail address:
**129090, Moskva, ul. B.Spasskaja, 25, str.3, OOO
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery",
pat.pov. E.E.Nazinoj**

(72) Inventor(s):

**MAKGARRI Dehniehl G. (US),
ChANDROSS Karen (US),
MERRILL Dzhin (US),
GERLITsER Jokhen (DE),
KAJL' Shtefani (DE),
VENDLER Vol'fgang (DE),
BERNARDELLI Patrik (FR)**

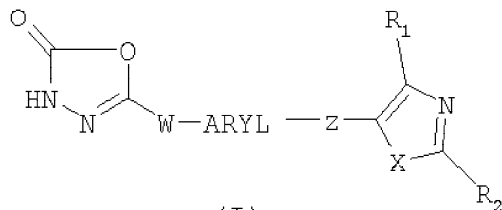
(73) Proprietor(s):

AVENTIS FARMAS'JuTIKALZ, INK. (US)

(54) 1,3,4-OXADIAZOL-2-ONES AS PPAR-DELTA MODULATORS AND APPLICATION THEREOF

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: there are described derivatives of
1,3,4-oxadiazol-2-one of formula I

and their pharmaceutically acceptable salts wherein ARYL represents phenyl which can have one substitute chosen from halogen; W represents chain or $(CH_2)_m$ where m designates an integer 1 to 4; Z

represents $-O(CH_2)_n-$, $-(CH_2)_n-Y-(CH_2)_n-$ where Y designates O, n independently means an integer 1 to 5; X represents O or S; R_1 represents C_{1-6} alkyl; R_2 represents substituted phenyl where substitutes are chosen from the group including C_{1-6} alkyl, C_{1-4} perfluoralkyl. There are also described pharmaceutical composition, and method of treating a disease in mammal wherein said disease can be modulated by PPAR-delta receptor binding activity.

EFFECT: compounds possess agonist or antagonist activity with respect to PPAR-delta receptor.

9 cl, 2 tbl, 34 ex

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относится к новым соединениям и лекарственным препаратам, которые действуют как селективные связывающие агенты лигандов PPAR-дельта рецепторов, которые могут применяться для модуляции PPAR-дельта рецепторов для
5 лечения заболеваний, опосредованных ядерными рецепторами гормонов. Связывающие агенты лигандов PPAR-дельта рецепторов, представленные в данном изобретении, могут применяться как агонисты или антагонисты PPAR-дельта рецепторов.

ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Рецепторы, активируемые пролифератором пероксисомы (PPAR), представляют собой подсемейство в семействе ядерных рецепторов. Было обнаружено и
10 клонировано четыре родственных изоформы, которые известны как PPAR-альфа, PPAR-гамма-1, PPAR-гамма-2 и PPAR-дельта. Каждый подтип рецептора имеет характерный ДНК-связывающий домен (DBD) и лиганд-связывающий домен (LBD),
15 каждый из которых необходим для активируемой лигандами экспрессии генов. PPAR связываются как гетеродимеры с ретиноидным X-рецептором. См. J. Berger and D. E. Miller, *Annu. Rev. Med.*, 2002, 53, 409-435.

PPAR-дельта (известный также как PPAR-бета) экспрессируется в широком спектре
20 тканей млекопитающих, но пока очень мало известно о его биологических функциях и полном наборе генов, которые он регулирует. Тем не менее недавно было обнаружено, что агонисты могут использоваться для лечения таких заболеваний, как дислипидемия, и некоторых дерматологических заболеваний, а антагонисты - для
25 лечения остеопороза и колоректального рака (D. Sternbach, в *Annual Reports in Medicinal Chemistry, Volume 38*, A. M. Doherty, ed., Elsevier Academic Press, 2003 стр. 71-80).

PPAR-дельта, по-видимому, в значительной мере экспрессируется в ЦНС, однако его функции по-прежнему остаются неясными. Исключительный интерес представляет
30 то, что PPAR-дельта обнаружили в олигодендроцитах грызунов, основных клетках ЦНС, вырабатывающих липиды (J. Granneman, et al., *J. Neurosci. Res.*, 1998, 51, 563-573). Более того, было также установлено, что селективный агонист PPAR-дельта значительно повышает экспрессию генов олигодендроглиального миелина и диаметр
35 миелиновой оболочки в культурах клеток мышей (I. Saluja et al., *Glia*, 2001, 33, 194-204). Таким образом, активаторы PPAR-дельта могут использоваться для лечения демиелинизирующих и дисмиеленизирующих заболеваний.

Демиелинизирующие заболевания проявляются в потере миелиновых и нескольких
40 плотных слоев липидов и белков, которые покрывают многие нервные волокна. Такие слои формируются олигодендроглиями в центральной нервной системе (ЦНС) и шванновскими клетками в периферической нервной системе (ПНС). У пациентов с демиелинизирующей патологией демиелинизация может быть необратимой, и она обычно сопровождается или приводит к аксональному вырождению, а часто и
45 клеточному вырождению. Демиелинизация может происходить в результате повреждения нейронов или повреждения самого миелина - в результате аберрантных иммунных реакций, локальных травм, ишемии, нарушений метаболизма, токсических веществ или вирусных инфекций (Prineas and McDonald, *Demyelinating Diseases. In Greenfield's Neuropathology*, 6.sup.th ed. (Edward Arnold: New York, 1997) 813-811, Beers and Berkow, eds., *The Merck Manual of Diagnosis and Therapy*, 17.sup.th ed. (Whitehouse Station,
50 N.J.: Merck Research Laboratories, 1999) 1299, 1437, 1473-76, 1483).

Центральная демиелинизация (демиелинизация ЦНС) происходит в нескольких заболеваниях часто неопределенной этиологии, которые получили название

первичных демиелинизирующих заболеваний. Среди них наиболее распространенным является рассеянный склероз (РС). Другими первичными демиелинизирующими состояниями являются адренолейкодистрофия (АЛД), адреномиелоневропатия, вакуолярная ВИЧ-миелопатия, миелопатия, связанная с Т-лимфотропным вирусом человека, леберовская наследственная атрофия зрительных нервов, прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия (ПМЛ), подострый склерозирующий панэнцефалит, синдром Гийена-Барре и тропический спастический парапарез. Кроме того, существуют острые состояния, при которых может происходить демиелинизация в ЦНС, например острый рассеянный энцефаломиелит и острый вирусный энцефалит. Более того, острый поперечный миелит, синдром, при котором острая перерезка спинного мозга неизвестного происхождения повреждает как серое, так и белое вещество в одном или нескольких соседних торакальных сегментах, может также приводить к демиелинизации. Кроме того, нарушения, при которых повреждаются образующие миелин глиальные клетки, также включают травмы спинного мозга, нервные заболевания и повреждения нервов.

Отдельные модуляторы PPAR-дельта могут быть полезны для лечения или профилактики других заболеваний, например, Joel Berger et al., *Annu. Rev. Med.* 2002, 53, 409 - 435; Timothy Wilson et al. *J. Med. Chem.*, 2000, Vol. 43, No. 4, 527-550; Steven Kliewer et al., *Recent Prog Horm Res.* 2001; 56: 239-63; Jean-Charles Fruchart, Bart Staels and Patrick Duriez: PPARS, Metabolic Disease and Arteriosclerosis, *Pharmacological Research*, Vol. 44, No. 5, 345-52; 2001; Sander Kersten, Beatrice Desvergne & Walter Wahli: Roles of PPARs in health and disease, *Nature*, vol 405, 25 May 2000; 421-4; Ines Pineda Torra, Giulia Chinetti, Caroline Duval, Jean-Charles Fruchart and Bart Staels: Peroxisome proliferator-activated receptors: from transcriptional control to clinical practice, *Curr Opin Lipidol* 12: 2001, 245-254).

Соединения, действующие как модуляторы PPAR-дельта, могут быть особенно подходящими для лечения и/или профилактики нарушений метаболизма жирных кислот и нарушений утилизации глюкозы, которые связаны с резистентностью к инсулину.

Сахарный диабет, особенно диабет второго типа, в том числе профилактика связанных с ним последствий. Частными аспектами этой связи являются гипергликемия, понижение резистентности к инсулину, повышение толерантности к глюкозе, защита клеток поджелудочной железы, предотвращение макро- и микрососудистых нарушений.

Дислипидемии и их осложнения, такие как, например, атеросклероз, коронарная болезнь сердца, нарушения мозгового кровообращения, особенно (среди прочих, но не органиченными ими) характеризующиеся одним или несколькими из следующих факторов: высокими концентрациями триглицеридов плазмы, высокими концентрациями триглицеридов плазмы, возникающими после приема пищи, пониженными концентрациями холестерина альфа-липопротеинов высокой плотности, пониженными концентрациями липопротеина ApoA, повышенными концентрациями холестерина альфа-липопротеинов низкой плотности, малым размером частиц плотного холестерина липопротеинов низкой плотности, повышенными концентрациями липопротеина ApoB.

С этим метаболическим синдромом могут быть связаны различные другие состояния, например: ожирение (избыточный вес), в том числе центральное ожирение, тромбозы, гиперкоагулируемые и протромботические состояния (артериальные и венозные), повышенное кровяное давление, сердечная недостаточность, в том числе

(среди прочих) наступающая в результате инфаркта миокарда, гипертонической болезни сердца или кардиомиопатии.

В числе других нарушений или состояний, при которых могут возникать воспалительные реакции или клеточные дифференцировки, могут быть, например:

- атеросклероз, такой как, например (среди прочих), коронарный склероз, в том числе стенокардия или инфаркт миокарда, инсульт, сосудистый рестеноз или реокклюзия, хронические воспалительные заболевания кишечника, такие как, например, болезнь Крона и язвенный колит, панкреатит, другие воспаленные состояния, ретинопатия, опухоли липоцитов, липоматозные карциномы, такие как, например, липосаркомы, твердые опухоли и неоплазмы, такие как, например (среди прочих), карциномы пищеварительного тракта, печени, желчных протоков и поджелудочной железы, эндокринные опухоли, карциномы легких, почек и мочевыводящих путей, половых путей, карциномы простаты и пр., острые и хронические миелопролиферативные нарушения и ангиогенез лимфом,
- нейродегенеративные нарушения, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, эритематосквамозные дерматозы, такие как, например, псориаз, обыкновенные угри.

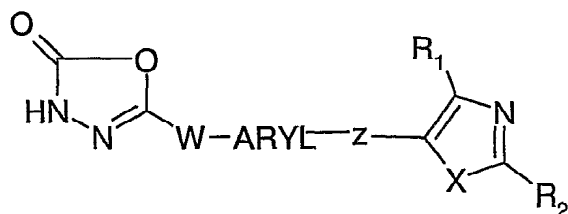
Другие кожные нарушения и дерматологические состояния, модулируемые PPAR-дельта:

- экземы и нейродермиты, дерматиты, такие как, например, себорейная экзема или фотодерматит, кератит и кератозы, такие как, например, себорейные кератозы, старческие кератозы, фотоиндуцируемые кератозы или кератозные фолликулярные келоиды и их профилактика, бородавки, в том числе кондиломы и остроконечные кондиломы, вирусные инфекции вируса папилломы человека (ВПЧ), такие заболевания, как, например, венерическая папиллома, вирусные бородавки, такие как, например, контагиозный моллюск, лейкоплакия-папулезные дерматозы, такие как, например, плоский лишай, рак кожи, такой как, например, базально-клеточная карцинома, меланомы и кожные лимфомы Т-клеток, локализованные доброкачественные эпидермические опухоли, такие как, например, кератодермия, эпидермические родимые пятна и отморожения.

Различные прочие состояния, потенциально модулируемые PPAR-дельта, в том числе синдром X, синдром поликистоза яичников, астматический остеоартрит, красная волчанка (КВ) или воспалительные ревматические заболевания, такие как, например, ревматоидный артрит, васкулит, истощение (кахексия), подагрическая ишемия/синдром реперфузии и синдром острой дыхательной недостаточности (СОДН).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к соединению формулы I.



I

где

ARYL представляет собой фенил или пиридинил, где указанный фенил или пиридинил может иметь один или несколько заместителей, выбранных из группы, включающей галоген, C₁₋₆ алкил, C₂₋₆ алкенил, C₁₋₆ алкокси, C₁₋₆ перфторалкил; C₁₋₆ алкилтио, гидроксигруппы, гидроксигруппы C₁₋₆ алкил, C₁₋₄ ацилокси, нитро, циано, C₁₋₆

алкилсульфонил, amino, C₁₋₆ алкиламино и C₁₋₆ алкоксикарбонил;

W представляет собой связь или (CH₂)_m, где m - целое число от 1 до 4;

Z представляет собой -O(CH₂)_n-, -SO₂(CH₂)_n-, -(CH₂)_n-Y-(CH₂)_n-, -(CH₂)_n-CO-,
 5 -O(CH₂)_n-CO- или -(CH₂)_n-Y-(CH₂)_n-CO-, где Y обозначает NR₃, O или S, а R₃ выбирают из группы, включающей H, C₁₋₆ алкил, C₃₋₈ циклоалкил, C₁₋₆ алкил C₃₋₈ циклоалкил или бензил, n означает независимо целое число от 1 до 5;

X представляет собой NR₃, O или S, где R₃ определен выше;

10 R₁ представляет собой H, галоген, C₁₋₆ алкил, C₁₋₆ алкокси, C₁₋₆ перфторалкил; гидроксид C₁₋₆ алкил, нитро, циано и C₁₋₆ алкиламино; и

R₂ представляет собой замещенный или незамещенный фенил, пиридинил или тиенил, где заместители выбирают из группы, включающей галоген, C₁₋₆ алкил, C₂₋₆
 15 алкенил, C₁₋₆ алкокси, C₁₋₆ перфторалкил, C₁₋₆ алкилтио, гидроксид, гидроксид C₁₋₆ алкил, C₁₋₄ ацилокси, нитро, циано, C₁₋₆ алкилсульфонил, amino, C₁₋₆ алкиламино и C₁₋₆ алкоксикарбонил; или его стереоизомер, таутомер или сольват, или его фармацевтически приемлемая соль.

20 Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим соединение формулы I, и способами применения указанных соединений и композиций для модулирования PPAR-дельта у пациентов, нуждающихся в таком модулировании, путем введения соединения, предпочтительно модулирующего
 25 активность PPAR-дельта. Настоящие соединения обладают полезным действием, модулирующим PPAR-дельта, и предполагается, что они могут использоваться для лечения или профилактики заболеваний или состояний, которые допускают лечение упомянутого заболевания модулированием лиганд-связывающей активности PPAR-дельта путем введения пациенту терапевтически эффективного количества
 30 соединения формулы I.

ПОЛНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Используемые в настоящем описании термины имеют следующие значения:

Выражение «C₁₋₆ алкил» включает метильную и этильную группы, а также
 35 линейные или разветвленные пропильную, бутильную, пентильную и гексильную группы. Конкретными алкильными группами являются метильная, этильная, н-пропильная, изопротильная и трет-бутильная. Производные этих обозначений, такие как «C₁₋₆ алкокси», «C₁₋₆ алкокси C₁₋₆ алкил», «гидроксид C₁₋₆ алкил», «C₁₋₆ алкилкарбонил», «C₁₋₆ алкоксикарбонил C₁₋₆ алкил», «C₁₋₆ алкоксикарбонил»,
 40 «амино C₁₋₆ алкил», «C₁₋₆ алкилкарбамоил C₁₋₆ алкил», «C₁₋₆ диалкилкарбамоил C₁₋₆ алкил», «моно- или ди-C₁₋₆ алкиламино C₁₋₆ алкил», «амино C₁₋₆ алкилкарбонил», «дифенил C₁₋₆ алкил», «арил C₁₋₆ алкил», «арилкарбонил C₁₋₆ алкил» и «арилокси C₁₋₆ алкил» следует толковать соответствующим образом.
 45

Выражение «C₂₋₆ алкенил» обозначает этенил, а также линейные или разветвленные пропенил, бутенил, пентенил и гексенил. Аналогично, выражение «C₂₋₆ алкинил» обозначает этинил и пропирил, а также линейные и разветвленные бутинил, пентинил
 50 и гексинил.

Термин «арил» обозначает карбоциклическую ароматическую кольцевую систему, например фенил, бифенил, нафтил, антраценил, фенантренил, флуоренил, инденил, пенталенил, азуленил, бифениленил и им подобные. К арилам также относятся

частично гидрогенизированные производные карбоциклических ароматических систем, перечисленных выше. Неограничивающими примерами таких частично гидрогенизированных производных являются 1,2,3,4-тетрагидронафтил, 1,4-дигидронафтил и им подобные.

5 Термин «арилокси» обозначает группу -O-арил, где арил описан выше.

Термин «гетероарил» (сам по себе или в составе любого названия, например «гетероарилокси» или «гетероарилалкил») представляет собой 5-10-членную ароматическую кольцевую систему, в которой одно или несколько колец содержит 10 один или несколько гетероатомов, выбранных из группы, включающей N, O или S, например, но не ограничивающий, пиррол, пиразол, фуран, тиофен, хинолин, изохинолин, хиназолинил, пиридин, пиримидин, оксазол, тиазол, тиadiaзол, тетразол, триазол, имидазол или бензимидазол.

15 Термин «гетероциклический» (сам по себе или в составе любого другого названия, например «гетероциклоалкил») обозначает насыщенную или частично ненасыщенную 4-10-членную кольцевую систему, в которой одно или несколько колец содержат один или несколько гетероатомов, выбранных из группы, включающей N, O, или S; например, но не ограничивающий, пирролидин, пиперидин, пиперазин, морфолин, тетрагидропиран или имидазолидин.

20 Термин «C₁₋₆ перфторалкил» означает, что все атомы водорода в указанной алкильной группе замещены атомами фтора. Наглядными примерами являются трифторметильная и пентафторметильная и линейные или разветвленные гептафторпропильная, нонафторбутильная, ундекафторпентильная и тридекафторгексильная группы. Производное выражение «C₁₋₆-перфторалкокси» следует толковать соответственно.

Выражение «C₃₋₈ циклоалкил» обозначает циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил и циклооктил.

30 Выражение «C₃₋₈ циклоалкил C₁₋₆ алкил» означает, что C₃₋₈ циклоалкил, определяемый в настоящем описании, присоединен к C₁₋₆ алкилу, определенному выше. Характерными примерами являются циклопропилметил, 1-циклобутилэтил, 2-циклопентилпропил, циклогексилметил, 2-циклогептилэтил и 2-циклооктилбутил и им подобные.

35 Термин «галоген» или «гало-» означает хлор-, фтор-, бром- или иод-.

Термин «C₁₋₆ алкилсульфонил» в данном описании обозначает группу -S(=O)₂C₁₋₆ алкил, где C₁₋₆ алкил определен выше. Характерными примерами являются, но не ограничивающие, метилсульфонил, этилсульфонил, н-пропилсульфонил, изопротилсульфонил, бутилсульфонил, изобутилсульфонил, втор-бутилсульфонил, трет-бутилсульфонил, н-пентилсульфонил, изопентилсульфонил, неопентилсульфонил, трет-пентилсульфонил, н-гексилсульфонил, изогексилсульфонил и им подобные.

45 Термин «арилсульфонил» обозначает группу -S(=O)₂ арил, где арил определен выше.

«Гетероарилсульфонил» обозначает группу -S(=O)₂ гетероарил, где гетероарил определен выше.

50 Выражение «стереоизомеры» является общим термином, используемым для всех изомеров индивидуальных молекул, которые отличаются только пространственной ориентацией своих атомов. К ним, как правило, относятся зеркальные изомеры, которые обычно существуют при наличии по крайней мере одного центра

асимметрии (энантиомеры). Если соединения, составляющие предмет настоящего изобретения, обладают двумя или более центрами асимметрии, они могут также существовать в форме диастереоизомеров, кроме того, некоторые индивидуальные молекулы могут существовать в форме геометрических изомеров (цис/транс). Следует
5 понимать, что все такие изомеры и их смеси в любой пропорции также включены в объем настоящего изобретения.

«Замещенный» обозначает замещенный одним или двумя заместителями, каждым из которых может быть C_{1-6} алкил, C_{1-6} перфторалкил, гидроксигруппа, $-CO_2H$, сложный
10 эфир, амид, C_1-C_6 алкокси, C_1-C_6 перфторалкокси, $-NH_2$, Cl, Br, I, F, $-NH-$ низший алкил или $-N(\text{низший алкил})_2$.

Соединения и соли, включенные в объем настоящего изобретения, могут существовать в таутомерных формах, в том числе в форме енолов и иминов, а также в
15 форме кетонов, енаминов, геометрических изомеров и их смесей. Все такие таутомерные формы также составляют предмет настоящего изобретения. Таутомеры существуют в виде смеси набора таутомеров в растворе. В твердом состоянии, как правило, преобладает один из таутомеров. Даже если описан один таутомер, все таутомеры соединения являются предметом настоящего изобретения.

Термин «модулятор» обозначает химическое соединение, обладающее способностью усиливать (то есть обладающим «агонистическим» действием) или
20 подавлять (то есть обладающее «антагонистическим» действием) какое-либо функциональное свойство или биологическую функцию или процесс (например, активность фермента или связывание рецептора); такое усиление или подавление может проявляться при выполнении определенных условий, таких как активация или подавление канала передачи сигнала, и/или может проявляться только в клетках определенных типов и приводить к измеряемым биологическим изменениям.

Термин «пациент» означает теплокровное животное, например крыс, мышей,
30 собак, кошек, морских свинок и приматов, например людей.

Выражение «фармацевтически приемлемый носитель» обозначает нетоксичный растворитель, диспергатор, наполнитель, вспомогательное или другое вещество,
35 которое смешивают с соединением, составляющим предмет настоящего изобретения, чтобы образовать лекарственный препарат, то есть дозируемую форму, которую можно вводить пациенту. Одним из примеров такого носителя является фармацевтически приемлемое масло, обычно используемое для парентерального введения.

Термин «фармацевтически приемлемые соли» означает, что соли соединений
40 настоящего изобретения могут использоваться в лекарственных препаратах. Вместе с тем и другие соли могут быть полезны в приготовлении соединений в соответствии с настоящим изобретением или их фармацевтически приемлемых солей. К подходящим фармацевтически приемлемым солям соединений настоящего изобретения относятся
45 кислотно-аддитивные соли, которые могут получаться, например, при смешении раствора соединения настоящего изобретения с раствором фармацевтически приемлемой кислоты, например соляной кислоты, бромистоводородной кислоты, серной кислоты, метансульфоновой кислоты, 2-гидроксиэтансульфоновой кислоты, п-толуолсульфоновой кислоты, фумаровой кислоты, малеиновой кислоты,
50 гидроксималеиновой кислоты, яблочной кислоты, аскорбиновой кислоты, янтарной кислоты, глутаровой кислоты, уксусной кислоты, салициловой кислоты, коричной кислоты, 2-феноксibenзойной кислоты, гидроксibenзойной кислоты, фенилуксусной кислоты, бензойной кислоты, щавелевой кислоты, лимонной кислоты, винной

кислоты, гликолевой кислоты, молочной кислоты, пировиноградной кислоты, малоновой кислоты, угольной кислоты или фосфорной кислоты. Могут также получаться кислые соли металлов, например моногидроортофосфат натрия и гидросульфат калия. Кроме того, получаемые таким образом соли могут представлять собой моно- или дизамещенные кислые соли и могут существовать в форме гидратов или быть в значительной степени обезвоженными. Более того, если соединения настоящего изобретения включают кислотную функцию, то к подходящим фармацевтически приемлемым их солям могут быть отнесены соли щелочных металлов, например соли натрия или калия, соли щелочноземельных металлов, например соли кальция или магния, и соли, образованные подходящими органическими лигандами, например четвертичные аммониевые соли.

Термин «терапевтически эффективное количество», используемый в данном документе, означает количество соединения, которое эффективно для лечения данного заболевания или состояния.

В настоящем изобретении предлагаются также фармацевтические композиции, включающие одно или несколько соединений настоящего изобретения и фармацевтически приемлемый носитель. Предпочтительно, такие композиции представлены в дозируемых формах, таких как таблетки, пилюли, капсулы, порошки, гранулы, стерильные парентеральные растворы или суспензии, дозируемые аэрозоли и жидкие распыляемые растворы, капли, ампулы, автоинжекторные устройства или суппозитории, предназначенные для перорального, интраназального, сублингвального или ректального введения или введения посредством ингаляции или инсуффляции. Альтернативно, композиции могут иметь форму, подходящую для применения раз в неделю или раз в месяц; например, нерастворимые соли активного соединения, такие как соли деканоата, могут быть приспособлены для приготовления депо для внутримышечных инъекций. Возможно использование разрушающегося полимера, содержащего активный ингредиент. Для приготовления твердых композиций, таких как таблетки, основной активный ингредиент смешивается с фармацевтическим носителем, например обычными для таблеток ингредиентами, например кукурузный крахмал, лактоза, сахароза, сорбит, тальк, стеариновая кислота, стеарат магния, дикальция фосфат или смолы, а также другие фармацевтические разбавители, например вода, чтобы образовать твердую предварительную композицию, содержащую гомогенную смесь соединения данного изобретения или его фармацевтически приемлемой соли. Когда предварительные композиции называют гомогенными, подразумевается, что активный ингредиент перемешан равномерным образом во всей композиции, и композицию можно разделить на обладающие равной эффективностью единичные дозы, например таблетки, пилюли и капсулы. Затем эту твердую предварительную композицию делят на единичные дозируемые формы описанного выше типа, содержащие от 0,1 до примерно 500 мг активного ингредиента, составляющего предмет настоящего изобретения. Ароматизированные единичные дозируемые формы содержат от 1 до 100 мг, например 1, 2, 5, 10, 25, 50 или 100 мг, активного ингредиента. Таблетки и пилюли этих новых композиций могут иметь оболочку или иное покрытие, чтобы обеспечить пролонгированное действие дозированной формы. Например, таблетка или пилюля может содержать внутренний и внешний дозированные компоненты, когда первый находится внутри последнего. Два компонента могут быть разделены энтеральным слоем, который предотвращает разрушение в желудке и позволяет внутреннему компоненту в неразрушенном состоянии попасть в двенадцатиперстную кишку или

чтобы его высвобождение произошло с задержкой. В качестве таких энтеральных слоев или покрытий могут использоваться разнообразные вещества, в том числе ряд полимерных кислот и смесей полимерных кислот с такими веществами, как шеллак, цетиловый спирт и ацетилцеллюлоза.

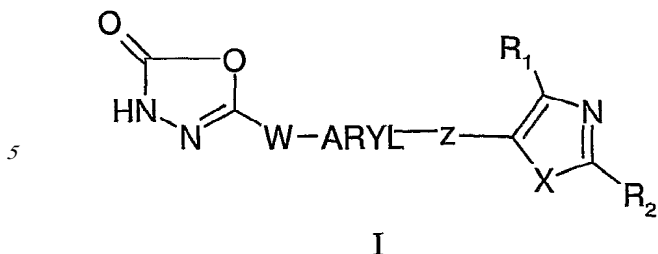
5 Жидкие формы, в которых новые соединения настоящего изобретения могут вводиться перорально или при помощи инъекции, включают водные растворы, сиропы с подходящим ароматизатором, водные и масляные суспензии и ароматизированные эмульсии со съедобным маслом, например хлопковое масло, 10 кунжутное масло, кокосовое масло или арахисовое масло, а также эликсиры и аналогичные фармацевтические носители. К подходящим диспергирующим и суспендирующим веществам для водных суспензий относятся синтетические и натуральные смолы, например трагакант, камедь, альгинат, декстран, натрийкарбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, пропилвинилпирролидон или 15 желатин.

При лечении различных патологических состояний, описанных в настоящем документе, подходящие дозы составляют примерно от 0,01 до 250 мг/кг в день, предпочтительно примерно от 0,05 до 100 мг/кг в день, а в особенности примерно от 20 0,05 до 20 мг/кг в день. Соединения могут приниматься в соответствии со схемой 1-4 раза в день.

В приведенных ниже примерах и описаниях процессов получения веществ используемые термины имеют указанные ниже значения: «кг» означает килограммы, «г» означает граммы, «мг» означает миллиграммы, «мкг» означает микрограммы, 25 «пг» означает пикограммы, «моль» означает моли, «ммоль» означает миллимоли, «нмоль» означает наномоли, «л» означает литры, «мл» означает миллилитры, «мкл» означает микролитры, «°С» означает градусы Цельсия, «R_f» означает время удерживания, «тпл» или «т.пл.» означает точку плавления, «разл.» означает 30 разложение, «т кип» или «т.кип.» означает точку кипения, «мм рт. ст.» означает миллиметры ртутного столба, «см» означает сантиметры, «нм» означает нанометры, «[α]²⁰_D» означает удельное вращение для D-линии натрия при 20°С в 1-дециметровой ячейке, «с» означает концентрацию в г/мл, «ТГФ» означает тетрагидрофуран, «ДМФ» 35 означает диметилформамид, «НМП» означает 1-метил-2-пирролидинон, «соляной раствор» означает насыщенный водный раствор хлорида натрия, «М» означает концентрацию в молях, «мМ» означает концентрацию в миллимолях, «мкМ» означает концентрацию в микромолях, «нМ» означает концентрацию в наномолях, «ТСХ» означает тонкослойную хроматографию, «ВЭЖХ» охзначает высокоэффективную 40 жидкостную хроматографию, «МСВР» означает масс-спектрометрию высокого разрешения, «МСХИ» означает масс-спектрометрию с химической ионизацией, «МСИЭ» означает масс-спектрометрию с ионизацией электрораспылением, «tR» означает время удерживания, «фунт» означает фунты, «гал.» означает галлоны, «П.П.В.» означает потери при высушивании, «мкКи» означает микрокюри, «в/б» 45 означает внутрибрюшинно, «в/в» означает внутривенно.

В первом аспекте настоящего изобретения описываются новые соединения общей структуры, представленной формулой I:

50



где

10 ARYL представляет собой фенил или пиридинил, где указанный фенил или пиридинил может иметь один или несколько заместителей, выбранных из группы, включающей галоген, C₁₋₆ алкил, C₂₋₆ алкенил, C₁₋₆ алкокси, C₁₋₆ перфторалкил; C₁₋₆ алкилтио, гидроксид, гидроксид C₁₋₆ алкил, C₁₋₄ ацилокси, нитро, циано, C₁₋₆ алкилсульфонил, amino, C₁₋₆ алкиламино и C₁₋₆ алкоксикарбонил;

W представляет собой связь или (CH₂)_m, где m обозначает целое число от 1 до 4;

Z представляет собой -O(CH₂)_n-, -SO₂(CH₂)_n-, -(CH₂)_n-Y-(CH₂)_n-, -(CH₂)_n-CO-, -O(CH₂)_n-CO- или -(CH₂)_n-Y-(CH₂)_n-CO-, где Y обозначает NR₃, O или S, а R₃ выбирают из группы, включающей H, C₁₋₆ алкил, C₃₋₈ циклоалкил, C₁₋₆ алкил C₃₋₈ циклоалкил или бензил, n независимо обозначает целое число от 1 до 5;

X представляет собой NR₃, O или S, где R₃ определено выше;

R₁ представляет собой H, галоген, C₁₋₆ алкил, C₁₋₆ алкокси, C₁₋₆ перфторалкил; гидроксид C₁₋₆ алкил, нитро, циано и C₁₋₆ алкиламино; и

R₂ представляет собой замещенный или незамещенный фенил, пиридинил или тиенил, где заместители выбирают из группы, включающей галоген, C₁₋₆ алкил, C₂₋₆ алкенил, C₁₋₆ алкокси, C₁₋₆ перфторалкил, C₁₋₆ алкилтио, гидроксид, гидроксид C₁₋₆ алкил, C₁₋₄ ацилокси, нитро, циано, C₁₋₆ алкилсульфонил, amino, C₁₋₆ алкиламино и C₁₋₆ алкоксикарбонил; или его стереоизомер, таутомер или сольват, или его фармацевтически приемлемую соль.

В дополнительном аспекте данного осуществления изобретения описано соединение, в котором ARYL представляет собой фенил.

Предпочтительно соединения данного осуществления изобретения выбраны из группы, включающей:

- 5-{4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]фенил}-3H-[1,3,4]оксадиазол-2-он,
- 5-[4-(4-метил-2-*m*-толиллоксазол-5-илметокси)фенил]-3H-[1,3,4]оксадиазол-2-он,
- 5-{4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил]метоксиметил]фенил}-3H-[1,3,4]оксадиазол-2-он,
- 5-{3-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил]метоксиметил]фенил}-3H-[1,3,4]оксадиазол-2-он,
- 5-{4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]-2-хлорфенил}-3H-[1,3,4]оксадиазол-2-он,
- 5-{4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметоксиметил]-2-фторфенил}-3H-[1,3,4]оксадиазол-2-он,
- 5-{4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]бензил}-3H-[1,3,4]оксадиазол-2-он и
- 5-(2-{3-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]фенил}этил)-3H-

[1,3,4]оксадиазол-2-он.

В одном из последующих аспектов данного осуществления изобретения описано соединение, в котором ARYL представляет собой фенил и R₂ представляет фенил.

В одном из последующих аспектов данного осуществления изобретения описано соединение, в котором ARYL представляет собой фенил, Z является -O(CH₂)_n- и R₂ представляет фенил.

В одном из последующих аспектов данного осуществления изобретения описано соединение, в котором ARYL представляет собой фенил, Z является -O(CH₂)_n-, X является O или S и R₂ представляет фенил.

В одном из последующих аспектов данного осуществления изобретения описано соединение, в котором ARYL представляет собой фенил, Z является -O(CH₂)_n-, X представляет O или S, R₁ представляет C₁₋₆алкил и R₂ представляет фенил и W обозначает связь.

В одном из последующих аспектов данного осуществления изобретения описано соединение, в котором X представляет O.

В одном из последующих аспектов данного осуществления изобретения описано соединение, в котором X представляет S.

В одном из последующих аспектов данного осуществления изобретения описано соединение, в котором ARYL представляет собой фенил, Z представляет -(CH₂)_n-Y-(CH₂)_n- и R₂ представляет фенил.

В одном из последующих аспектов данного осуществления изобретения описано соединение, в котором ARYL представляет собой фенил, Z представляет -(CH₂)_n-Y-(CH₂)_n-, X представляет O или S и R₂ представляет фенил.

В одном из последующих аспектов данного осуществления изобретения описано соединение, в котором ARYL представляет собой фенил, Z представляет -(CH₂)_n-Y-(CH₂)_n-, X представляет O или S, R₁ представляет C₁₋₆алкил и R₂ представляет фенил и W представляет связь.

В одном из последующих аспектов данного осуществления изобретения описано соединение, в котором X представляет S.

В одном из последующих аспектов данного осуществления изобретения описано соединение, в котором Y представляет O.

В одном из последующих аспектов данного осуществления изобретения описано соединение, в котором ARYL представляет собой фенил, Z представляет -O(CH₂)_n- и R₂ представляет фенил.

В одном из последующих аспектов данного осуществления изобретения описано соединение, в котором ARYL представляет собой фенил, Z является -O(CH₂)_n-, X представляет O или S и R₂ представляет фенил, R₁ представляет C₁₋₆алкил и R₂ представляет фенил и W представляет (CH₂)_m, где m обозначает целое число от 1 до 4.

В одном из последующих аспектов данного осуществления изобретения описано соединение, в котором X представляет S.

Еще в одном осуществлении настоящего изобретения описана фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество соединения формулы I и фармацевтически приемлемый носитель.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения описан способ лечения заболевания млекопитающего в случае, когда заболевание может модулироваться лиганд-связывающей активностью PPAR-дельта путем введения млекопитающему,

страдающему данным заболеванием, терапевтически эффективного количества соединения формулы I.

В одном из последующих аспектов осуществления описан способ, в котором указанное заболевание представляет собой демиелинизирующее заболевание, которое выбирают из группы, включающей рассеянный склероз, болезнь Шарко-Мари-Тута, болезнь Пелицеуса-Мерцбахера, энцефаломиелит, миелоневрит зрительного нерва, аденолейкодистрофия, синдром Гийена-Барре, и нарушения, при которых повреждаются производящие миелин глиальные клетки, в том числе травмы спинного мозга, невропатии и повреждения нервов.

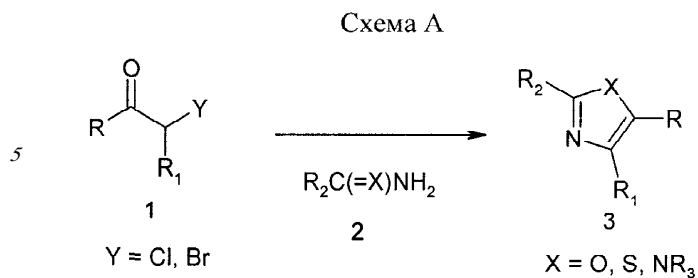
Еще в одном аспекте этого осуществления изобретения описан способ, в котором демиелинизирующим заболеванием является рассеянный склероз.

Еще в одном аспекте данного изобретения описан способ, в котором указанное заболевание выбирают из группы, включающей ожирение, гипертриглицеридемия, гиперлипидемия, гипоальфалиппротеинемия, гиперхолестеринемия, дислипидемия, синдром X, сахарный диабет II типа и их осложнения, выбираемые из группы, включающей невропатию, нефропатию, ретинопатию и катаракты, гиперинсулинемию, нарушение толерантности к глюкозе, резистентность к инсулину, атеросклероз, повышенное артериальное давление, коронарную болезнь сердца, болезнь периферических сосудов и застойную сердечную недостаточность.

Описанные здесь соединения могут быть синтезированы при помощи методов согласно схемам, в которых заместители X и R соответствуют определениям, данным для формулы (I) выше, если не указано иначе. Предполагается, что определенные исходные вещества в этих схемах синтеза коммерчески доступны либо их синтез не вызовет трудностей у специалиста в данной области.

Если необходимо, в приведенных ниже схемах синтеза химически активные функциональные группы, присутствующие в соединениях, описанных в данном изобретении, могут быть защищены подходящими защитными группами. Защитную группу можно удалить на одной из последующих стадий синтеза. Методику проведения защиты химически активных функциональных групп и их последующего удаления можно найти в T. W. Greene and P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley and Sons, 1991.

На схеме A показан синтез соответствующих имидазольных, оксазольных и тиазольных производных для соединений формулы I, где X представляет собой O, S, NR₃. Гетероциклы можно получить при помощи способов, известных из химической литературы (обзоры см. Katritzky, A.R.; Rees, C.W. Eds. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, Vol. 5; Pergamon Press (1984); Katritzky, A.R.; Rees, C.W.; Scriven, E.F.V. Eds. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*; Vols 3 & 4, Pergamon Press (1996)). В частности, указанные оксазолы, имидазолы и тиазолы можно получить плавлением подходящего α гало-кетона 1 с амидом, амидином или тиамидом соответственно (с общей формулой 2) при температуре примерно от 40°C до 150°C с получением промежуточных гетероциклов 3.



На схеме В показан общий синтез соединений формулы I, где Z представляет собой $-\text{O}(\text{CH}_2)_n-$. Соответственно, на стадии В1 сложный эфир карбоновой кислоты с соответствующим заместителем 4, который может быть синтезирован, как показано на Схеме А, восстанавливается до спирта 5 при помощи хорошо известных способов. Например, процесс восстановления можно проводить гидридами алюминия, такими как алюмогидрид лития или гидрид диизобутилалюминия в инертном растворителе. На стадии В2 функциональная группа спирта в соединении 5 превращается в уходящую группу с образованием соединения 6, где Lg - уходящая группа, такая как галоген или эфир сульфокислоты, например мезилат или тозилат. Превращение в уходящую группу можно провести при помощи реакции спирта с такими реагентами, как N-бромсукцинимид, в присутствии трифенилфосфина с образованием соединения, в котором уходящая группа представляет собой бромид, или реакции с тионилхлоридом с получением соединения, в котором уходящая группа представляет собой хлорид.

Если необходимо получить эфир сульфокислоты, проводят реакцию соединения 5 с соответствующим сульфонилхлоридом в присутствии подходящего основания. Например, реакция соединения 5 с метансульфонилхлоридом в присутствии органического основания, такого как триэтиламин или пиридин, в инертном растворителе приводит к соединению 6, в котором уходящей группой является OSO_2CH_3 .

На стадии В3 сложный эфир гидроксиарила с подходящими заместителями 7 реагирует с гетероциклом 6, замещая уходящую группу, с образованием связанного эфира 8. Реакция замещения проводится в условиях, хорошо известных специалистам. Как правило, эта реакция проводится в присутствии основания, такого как гидрид натрия, или другого неорганического основания, такого как карбонат или гидроксид щелочного металла, в инертном растворителе. Температура реакции, хоть она и не является критическим фактором, должна составлять от 0°C до температуры флегмы инертного растворителя.

Затем соединение 8 на стадии В4 обрабатывается гидразином, чистым либо в подходящем органическом растворителе, при повышенной температуре с образованием гидразида кислоты 9. Как правило, эта реакция проводится при температуре от 50°C до температуры флегмы органического растворителя.

Циклизация гидразида кислоты 9 на стадии В5 до искомого 1,3,4-оксадиазол-2-онов 10 выполняется посредством обработки соединения 9 хлорформиатом в присутствии органического основания, такого как пиридин, с последующей обработкой сильным основанием с стерически затрудненной аминок группой, таким как 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен (DBU) в подходящем органическом растворителе, таком как ацетонитрил, в герметически закупоренной колбе при повышенной температуре. Как правило, реакцию проводят при температуре от 100°C до 200°C . 1,3,4-оксадиазол-2-оны можно также синтезировать

посредством реакции соединения 9 с фосгеном. См. Stempel, A., et al., *J. Org. Chem.* 1955, 20, 412.

На стадии В6 приводится альтернативный вариант синтеза связанного эфира 8. Соответственно, спирт 5 может реагировать со сложным эфиром гидроксиарила 8 в присутствии триарил- или триалкилфосфина, такого как трифенилфосфин или три-*n*-бутилфосфин, и диэтилазодикарбоксилатом в инертном растворителе, например ТГФ или дихлорметане, с образованием связанного сложного эфира 8. Как правило, эту реакцию проводят при температуре от комнатной до температуры флегмы инертного растворителя.

Схема В

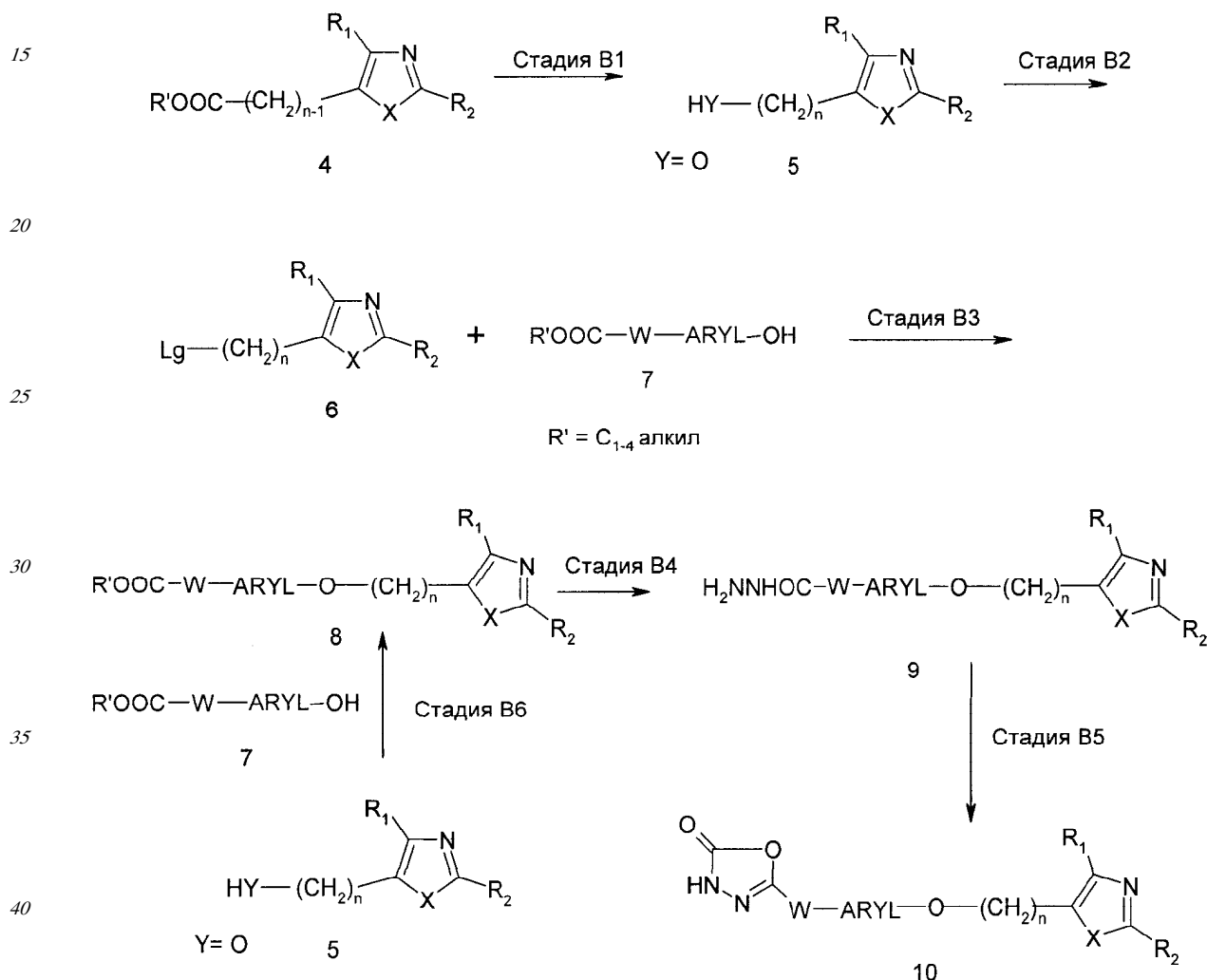


Схема С иллюстрирует синтез соединения формулы I, в котором Z представляет собой $-(CH_2)_n-Y-(CH_2)_n-$. Эта схема наиболее удобна для синтеза соединений, в которых *n* в алкиленовой цепи, присоединенной к ARYL, равно 1 или 2. На стадии С1 соединение 5 (Y=O) превращается в соединение 6 (в котором Lg - хлор или бром), как описано в схеме В, стадия В2. Затем соединение 6 реагирует с тиомочевинной, соединение 11, в условиях, аналогичных описанным в Treau, M. et al. *Heterocycles*, 2001, 55 (9), 1727-1735, с образованием тиола 5а.

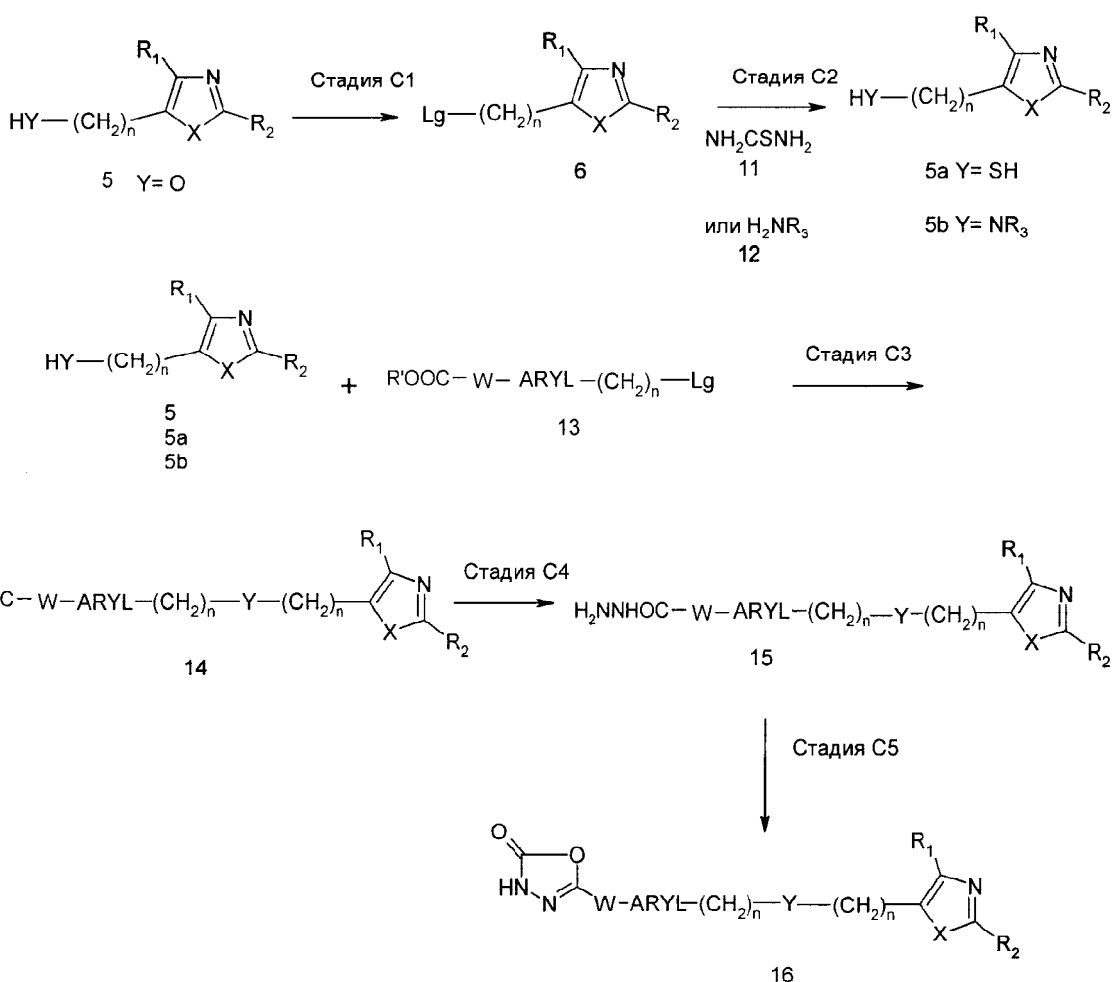
При реакции соединения 6 с первичным амином 12 образуется гетероцикл алкиламина 5b. Такое замещение уходящей группы амином хорошо известно специалистам в области. Как правило, реакция замещения проводится в полярном

органическом растворителе в присутствии органического основания, которое используется для нейтрализации кислоты. Хотя это и не является совершенно необходимым условием, реакцию замещения проводят при температуре от комнатной до температуры флегмы растворителя.

На стадии С3 соединения 5, 5а и 5b могут реагировать с соединением 13 с образованием связанного арилэфира 14, в котором Y представляет собой O, S или NR₃. Таким образом, при реакции соединений 5 (Y=O) и 5а (Y=S) с 13 для замещения уходящей группы такое взаимодействие, как правило, проводится в присутствии сильного основания, например гидроксида натрия, в полярном апротонном растворителе, таком как ДМФ или ДМСО, при температурах примерно от 0°C до 150°C. Если соединение 5b (Y=NR₃) реагирует с 13, применяются условия, идентичные описанным выше для стадии С2 для первичного амина.

Синтез искомым 1,3,4-оксадиазол-2-онов 16 из соединения 14 проводится в две стадии (С4 и С5), в точности как описано на схеме В, стадии В4 и В5.

Схема С



На схеме D приводится альтернативный подход к получению соединений формулы I, в которых Z представляет собой $-(\text{CH}_2)_n-\text{Y}-(\text{CH}_2)_n-$. Такая схема наиболее удобна для синтеза соединений, в которых n в алкиленовой цепи, присоединенной к ARYL, равно от 3 до 5.

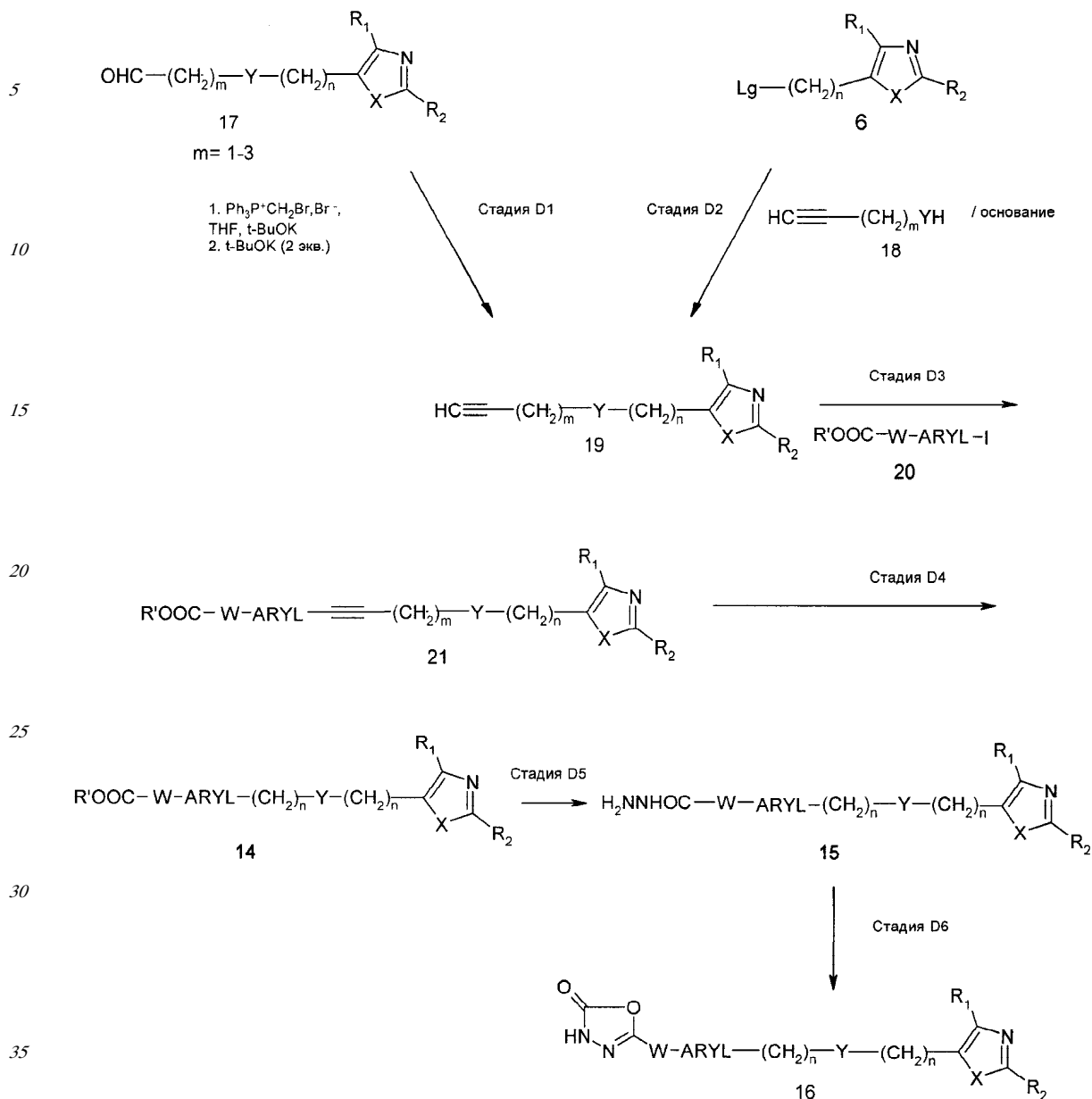
На стадии D1 соединение с терминальным альдегидом 17, которое может быть синтезировано по методу, показанному на схеме А, превращается в терминальный ацетилен 19 реакцией в две стадии. Таким образом, реакция 17 с

бромметилентрифенилфосфораном (первая стадия) с калий-*t*-BuOK дает промежуточный бромолефин (не показан), который затем обрабатывают 2-мя эквивалентами *t*-BuOK (вторая стадия) с образованием ацетилена 19. Данная последовательность реакций превращения описана в Pianetti, P., *Tet. Letters*, 1986, 48, 5853-5856. См. также Corey, E. J., et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 1969, 91, 4318-4320. Как показано на стадии D2, в качестве альтернативного способа промежуточные соединения типа 19 могут быть получены замещением уходящей группы из такого промежуточного соединения как 6 (смотрите схему C) с помощью нуклеофила, например, 18, в который включен концевой ацетилен.

На стадии D3 сочетание Соногаширы ацетиленового промежуточного соединения 19 с арилиодидом 20 проводится в присутствии тетракистрифенилфосфинпалладия (0), йодида меди (I) и соответствующего органического основания в инертном растворителе с образованием связанного концевого ацетилена 21. Восстановление ацетилена 21 может затем проводиться на стадии D4 посредством каталитического гидрирования соединения 21 с образованием насыщенного сложного эфира 14. Как правило, восстановление может проходить под действием катализаторов, таких как палладий на углероде или хлортрис(трифенилфосфин)родий(I) в инертном органическом растворителе с водородом при давлении от 30 до 300 фунтов на кв. дюйм. Восстановление можно проводить при температуре от комнатной до 175°C.

Синтез искомых 1,3,4-оксадиазол-2-онов 16 из соединения 14 проводится в две стадии (D5 и D6), в точности как описано на схеме B, стадии B4 и B5.

Схема D



На схеме E приводится частный случай синтеза соединений формулы I, где Z представляет собой $-(\text{CH}_2)_n\text{NR}_3(\text{CH}_2)_n-$. В этом подходе линкер Z строится посредством восстановительного аминирования альдегида амином. Например, на стадии E1 в результате обработки соединения 5b (где $\text{Y}=\text{NR}_3$) альдегидом, таким как сложный эфир 4-формилбензойной кислоты ($n=1$), соединение 22 в полярном растворителе, как правило, спирте или смеси спирта и ТГФ, с последующей обработкой восстановителем, таким как триацетоксиборгидрид натрия, приводит к желаемому промежуточному соединению 14a ($n=1$).

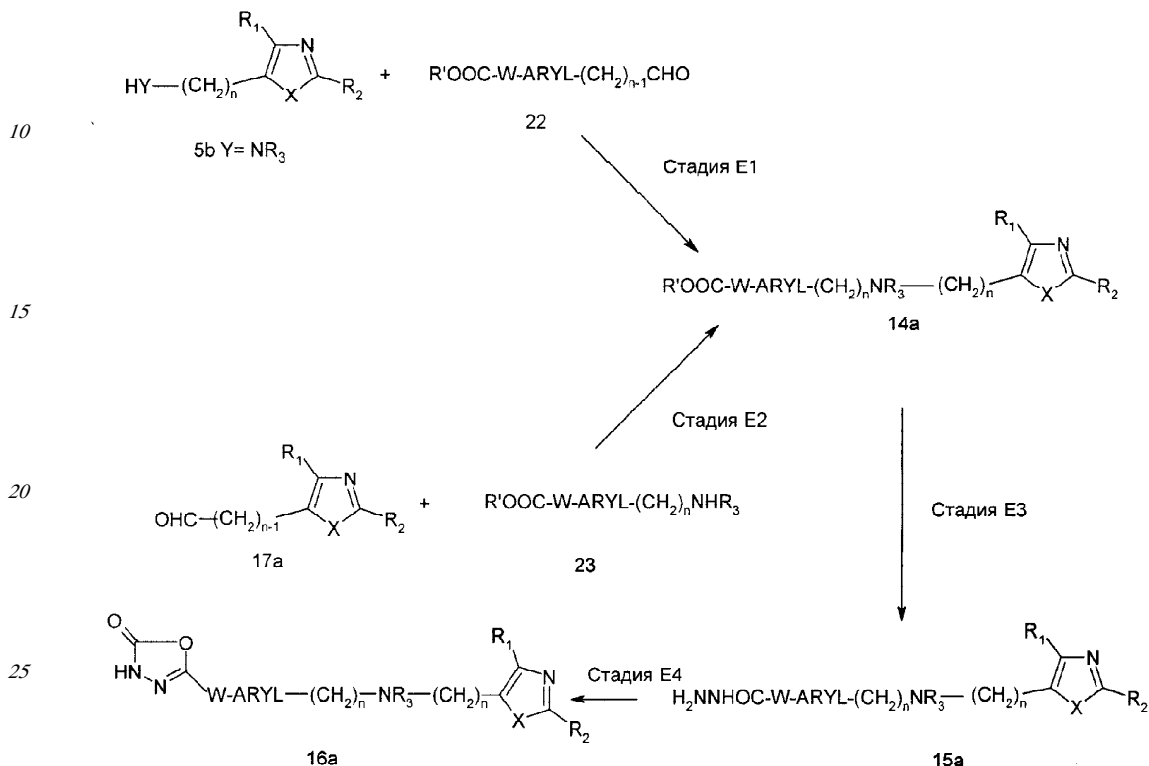
Аналогично, на стадии E2 обработка альдегида, например, 17a, амином, таким как метиловый эфир 4-аминоалкилбензойной кислоты ($n=1$), соединение 23, приводит к 14a, где n равно 1, а R_3 в $-(\text{CH}_2)_n\text{NR}_3$ представляет собой H. Соединение 14a на стадиях E3 и E4 превращается в 1,3,4-оксадиазол-2-оны 16a, как показано на схеме B, стадии B4 и B5.

В более общем случае соответствующие амины ($\text{R}'\text{OOC}-\text{ARYL}-(\text{CH}_2)_n\text{NHR}_3$)

получают из соответствующих нитрилов или нитросоединений путем каталитического гидрирования или из ацетиленаминов и арилиодидов или бромидов посредством сочетания Соногаширы с последующим каталитическим гидрированием, как описано для схемы D.

5

Схема E



30

Схема F иллюстрирует синтез соединений формулы I, в которых Z представляет собой -SO₂(CH₂)_n-. На стадии F1 обработка арилсульфонилхлорида 24 водным сульфитом натрия дает сульфоновую кислоту 25. Реакция 25, как показано на стадии F2, с таким промежуточным соединением, как 6, в полярном растворителе, например ДМФ, ацетонитрил или этанол, в присутствии основания, такого как DBU, пиридин, метоксид натрия или гидроксид натрия, дает промежуточное соединение 26. Промежуточное соединение 26 превращается в соответствующий 1,3,4-оксадиазол-2-он 28 на стадиях F3 и F4, как показано на схеме В, стадии В4 и В5.

40

45

50

Схема F

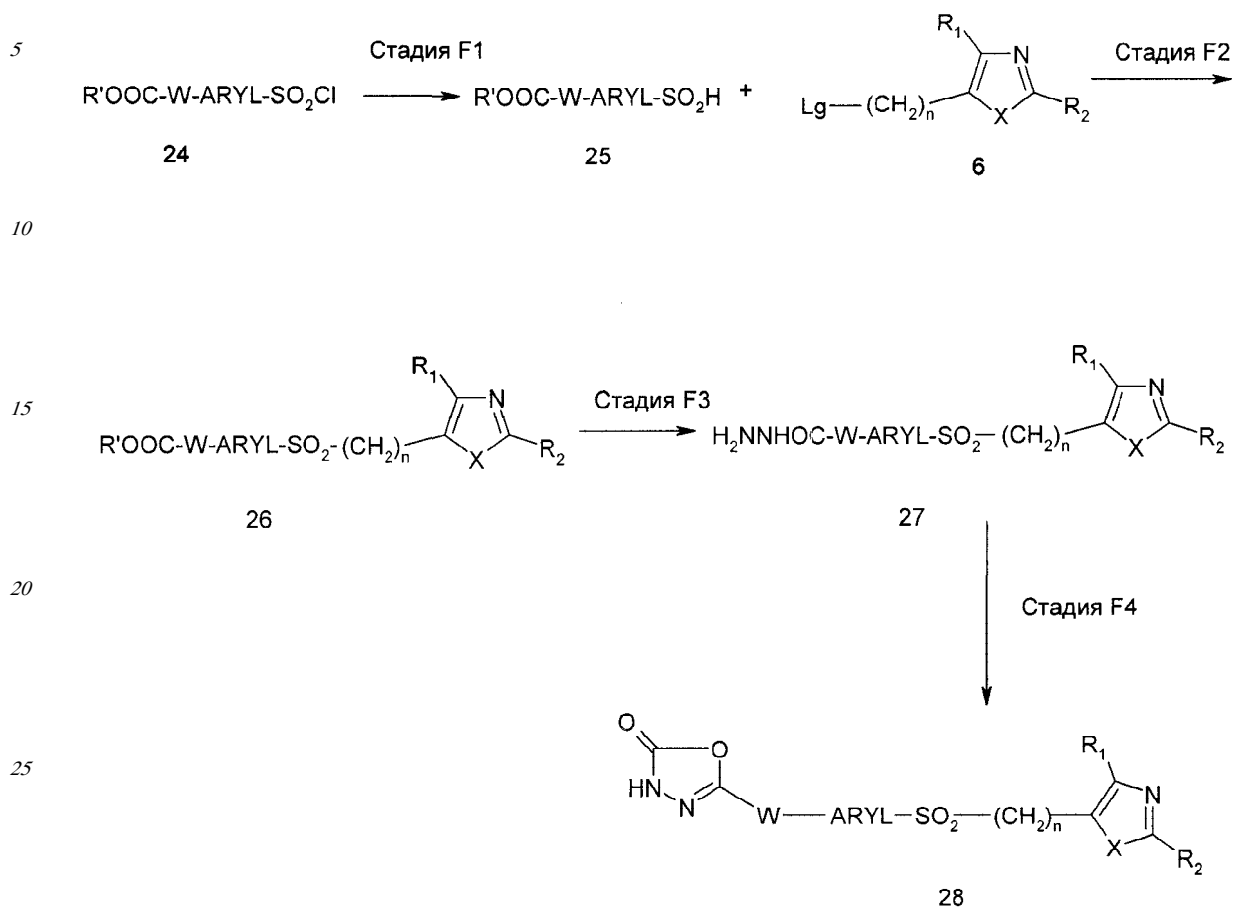


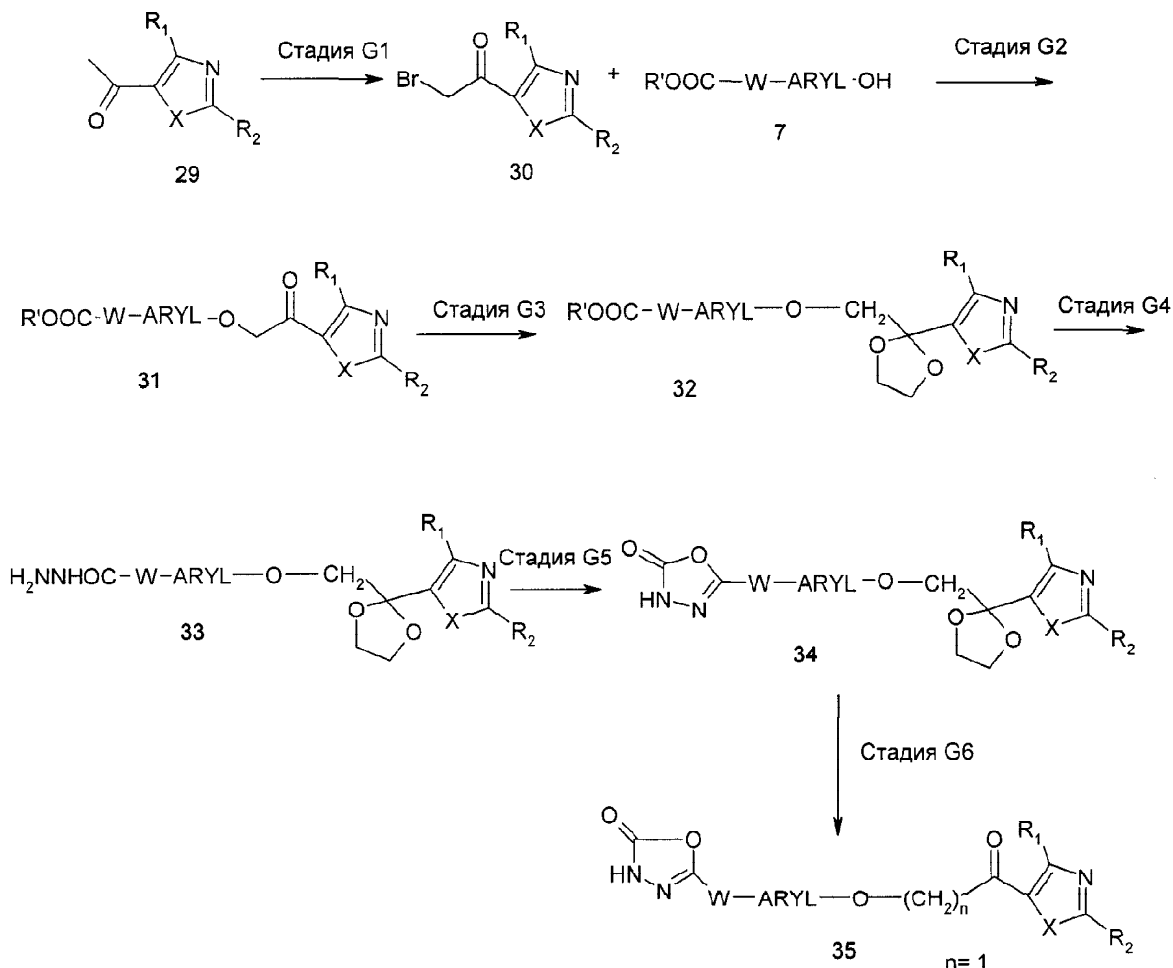
Схема G иллюстрирует синтез соединений формулы I, в которых Z представляет собой $-O(CH_2)_nCO-$. В показанном на этой схеме случае n равно 1. Исходный 2-ацильный гетероцикл 29 может быть синтезирован из соответствующей карбоновой кислоты (получаемой по методу, показанному на схеме A) добавлением соответствующего реактива Гриньяра к промежуточному N-метокси-N-метилкарбоксамиду (Khlestkin, V.K. et al.; Current Organic Chemistry, 2003, 7(10), 967-993 и Singh, J. et al., Journal für Praktische Chemie, 2000, 342, 340-347). Получение промежуточного N-метокси-N-метилкарбоксамида чаще всего проводится реакцией кислоты с гидрохлоридом N-метокси-N-метилгидроксиламина в присутствии пептидных реагентов сочетания, таких как EDC, DCC, DMPU и третичного аминного основания, такого как диизопропилэтиламин или триэтиламин.

Полученное соединение 29 бромруют и получают бромкетон 30, как показано на стадии G1. Бромирование можно провести хорошо известными методами, например реакцией соединения 29 с бромидом пиридиния в уксусной кислоте или реакцией соединения 29 с Br_2 в инертном органическом растворителе, таком как дихлорметан. Образующийся бромкетон 30 реагирует на стадии G2 с арилгидроксиэфиром 7 в условиях, описанных для схемы B (стадия B3), с образованием связанного сложного эфира 31. Кетонная функция в 31 защищается как кеталь 32, как показано на стадии G3, методами, известными специалистам в данной области. Соединение 32 затем превращается в кеталь 1,3,4-оксадиазол-2-она 34 на стадиях G4 и G5 по стандартной последовательности, описанной для схемы B (B4 и B5). Наконец, на

стадии G6 кетальная функция в 34 расщепляется, например, минеральной кислотой в смеси ТГФ-метанол-вода или при помощи других известных методов с образованием искомого соединения 35.

Для специалиста очевидно, что описанную выше методику для схемы G можно использовать для синтеза аналогичных соединений, где n в соединении 35 принимает значения от 2 до 5, если в качестве исходного соединения использовать бромкетон, соединение 30, с более крупным бромалканоильным заместителем $(\text{Br}(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$, где n принимает значения от 2 до 5).

Схема G

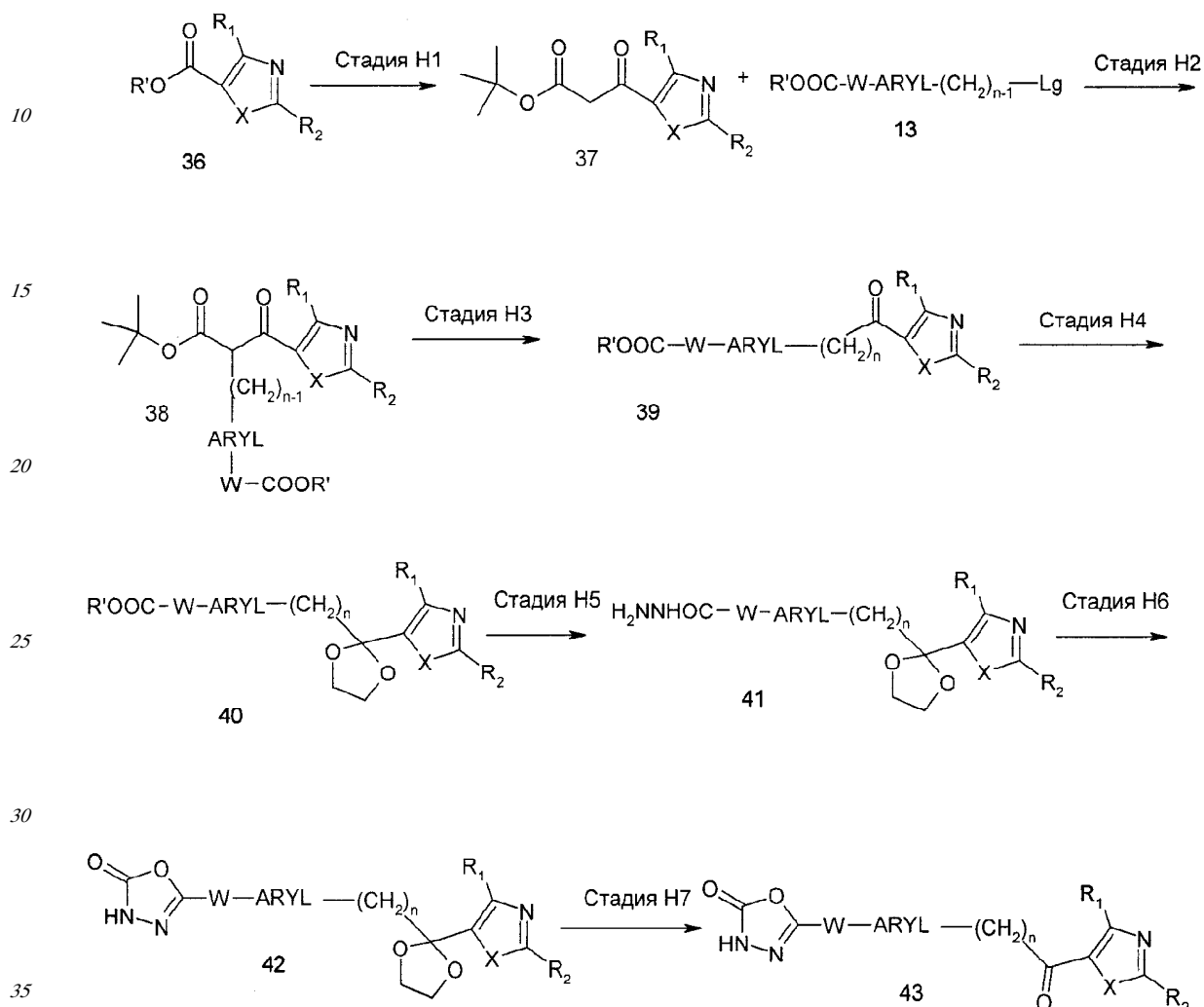


На схеме H приводится процесс получения соединений формулы I, в которых Z представляет собой $(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$. На стадии H1 соответствующий метоксикарбонил-замещенный гетероцикл 36 обрабатывают 2-мя эквивалентами литиевого енолята трет-бутилацетата в таком растворителе, как ТГФ или ДМЭ, при температуре от -78°C до комнатной с образованием кетоацетатного промежуточного соединения 37. На стадии H2 обработка 37 основанием, например гидридом натрия, при температуре от -10°C до комнатной с последующим алкилированием получившегося аниона электрофилом, например, 13 дает разветвленный промежуточный кетоэфир 38. Декарбоксилирование, показанное на стадии H3, может проводиться обработкой соединения 38 ТФА в инертном растворителе, таком как дихлорметан, с последующим термолизом при температуре от 70°C до 150°C с образованием промежуточного кетоэфира 39. Кетоновая функция в 39 защищена как кеталь 40, как показано на стадии H4, методами, хорошо известными специалистам.

Соединение 40 затем превращается в кеталь 1,3,4-оксадиазол-2-она 42 на стадиях Н5 и Н6 по стандартной последовательности, как описано для схемы В (В4 и В5).

Наконец, на стадии Н7 кетальная функция в 42 расщепляется, как описано выше для схемы G, стадия G6, с образованием искомого 1,3,4-оксадиазол-2-она, соединение 43.

Схема Н

Биологические примеры:

40 Приведенные ниже протоколы анализов используются для подтверждения биологических свойств соединений, составляющих объект настоящего изобретения. Следующие примеры приводятся для более подробной иллюстрации изобретения. Однако их не следует понимать как ограничивающие настоящее изобретение.

Определение значений EC₅₀ в клеточном анализе PPAR-дельта-GAL4:Принцип анализа

45 Активность веществ, которые связывают PPAR-дельта человека и активируют его агонистическим образом, анализируют при помощи стабильно трансфектированной линии клеток НЕК (НЕК - почка эмбриона человека), которая здесь называется репортерной линией клеток PPAR-дельта. Репортерная линия клеток PPAR-дельта содержит два генетических элемента - репортерный элемент люциферазы (pdeltaM-GAL4-Luc-Zeo) и PPAR-дельта слитый белок (GR-GAL4-humanPPAR delta-LBD),

50 который регулирует экспрессию репортерного элемента люциферазы в зависимости

от PPAR-дельта лиганда. Стабильно и конститутивно экспрессируемый слитый белок GR-GAL4-humanPPAR delta-LBD связывается в ядре клетки репортерной линии клеток PPAR-дельта через часть белка GAL4 со связывающими мотивами GAL4 ДНК в 5'-направлении от репортерного элемента люциферазы, который стабильно интегрируется в геном линии клеток. Наблюдается лишь слабая экспрессия репортерного гена люциферазы в отсутствие PPAR-дельта лиганда, если в анализе используется обедненная жирными кислотами фетальная телячья сыворотка (cs-FCS). Лиганды PPAR-дельта связывают и активируют слитый белок PPAR-дельта и, таким образом, стимулируют экспрессию репортерного гена люциферазы. Образующаяся люцифераза может регистрироваться при помощи хемилюминесценции при участии подходящего субстрата.

Конструкция репортерной линии клеток PPAR-дельта:

Получение стабильной репортерной линии клеток PPAR-дельта основано на стабильном НЕК-клеточном клоне, который стабильно трансфектирован репортерным элементом люциферазы. Данная стадия уже описана выше в разделе «конструкция репортерной линии клеток PPAR-альфа». На второй стадии слитый белок PPAR-дельта (GR-GAL4-humanPPAR delta-LBD) стабильно вводился в этот клеточный клон. Для этого кодирование кДНК для N-терминальных 76 аминокислот глюкокортикоидного рецептора (№ по каталогу P04150) связывали с областью кДНК, кодирующей аминокислоты 1-147 транскрипционного фактора дрожжей GAL4 (№ по каталогу P04386). кДНК лиганд-связывающей области PPAR-дельта рецептора человека (аминокислоты S139-Y441; № по каталогу L07592) клонировали на 3'-конце этой конструкции GR-GAL4. Полученная таким образом слитая конструкция (GR-GAL4-humanPPAR delta-LBD) была повторно клонирована в плазмиду pcDNA3 (Invitrogen), чтобы облегчить конститутивную экспрессию промотора цитомегаловируса. Данная плазида была линеаризована рестриктазой и стабильно трансфектирована в ранее описанный клеточный клон, содержащий элемент репортера люциферазы. Получившаяся репортерная линия клеток PPAR-дельта, которая содержит элемент репортера люциферазы и конститутивно экспрессирует слитый белок PPAR-дельта (GR-GAL4-human PPAR delta-LBD), была изолирована селекцией зеоцином (0,5 мг/мл) и G418 (0,5 мг/мл).

Проведение анализа и оценка:

Активность агонистов PPAR-дельта определяется в ходе 3-дневного анализа, который описан ниже:

День 1

Репортерную линию клеток PPAR-дельта культивируют до конfluenceности 80% в DMEM (# 41965-039, Invitrogen), которую смешивают со следующими добавками: 10% cs-FCS (фетальная телячья сыворотка; #SH-30068.03, Hyclone), 0,5 мг/мл зеоцина (#R250-01, Invitrogen), 0,5 мг/мл G418 (#10131-027, Invitrogen), 1% раствора пенициллин-стрептомицин (#15140-122, Invitrogen) и 2 мМ L-глутамин (#25030-024, Invitrogen). Культивация происходила в стандартных флаконах для выращивания клеток (# 353112, Vecton Dickinson) в инкубаторе для выращивания клеток при 37°C в присутствии 5% CO₂. Клетки с конfluenceностью 80% один раз промывают 15 мл PBS (забуференный фосфатом физиологический раствор) (#14190-094, Invitrogen), обрабатывают 3 мл раствора трипсина (#25300-054, Invitrogen) при 37°C в течение 2-х минут, помещают в 5 мл описанного DMEM и считают в цитометре. После разбавления до 500 000 клеток/мл, в каждую ячейку в объеме 180 мкл сеют 35 000 клеток в 96-ячеечные планшеты для микротитрования с основанием из прозрачной

пластмассы (#3610, Corning Costar). Планшеты инкубируют в инкубаторе для клеточных культур при 37°C и 5% CO₂ в течение 24-х часов.

День 2

PPAR-delta агонисты, которые необходимо исследовать, растворяют в ДМСО в концентрации 10 мМ. Полученный маточный раствор разбавляют в DMEM (#41965-039, Invitrogen), которую смешивают с 5% cs-FCS (#SH-30068.03, Hyclone), 2 мМ L-глутамина (#25030-024, Invitrogen) и описанными ранее антибиотиками (зеоцин, G418, пенициллин и стрептомицин).

Анализируемые вещества тестируют в 11-ти разных концентрациях в диапазоне от 10 мкМ до 100 пМ. Наиболее активные соединения тестируют в диапазонах концентраций от 1 мкМ до 10 пМ или от 100 нМ до 1 пМ.

Среду репортерной линии клеток PPAR-дельта, посеянную в день 1, либо полностью удаляют отсасыванием, либо оставляют, и разбавленные в среде испытываемые вещества сразу же добавляют к клеткам. Разбавление и добавление веществ выполняет лабораторный робот (Beckman FX). Конечный объем анализируемых веществ, разбавленный в среде, составляет 100 мкл на ячейку 96-ячеечной планшеты для микротитрования. Концентрация ДМСО в аналитической смеси составляет менее 0,1% по объему во избежание цитотоксических эффектов растворителя.

В каждый планшет вводили стандартный агонист PPAR-дельта, который аналогичным образом разбавляли в 11-ти разных концентрациях, для того чтобы продемонстрировать процесс анализа в каждом отдельном планшете. Аналитические планшеты инкубируют в инкубаторе при 37°C и 5% CO₂ в течение 24-х часов.

В качестве альтернативы 20 мкл 10-кратной конечной концентрации анализируемого вещества добавляют непосредственно к 180 мкл клеток в ячейках планшеты. Анализируемые вещества трижды тестируют при 8-ми разных концентрациях в таком аналитическом планшете.

День 3

Репортерные клетки PPAR-дельта обрабатывают анализируемыми веществами и убирают из инкубатора, а затем среду отсасывают. Клетки лизируют, добавляя пипеткой 50 мкл реагента Bright Glo (производства Promega) в каждую ячейку 96-ячеечной планшеты для микротитрования. После инкубации при комнатной температуре в темноте в течение 10-ти минут планшеты для микротитрования анализируют в люцинометре (Trilux производства Wallace). Время измерения каждой ячейки планшеты для микротитрования составляет 1 сек.

Оценка:

Необработанные данные люцинометра переносят в файл Microsoft Excel. Графики эффекта дозы и значения EC₅₀ PPAR-агонистов вычисляют при помощи программы XL.Fit согласно описанию производителя (IDBS).

Измеряют значения EC₅₀ PPAR-дельта в диапазоне от 1 нМ до >10 мкМ для модуляторов PPAR, приведенных в примерах данной заявки. Соединения с формулой I, составляющие предмет данного изобретения, могут выполнять функцию агонистов или антагонистов. Ниже описан анализ для определения парциальной агонистической или антагонистической активности.

Определение эффективности парциальных агонистов или антагонистов на рецепторе PPAR-дельта

Данный анализ позволяет определить, действуют ли соединения в качестве

парциальных агонистов или антагонистов на рецепторе PPAR-дельта.

Культивирование и сбор клеток в аналитических планшетах описаны в разделах «День 1» и «День 3» выше.

День 2

5 Парциальный агонист или антагонист и известный селективный агонист разбавляют в DMEM (#41965-039, Invitrogen), которую смешивают с 10% cs-FCS (#SH-30068.03, Nyclone), 2 mM L-глутамина (#25030-024, Invitrogen) и описанных ранее антибиотиков (зеоцина, G418, пенициллина и стрептомицина) до 20-кратной искомой
10 конечной концентрации. В аналитический планшет с клетками добавляют десять микролитров парциального агониста или антагониста. Аналитические планшеты инкубируют в инкубаторе при 37°C и 5% CO₂ в течение 30-ти минут. Затем после предварительной инкубации парциального агониста или антагониста добавляют
15 десять микролитров известных селективных агонистов в 20-кратной концентрации. Аналитические планшеты инкубируют в инкубаторе при 37°C и 5% CO₂ в течение 24-х часов. Определяют эффект известных селективных агонистов EC₅₀ для каждой концентрации селективного агониста или антагониста.

Анализ связывания SPA PPAR дельта-LBD

20

Исходные растворы:

1 M Tris (pH 8,0 или pH 7,6) (Gene Medicine Stock Room)

2 M KCl (порошок в N2140)

Tween 20

25

100 mM DTT

13,9 мкМ GW2331 в EtOH ГОРЯЧИЙ

10 мМ GW2331 в ДМСО ХОЛОДНЫЙ

PPAR-альфа (концентрация варьируется)

Ех: 0,884 мкг/мкл

30

Промывной буфер: (Хранить при 4°C. Срок годности буфера одна неделя.)

10 mM Tris (pH 7,6 или 8) 10 мл

50 mM KCl 25 мл

0,05 % Tween 20 0,5 мл

35

Вода, очищенная на установке Millipore 964.5

Проверка pH 7,6

Связывающий буфер: (Каждый раз готовьте свежий связывающий буфер.)

Промывной буфер 50 мл

10 mM DTT 5,5 мл

40

Получение реакционных реагентов для 1 планшета:

Покрытые глутатионом SPA-гранулы

Каждый флакон с SPA-гранулами содержит 500 мг гранул.

45 Растворите 500 мг SPA-гранул в 5 мл водного буфера, и он сохраняет свою пригодность для использования в течение нескольких недель.

Храните при 4°C.

Получение разбавленных SPA-гранул в связывающем буфере.

Добавление 1 мл растворенных SPA-гранул в 60 мл связывающего буфера.

Добавление 20 мкл растворенных гранул в каждую ячейку 96-ячеечного планшета.

50

Применение 2 мл растворенных гранул для каждого планшета (без учета мертвого объема).

3Н-GW2331 плюс GST-PPAR дельта-LBD (для одного 96-ячеечного планшета без мертвого объема) 13,9 мМ 40 нМ на ячейку

3,0 мл на планшет (с учетом мертвого объема)

Если удельная активность 3H-GW2331 составляет 1 мкКи/мл (производство Amersham), разбавляют 17 мкл 3H-GW2331 в 3,0 мл связывающего буфера = 0,08 мкМ.

5 Если концентрация белка составляет 1 мг/мл, добавляют 21 мкл белков в 3,0 мл связывающего буфера.

В заключение: ОДИН 96-ячеечный планшет: 3000 мкл связывающего буфера + 17 мкл 3H-GW2331 + 21 мкл GST-PPAR-дельта (1 мг/мл).

10 Контрольные планшеты

96-ячеечный материнский планшет (для 2-х контрольных планшетов)

В колонке №1:

Добавление 5 мкл холодного GW2331 (10 мМ) в ячейки E-H.

Добавление 45 мкл ДМСО в ячейки A-H.

15 В колонке №12 (3-кратное разбавление):

Добавление 10 мкл холодного GW2331(10 мМ) в ячейку A.

Затем добавляют 90 мкл ДМСО в ячейку A и хорошо перемешивают раствор.

Добавляют 20 мкл ДМСО в ячейки B-H.

20 Берут 10 мкл раствора из ячеек A и B и хорошо перемешивают,

затем берут 10 мкл раствора из ячеек от B до C и хорошо перемешивают,

затем берут 10 мкл раствора из ячеек от C до D и хорошо перемешивают.

.....

Наконец, берут 10 мкл раствора из ячеек от F до H.

25 Контрольный планшет (для 8-ми реакционных планшетов)

В контрольном планшете содержится раствор материнского планшета, разбавленный 1:10. Буфером разбавления является промывочный буфер.

Планшеты с образцами

30 В свежий планшет библиотеки СРС добавляют 90 мкл ДМСО.

Берут 10 мкл раствора, разбавленного ДМСО, и добавляют его в 90 мкл промывочного буфера в планшет с образцом.

Реакционные планшеты:

35 Добавляют 20 мкл гранул полиакрилата натрия и 30 мкл 3H-GW2331 с GST-PPAR-дельта в каждую лунку реакционного планшета.

Добавляют 5 мкл соединений из каждой лунки планшета с образцом в колонки с 2 по 11 реакционного планшета.

40 Добавляют 5 мкл соединений из колонки 1 и колонки 12 контрольного планшета в колонку 1 и колонку 12 реакционного планшета.

Протокол для 96-ячеечного планшета анализа SPA:

Дожидаются равновесия в реакционных планшетах - это займет от 20-ти минут до 2-х часов.

45 Планшеты запечатывают, прежде чем проводить подсчет в цитометре Microbeta (Wallac).

Вычисление IC₅₀.

50 В анализе связывания SPA PPAR дельта-LBD для модуляторов PPAR, приведенных в примерах данной заявки, были измерены величины IC₅₀ в диапазоне от 1 нМ до >10 мкМ. Соединения с формулой I, составляющие предмет данного изобретения, могут выполнять функцию агонистов или антагонистов.

Культуры олигодентроцитов КРЫС/МЫШЕЙ

Подготовка клеток:

1. Первичные клетки-предшественники олигодендроцитов получают из коры головного мозга новорожденных (2-3 постнатальных дня) крыс или мышей после удаления микроглий посредством механического отделения сепарированием от астроцитного монослоя при помощи модифицированного метода, впервые

2. Удаляют мягкие мозговые оболочки из мозга новорожденной крысы и механически отделяют ткань. Помещают клетки в колбы T75 и добавляют питательную среду для клеток DMEM/F12 + 10% FBS.

3. Собирают олигодендроциты, растущие на астроцитовой подложке, методом стряхивания через четырнадцать дней после исходного приготовления. Центрифугируют суспензию и снова взвешивают клеточный осадок в не содержащей сыворотки среде (SFM; DMEM, смешанной с 25 мкг/мл переносимого вещества, 30 нМ триодотиронина, 20 нМ гидрокортизона, 20 нМ прогестерона, 10 нМ биотина, 1х следовых элементов, 30 нМ селена, 1 мкг/мл путресцина, 0,1% бычьего сывороточного альбумина, 5 ед./мл PenStrep, 10 мкг/мл инсулина) с добавлением следующих факторов роста: Тромбоцитарный фактор роста-AA (PDGF) и фактор роста фибропластов-2 (FGF). Помещают клетки в чашки, покрытые PDL (поли-D-лизин), и инкубируют при 37°C с 6-7% CO₂. Компоненты среды заменяют каждые 48 часов, чтобы сохранить клетки-предшественники.

Пассерование клеток-предшественников для увеличения числа клеток для скринингового анализа:

1. Когда культура станет конфлюэнтной, промывают ее физиологическим раствором с PBS буфером, добавляют трипсин и инкубируют в течение ~2-3 минут при 37°C.

2. Нейтрализуют и центрифугируют суспензию клеток при 900 g в течение 5 минут.

3. Ресуспендируют клеточный осадок в SFM + PDGF/FGF.

4. Добавляют питание клеткам со свежими факторами роста каждые 48 часов, чтобы поддерживать их в обогащенном состоянии для быстрого деления клеток-предшественников.

5. Клетки пассеруют не более 4-5 раз перед экспериментальным анализом.

6. Все эксперименты с клетками-предшественниками олигодендроцитов выполнялись с клетками, которые постоянно поддерживались в этих условиях. Более 95% всех клеток были A2B5-иммунопозитивными и экспрессировали мРНК 2'3'-циклической нуклеотидной 3'-фосфодиэстеразы II.

7. Для генерации зрелых олигодендроцитов через 24 часа после помещения клеток-предшественников в планшеты их перемещали в свободную от сыворотки среду с добавлением инсулинового фактора роста IGF-I или без него и выращивали в этих условиях в течение 7-ми дней перед экспериментальным анализом.

8. В качестве альтернативы могут использоваться обогащенные линии клеток-предшественников Central Glia-4 (CG4) крыс, которые сохраняются в основной среде (DMEM с 2 mM глутамина, 1 mM пирувата натрия, биотином (40 нМ), инсулином (1 мкМ) и N1) с добавлением 30% кондиционированной среды из линии клеток нейробластомы B-104. Чтобы индуцировать дифференцировку, клетки CG4 помещают в основную среду с 1% фетальной телячьей сыворотки (удаляемой через 2 дня) и инсулином (500 нМ). Для подтверждения обогащения >95% в зрелых и незрелых культурах используется иммунореактивность A2B5 и ОБМ (основной белок миелина) соответственно.

Обработка соединением культуры крыс/мышей:

1. Помещают 10000-15000 клеток на ячейку в 24-ячеечные планшеты, покрытые PDL, и культивируют клетки в присутствии митогена (10 нг/мл) в течение ночи.

2. В присутствии митогена:

а. На следующий день убирают старую среду и добавляют соединения в свежую среду (с митогеном).

б. Оценки эффекта дозы соединений выполняются при 6-ти разных концентрациях (10 мкМ, 1 мкМ, 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ и 0,1 нМ).

с. Для каждой концентрации соединения оценка выполняется на трех ячейках.

3. В отсутствие митогена:

а. На следующий день убирают старую среду и добавляют соединения в свежую среду (без митогена).

б. Оценки эффекта дозы соединений выполняются при 6-ти концентрациях (10 мкМ, 1 мкМ, 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ и 0,1 нМ).

с. Для каждой концентрации соединения оценка выполняется на трех ячейках.

4. Культивируют обработанные клетки в течение 7-ми дней перед их использованием в экспериментальном анализе.

Культуры олигодендроцитов ЧЕЛОВЕКА

Приготовление клеток:

1. Нейросферы человека, взятые из кортекса эмбриона человека E19.5 - E22 культивируют в течение 2-х недель в среде клеток-предшественников: DMEM/F12, содержащей 100 мг/мл переносимого вещества, 30 нМ триодотиронина, 20 нМ гидрокортизона, 20 нМ прогестерона, 10 нМ биотина, 1х следовых элементов, 30 нМ селена, 60 мкМ путресцина, 0,1% бычьего сывороточного альбумина, 5 ед./мл PenStrep, 25 мкг/мл инсулина) с добавлением PDGF и FGF фактор роста фибропластов.

2. Нейросферы диссоциировали при помощи 20 ед./мл папаина при 37°C в течение 30-50 минут.

3. Клетки высевали в чашки с PDL-покрытием при плотности 50 000-100 000 клеток на ячейку в среде клеток-предшественников, содержащей PDGF/FGF и инкубируемой при 37°C с 5-6% CO₂.

4. Среда и факторы роста добавлялись каждые 48 часов.

Обработка соединением культур человека:

1. Через 24-48 часов после помещения в планшет убирают старую среду и добавляют соединения в свежую среду (с митогеном).

2. Оценки эффекта дозы соединений выполняются при 3-6 разных концентрациях (10 мкМ, 1 мкМ, 100 нМ, 10 нМ, 1 нМ и 0,1 нМ).

3. Для каждой концентрации соединения оценка выполняется на трех ячейках.

5. Культивируют обработанные клетки в течение 7-ми дней перед их использованием в экспериментальном анализе.

Удельное иммунное окрашивание олигодендроцитов

КРЫСЫ/МЫШИ/ЧЕЛОВЕКА:

После обработки соединением олигодендроцит-специфические антитела используются, чтобы оценить способность соединения ускорять или способствовать дифференциации олигодендроцитов (например, иммунореактивность O4, O1 или основного миелинового белка чрез некоторое время после обработки соединением находится между обработанными и необработанными культурами).

1. Клетки помещают на обработанные поли-D-лизином 4-ячеечные камерные планшеты при плотности от 5×10^3 до 20×10^3 клеток на ячейку и выращиваются, как

описано выше. Последующее окрашивание выполняется на популяциях олигодендроцитов с нарастающей скоростью дифференциации клеток, как описано по дням «in vitro» без PDGF и FGF.

2. Для определения стадийспецифической экспрессии маркера поверхности клеток олигодендроцитов (в том числе A2B5, O4, и O1) используется окрашивание живых клеток в течение 30-ти минут при 37°C.

3. Потом клетки фиксируют 4% параформальдегидом в течение 10-ти минут при комнатной температуре.

4. Процедура окрашивания фиксированных клеток используется для определения стадийспецифической экспрессии маркера олигодендроцитов (в том числе основного миелинового белка, ОБМ).

5. Промывают буфером PBS.

6. Пермеабелизируют с 0,1% Triton/0,01% NaAz разбавленного в 1X буфере PBS в течение 10 минут при комнатной температуре.

7. Блокируют 5-10% козьей сыворотки в буфере разбавления антител (0,1% Triton-X 100 и 1% альбумина бычьей сыворотки, не содержащей IgG; также используется для разбавления антител) в течение 15-ти минут при комнатной температуре.

8. Добавляют первичное антитело, разбавленное в буфере разбавления антител.

9. Инкубируют в течение ночи при плавном покачивании при 4°C.

10. На следующий день промывают буфером PBS 1X в течение 5-ти минут, а затем 3X в течение 15-ти минут каждым при комнатной температуре.

11. Инкубируют с подходящими вторичными антителами в течение 45-ти минут при комнатной температуре.

12. Ядра клеток окрашивают 4,6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI) в течение 15-ти минут при комнатной температуре.

13. Промывают несколько раз буфером PBS и исследовать при помощи флуоресцентной микроскопии.

14. По времени и при разных дозах соединения сопоставляют следующие условия: только PDGF/FGF, только SFM, только SFM-IGF1, PDGF/FGF и соединение, SFM и соединение.

Иммунное окрашивание бромдезоксисуридина (БДУ)

КРЫСЫ/МЫШИ/ЧЕЛОВЕКА:

Для того чтобы убедиться, что соединения не способствуют пролиферации клеток

1. Клетки-предшественники олигодендроцитов маркируют 10 мкМ БДУ в течение 20 часов, а затем фиксируют при помощи либо 70% этанола, либо 4% параформальдегида.

2. Клетки последовательно инкубируют биотинилированным анти-БДУ мышей и стрептавидин-пероксидазой с тремя промежуточными промывками PBS буфером.

3. Колориметрическая визуализация иммунореактивности БДУ проводится при помощи DAB (диаминобензидин) и оценивается полное количество клеток при помощи контрастирующего гематоксилина.

4. Подсчет БДУ-иммунопозитивных клеток проводят два независимых исследователя.

Анализ изображения культуры КРЫСЫ/МЫШИ/ЧЕЛОВЕКА: Для количественной оценки степени дифференциации олигодендроцитов после их обработки соединением используют флуоресцентную микроскопию. Этот анализ показывает, что селективные агонисты ускоряют или благоприятствуют дифференциации олигодендроцитов.

1. Ручной подсчет клеток: Для каждого экспериментального условия выбирают четыре произвольных поля и в каждой области насчитывают 500-600 клеток. Процентное содержание ОБМ (или О4) иммунопозитивных клеток (зрелые клетки, в которых протекает процесс с миелиновыми листами или без них) в зависимости от DAPI-позитивных клеток (полного количества клеток) сравнивают в контрольных и обработанных лекарственным препаратом группах.

2. Автоматический подсчет клеток: Для количественной оценки степени дифференциации олигодендроцитов после их обработки соединением используют флуоресцентную микроскопию. Для оценки количества дифференцирующих олигодендроцитов на всю популяцию (подсчитывается от ~8 до 15×10^3 клеток на ячейку) произвольно выбирались шесть областей/ячеек. Изображения иммунофлуоресценции получали при помощи системы формирования цифровых изображений Zeiss AxioVision с охлаждаемой ПЗС камерой Zeiss AxioCam HRC, подключенной к тому же самому микроскопу. Все параметры формирования микроскопического изображения были установлены с учетом того, что изображения будут использоваться для анализа интенсивности иммунофлуоресценции клеток. Процентное содержание ОБМ-позитивных (дифференцированных) клеток по отношению к полному количеству клеток (ядрами, окрашенными DAPI) сравнивали в контрольной и обработанной лекарственным препаратом группах. В условиях формирования изображений зарегистрировать автофлуоресценцию было невозможно.

3. Анализ дифференциации олигодендроцитов человека: ручной подсчет полного количества О4 иммунопозитивных клеток на ячейку (биполярных и многополярных).

Результаты для культур олигодендроцитов крыс приведены в таблице. Как видно из результатов, соединения настоящего изобретения повышают или ускоряют дифференциацию олигодендроцитов крыс, что измерено по повышенной экспрессии основного миелинового белка по сравнению с необработанными контрольными образцами. Этот результат указывает на то, что примеры соединений, приведенные в таблице, должны улучшать, ускорять или стимулировать дифференциацию олигодендроцитов и образование миелина «in vivo» в больной или поврежденной ЦНС, в том числе в случае рассеянного склероза и других демиелинизирующих заболеваний.

Результаты для соединений в анализе дифференциации первичных олигодендроцитов крыс	
№ примера	Коэффициент роста экспрессии основного миелинового белка в анализе дифференциации олигодендроцитов (концентрация в мкМ)
10	в 1,5 раза (10)
14	в 1,5 раза (1)
23	в 2 раза (1)
31	в 2 раза (1)

Количественный анализ полимеразной цепной реакции (ПЦР)

КРЫСЫ/МЫШИ/ЧЕЛОВЕКА: Чтобы оценить вызванную соединением активацию пути PPAR-дельта и степень зрелости олигодендроцитов (изменения в уровнях мРНК).

1. Вся РНК экстрагируется из культивированных олигодендроцитов при помощи реагента TriZol.

2. Затем мРНК обрабатывают ДНКазой, не содержащей РНКазы, снова чистят, а затем превращают в матрицу кДНК при помощи реакции обратной транскрипции (набор Clontech Advantage RT for PCR).

3. Экспрессию транскрипта члена пути PPAR-дельта количественно оценивают при помощи Sybr Green PCR Master Mix.

4. Смесь праймера и зонда рибосомной РНК 18S RNA (186 пар оснований), взвешенную в Taqman 2X PCR Master Mix, используют для внутреннего контроля.

5. Количественная ПЦР проводится при помощи технологии реального времени Taqman™ (Gibson, et al., 1996) на модели 7700 Sequence Detector System (Applied Biosystems, Foster City, CA).

6. Результаты анализируют при помощи программного обеспечения Sequence Detection Systems версии 1.91.

10 Твердофазный иммуоферментный анализ культур КРЫС: Чтобы оценить вызванную соединением активацию пути PPAR-дельта и степень зрелости олигодендроцитов (изменения в уровнях белка).

1. Планшеты промывают буфером PBS, а затем хранят на льду. Добавляют 200 мкл ледяного лизирующего буфера (Tris 50 мМ, pH 7,4, MgCl₂ мМ, EDTA 1 мМ, β-меркаптоэтанол 5 мМ, Nonidet P-40 1%, коктейль ингибиторов протеазы (Roche): 1 таблетка/50 мл) в каждую ячейку.

2. Клетки лизируют, прокачивая пипеткой, и вращают планшеты со скоростью 2000 об/мин при 4°C в течение 5-ти минут. Супернатант готов к использованию.

3. Пипеткой помещают в ячейки 50 мкл стандарта, контрольного раствора и образцов.

4. В каждую ячейку добавляют 50 мкл аналитического буфера основного миелинового белка.

5. Инкубируют ячейку, встряхивая ее при 500-700 об/мин на ротационном микропланшетном шейкере в течение 2-х часов при комнатной температуре.

6. Добавляют в каждую ячейку 100 мкл конъюгата антитела основного миелинового белка ОБМ с биотином.

7. Инкубируют ячейку, встряхивая ее при 500-700 об/мин на ротационном микропланшетном шейкере в течение 1-го часа при комнатной температуре.

8. 5-кратно промывают ячейку промывным раствором. Вытрите планшет досуха, переворачивая его на абсорбирующем материале.

9. Разбавляют концентрат конъюгата стрептавидина и фермента 1:50 аналитическим буфером ОБМ ИФА (разбавить необходимо непосредственно перед использованием в анализе).

10. Добавляют 100 мкл раствора конъюгата стрептавидина и фермента в каждую ячейку.

11. Инкубируют ячейку, встряхивая ее при 500-700 об/мин на ротационном микропланшетном шейкере в течение 30-ти минут при комнатной температуре.

12. 5-кратно промывают ячейку промывным раствором. Промокаивают планшет досуха, переворачивая его на абсорбирующий материал.

13. Добавляют 100 мкл раствора хромогена -ТМБ в каждую лунку.

14. Инкубируют ячейку, встряхивая ее при 500-700 об/мин на ротационном микропланшетном шейкере в течение 10-20 минут при комнатной температуре. Не допускать воздействия прямого солнечного света.

15. Добавляют 100 мкл стоп-раствора в каждую лунку.

Измеряют поглощение раствора в лунках в течение 30-ти минут при помощи микропланшетного аппарата для чтения, установленного на 450 нМ.

50 In vivo анализ на общей модели

Местные поражения: (используется для оценки способности соединений защищать миелиновую целостность и ускорять или повышать скорость ремиелинизации)

1. Крысам в возрасте 7 недель дают свободный доступ к пище и воде, и они

акклиматизируются в течение минимум 4-х дней перед их использованием в эксперименте.

2. Перед операцией каждое животное взвешивают. Затем крысу подвергают анестезии кетамин (100 мг/мл) в сочетании с ксилазином (20 мг/мл) в отношении 1,8:

1. Перед операцией крысам вводят в/б 0,15 мл/180 г веса тела анестезирующего раствора. Животных готовят к операции в асептических условиях в соответствии с руководящими принципами IACUC. Все хирургические инструменты автоклавируются. Волосы между ушами состригают и эту область чистят раствором Betadine, промывают стерильным физиологическим раствором и, наконец, протирают спиртовыми тампонами в стерильной упаковке.

3. Для проведения операции крысу кладут на брюшную поверхность в небольшом стереотаксическом устройстве для животных, предназначенном для устойчивого удержания головы. Резцовая дуга устанавливается на -3,9 мм, так как было показано, что это помогает установить плоское положение черепа крыс SD.

4. Разрез делается по предварительно обритой коже, покрывающей череп между ушами.

5. Небольшая область кости (0,75 мм в диаметре) просверливается в следующих координатах: AP -1,8, ML -3,1 от лямбда.

6. Кость убирают и крысе инжестируют 2 мкл этидий бромида, лизолецитина или SIN-1 в правую каудальную мозжечковую ножку, DV -7,1 мм, в течение 2-х минут микролитровым шприцом и иглой Hamilton. В качестве альтернативы инъекцию можно делать в спинной мозг, мозолистое тело или кору головного мозга.

7. Игла остается в этом положении в течение следующих 2-х минут.

8. После вынимания иглы на разрез накладывают шов.

9. Каждая крыса получает в/м инъекцию 0,003 мг бупренорфина в заднюю конечность.

10. Крысу помещают в тепловой шкаф до тех пор, пока она не придет в сознание. Тогда ее возвращают в клетку. Не допускайте, чтобы в клетке находилось более двух крыс, поскольку они могут повредить друг другу швы.

11. Аналогичные процедуры выполняются и с мышами.

Модель экспериментального аллергического энцефаломиелита крыс (ЭАЭ крыс):

Экспериментальный аллергический энцефаломиелит (ЭАЭ) - это аутоиммунное заболевание нервной системы, опосредованное Т-клетками, которое развивается у восприимчивых животных после сенсибилизации либо клеточным гомогенатом спинного мозга, либо одной из компонент (основной миелиновый белок). Модель ЭАЭ грызунов является подходящим средством изучения воспаления головного и спинного мозга, наблюдаемого у пациентов, страдающих рассеянным склерозом. У грызунов инъекция спинного мозга или компонентов спинного мозга, таких как основной миелиновый белок, вызывает аутоиммунную реакцию, основанную на активации Т-лимфоцитов. Клиническое заболевание, как правило, проявляется примерно через 8-10 дней после инокуляции и наблюдается в виде широкого спектра аномалий поведения, от слабых нарушений походки и атонии хвоста до полного паралича и смерти. Как правило, происходит потеря веса. У выживших животных происходит спонтанное выздоровление, сопровождаемое восстановлением большинства двигательных функций. В зависимости от вида, аллергена и используемых методов животные, исследованные по модели ЭАЭ, могут испытывать один (острый ЭАЭ) или несколько (хронический рецидивирующий ЭАЭ) приступов. Можно использовать несколько подходов к лечению. Выбранное лекарство или

способ лечения можно применить до иммунизации, во время бессимптомного периода или во время клинического заболевания.

Животные:

Самки мышей Льюиса 160-220 г (Charles River)

Антиген:

Цельный спинной мозг морской свинки (Harlan Biosciences).

Полный адьювант Фрейнда H37 Ra [1 мг/мл туберкулезной бациллы Mycobacterium Tuberculosis H37 Ra] (Difco).

Дополнительный антиген:

Туберкулезная бацилла (Difco).

Бордетеллы коклюша [убитые нагреванием] (Difco).

Подготовка антигена: (примерно на 720 животных):

1. Взвешивают 5 граммов замороженного спинного мозга морских свинок.
2. Добавляют 5 г спинного мозга в 5 мл 0,9% физиологического раствора (1 г/мл) в круглодонной центрифужной пробирке.

3. Гомогенизируют на льду при помощи Tissue-tech до полного разрушения ткани (примерно 5 минут).

4. Добавляют 10 мл полного адьюванта Фрейнда H37 Ra, дополненного 200 мг туберкулезной бациллы (20 мг/мл полного адьюванта Фрейнда H37 Ra).

5. Экстрагируют гомогенат/адьювант из пробирки, отсасывая его в 10-мл шприц с эмульгирующей иглой 18 размера.

6. Эмульгируют между двумя 30 мл стеклянными шприцами, пока не возникнут трудности отбора материала через иглу. (Примерно 5 минут {не должно быть никакого разделения между жировой и водной фазой}.)

7. Используют немедленно либо хранят на льду, пока не потребуются (не более 30 минут) (не замораживать).

Протокол

1. Самкам крыс Льюиса (Charles River) дают свободный доступ к пище и воде, и они акклиматизируются не менее 3-х дней перед использованием в экспериментах.

2. Крысы весом 160 и 220 граммов сначала индуцируются 5% изофлураном (Aetgane, Fort Dodge), 30% O₂, 70% N₂O в течение 2-5 минут.

3. Затем крысу помещают на одеяло с обогревом циркулирующей водой (Gaymar) (дорсальной поверхностью вверх) и в носовой конус для самопроизвольного вдыхания анестезирующих газов. Концентрацию изофлурана снижают до 2%.

4. Делают две подкожные инъекции (0,1 мл каждая) антигена или нормального физиологического раствора в вентральную поверхность задних лап.

5. Животных убирают из носового конуса, взвешивают и нумеруют.

6. Крысам дают возможность выйти из наркоза, а затем помещают их в отдельные клетки.

7. Животных ежедневно наблюдают на предмет индукции ЭАЭ (см. критерии ниже).

СТАДИЯ 0: НОРМА.

СТАДИЯ 1: Патологическое поведение и атония хвоста.

СТАДИЯ 2: Небольшая, но определенная слабость одной или обеих задних лап.

СТАДИЯ 3: Ярко выраженная слабость одной или обеих задних лап или легкая атаксия.

СТАДИЯ 4: Тяжелый парепарез и минимальная подвижность задних лап.

СТАДИЯ 5: Отсутствие движений задних лап и паралич нижней части тела.

СТАДИЯ 6: Предсмертное состояние без спонтанных движений и с нарушенным

дыханием.

Также наблюдается растущая степень поражения передних лап и мочевого и фекальное недержание.

СТАДИЯ 7: СМЕРТЬ.

5 Лечению было начато на 10-й день после иммунизации. Так как симптомы заболевания в этой модели проявляются, как правило, через 10-11 дней после инокуляции, можно считать, что этот момент представляет начальную фазу острого периода рассеянного склероза. Считается, что эта задержка начала лечения более
10 точно моделирует клиническую ситуацию, чем традиционно используемые протоколы, когда лекарство применяется в момент инокуляции или даже до нее (Teitelbaum D. et al., Proc Natl Acad Sci USA 1999; 96: 3842-3847 и Brod S. A., et al., Ann Neurol 2000; 47: 127-131).

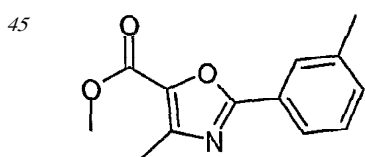
15 Настоящее изобретение далее иллюстрируется следующими примерами соединений, которые приводятся для целей пояснения и никоим образом не ограничивают сферу охвата настоящего изобретения.

Примеры синтеза

Общая информация

20 Коммерчески доступные реагенты и растворители использовались без предварительной обработки. Спектры ¹H ЯМР записывались на спектрометре Varian MercuryPlus-300 (300 МГц) или Varian Unity Inova (400 МГц), как указано в тексте. Протонные химические сдвиги приведены в δ мд относительно внутреннего стандарта тетраметилсилана (0,0 мд). Данные масс-спектрометрии (ЖХМС) получены с
25 помощью времяпролетного масс-спектрометра Micromass LCT с ионизацией электрораспылением и временем измерения 5 минут для m/z от 100 до 1000. ЖХ (ЖХМС) проводится на колонке Hypersil C18 (4,6×50 мм, 3,5 мкм) с подвижной фазой 0,1 % TFA в H₂O (A) и 0,1% TFA в ACN (B) и градиентом от 5% до 100% B в
30 течение 3-х минут, а затем 2-х минут при 100% B. В качестве альтернативы может использоваться Platform LC-MS с электрораспылительным источником с системой HP1100 LC, работающей при 2,0 мл/мин, 200 мкл/мин, состоящей из источника ионизации электрораспылением со встроенным детектором HP1100 DAD и
35 детектором SEDEX ELS. Используется колонка Luna C18(2) (30×4,6 мм 3 мкм) с градиентом от 5% до 95% B в течение 4,5 минут с подвижной фазой 0,1% муравьиной кислоты в H₂O и 0,1% муравьиной кислоты в ACN (B). Очистка ВЭЖХ выполняется на системе Varian ProStar при помощи колонки для обращеннофазовой хроматографии C18 с линейным градиентом ACN/H₂O, содержащим 0,1%
40 трифторуксусной кислоты. Микроволновой синтез выполнялся при помощи микроволновой реакционной системы Personal Chemistry Smithcreator с двумя реакторами с объемами 2 или 5 мл.

Пример 1



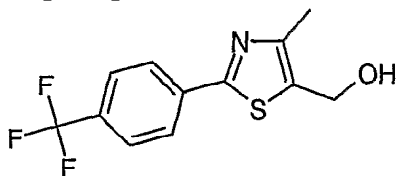
50 Промежуточное соединение: метиловый эфир 4-метил-2-м-толил-оксазол-5-карбоновой кислоты

Чистую смесь метил-2-хлорацетацетата (914 мл, 7,5 ммоль) и 3-метилбензамида (676 мг, 5 ммоль) нагревают до 120°C и перемешивают при этой

температуре в течение 12 часов. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и разбавляют этилацетатом, промывают насыщенным раствором бикарбоната натрия (3 раза), водой (два раза) и соевым раствором, органический экстракт высушивают $MgSO_4$ и концентрируют. Получившийся остаток очищают

5 флэш-хроматографией (элюент 10% этилацетат в гептане) с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого масла (492 мг).

Пример 2



Промежуточное соединение: [4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил]метанол

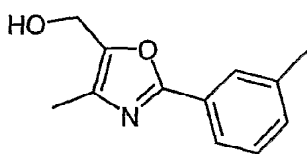
15 Раствор алюмогидрида лития (10 мл, 1 М в ТГФ) охлаждают (0°C) и добавляют раствор 4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-карбоновой кислоты (коммерчески доступна, 2,87 г, 10 ммоль) в ТГФ (20 мл). После добавления убирают холодную баню и перемешивают в течение 3,5 часов. Раствор охлаждают до 5°C, а затем по каплям

20 добавляют воду (0,25 мл), затем добавляют раствор NaOH (0,25 мл, 5 М в воде) и воду (0,5 мл). Получившуюся смесь разбавляют этилацетатом, а затем отфильтровывают через слой целита. Промывают твердые частицы дихлорметаном, а затем концентрируют объединенные фильтры при пониженном давлении с

25 получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества (2,59 г).

Масс-спектрокопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 274 (M+H); ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 1,87 (ушир., 1H), 2,49 (с, 3H), 4,86 (с, 2H), 7,67 (д, J=8 Гц, 2H), 8,02 (д, J=8 Гц, 2H).

Пример 3

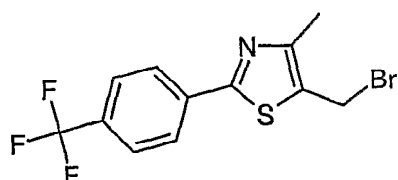


Промежуточное соединение: [4-метил-2-*m*-толилоксазол-5-ил]метанол

35 Повторяют пример 2, но с использованием соединения примера 1 в качестве исходного вещества для получения указанного в заголовке соединения.

40 Масс-спектрокопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 204 (M+H); ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,25 (с, 3H), 2,40 (т, J=7 Гц, 1H), 2,42 (с, 3H), 4,70 (д, J=7 Гц, 2H), 7,25-7,36 (м, 2H), 7,75-7,85 (м, 2H).

Пример 4



Промежуточное соединение: 5-бромметил-4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол

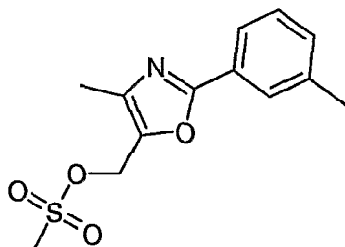
50 Охлаждают (10°C) раствор [4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил]метанола (пример 2, 753 мг, 3 ммоль) в ТГФ (12 мл), добавляют трифенилфосфин (864 мг, 3,3 ммоль), а затем

свежеперекристаллизованный *N*-бромсукцинимид (587 мг, 3,3 ммоль). После добавления убирают холодную баню и непрерывно перемешивают в течение 45-ти минут. Получившуюся смесь концентрируют под вакуумом и остаток очищают флэш-хроматографией (элюент смесь 10% этилацетата/10% дихлорметана в гептане) с

получением указанного в заголовке соединения в виде оранжевого твердого вещества (846 мг).

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 336,338 (M+H); ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,48 (с, 3H), 4,72 (с, 2H), 7,69 (д, J=8 Гц, 2H), 8,01 (д, J=8 Гц, 2H).

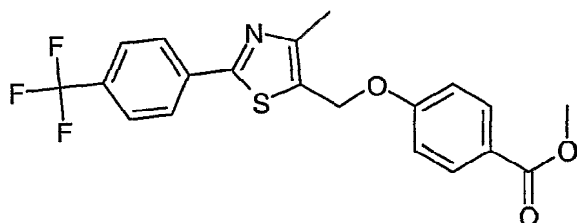
Пример 5



Промежуточное соединение: метиловый эфир метансульфоновой кислоты [2-(3-метилфенил)-4-метилоксазол-5-ил]

Охлаждают (0°C) раствор [2-(3-метилфенил)-4-метилоксазол-5-ил]метанола (пример 3, 756 мг, 4 ммоль) в дихлорметане (16 мл) и последовательно добавляют диметиламинопиридин DMAP (51 мг, 0,4 ммоль), триэтиламин (552 мкл, 4 ммоль) и метансульфонилхлорид (323 мкл, 4,2 ммоль). Получившийся раствор перемешивают в течение 5-ти минут, убирают охлаждающую баню и перемешивают в течение 25-ти минут. Полученный раствор разбавляют эфиром, промывают соляной кислотой (5 мл, 2 М), соляным раствором, высушивают над MgSO₄ и концентрируют с получением указанного в заголовке соединения (743 мг).

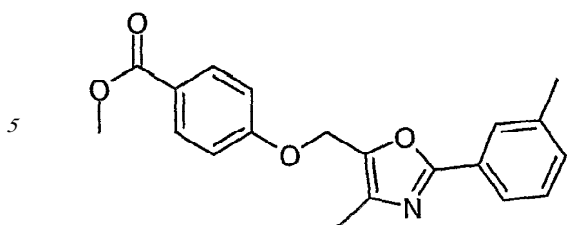
Пример 6



Промежуточное соединение: метиловый эфир 4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]бензойной кислоты

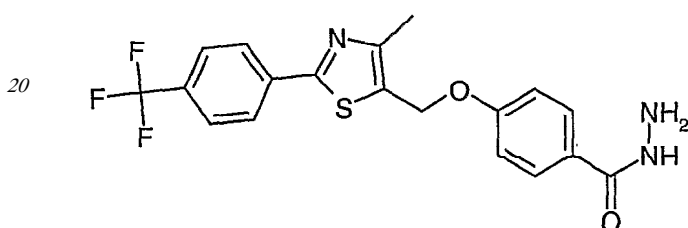
К смеси метилового эфира 4-гидроксибензойной кислоты (152 мг, 1 ммоль) и карбоната калия (152 мг, 1,1 ммоль) добавляют ацетонитрил (4 мл). К полученной смеси добавляют 5-бромметил-4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол (пример 4, 314 мг, 1 ммоль). Получившуюся реакционную смесь нагревают до 60°C и перемешивают при этой температуре в течение 5-ти часов. Смесь охлаждают до комнатной температуры, разбавляют этилацетатом, промывают водой, затем соляным раствором, высушивают над MgSO₄, отфильтровывают и концентрируют с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества (364 мг).

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 408 (M+H); ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,53 (с, 3H), 3,90 (с, 3H), 4,52 (с, 2H), 7,00 (д, J=9 Гц, 2H), 7,68 (д, J=8 Гц, 2H), 8,02 (м, 4H).

Пример 7Промежуточное соединение: метиловый эфир10 4-(4-метил-2-м-толилоксазол-5-илметокси)бензойной кислоты

Повторение примера 6, но с использованием соединения примера 5 в качестве исходного вещества для получения указанного соединения.

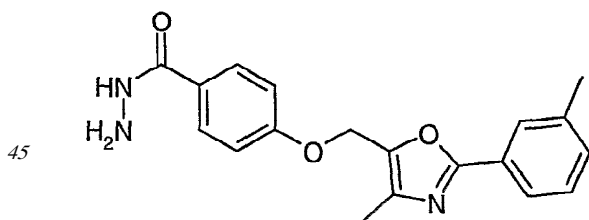
15 Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 338 (M+H); 1H ЯМР (CDCl₃) δ 2,30 (с, 3H), 2,41 (с, 3H), 3,90 (с, 3H), 5,11 (с, 2H), 7,03 (д, J=9 Гц, 2H), 7,25 (м, 1H), 7,33 (т, J=8 Гц, 1H), 7,81 (д, J=8 Гц, 1H) 7,87 (ушир.с., 1H) 8,02 (д, J=9 Гц, 2H).

Пример 825 Промежуточное соединение: гидразид

4-[4-метил-2(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]бензойной кислоты

К суспензии метилового эфира 4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]бензойной кислоты (пример 6, 364 мг, 1 ммоль) и метанола (10 мл) добавляют безводный гидразин (128 мл, 4 ммоль). Получившуюся смесь нагревают до 60°C и перемешивают при этой температуре в течение 18-ти часов. Получившийся раствор охлаждают до комнатной температуры и добавляют три капли воды. Раствор концентрируют под вакуумом, очищают флэш-хроматографией (элюент 5% метанол в дихлорметане) с получением 35 указанного в заголовке соединения (271 мг).

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 408 (M+H); 1H ЯМР (ДМСО) δ 2,51 (с, 3H), 4,4 (ушир.с., 2H), 5,42 (с, 2H) 7,10 (д, J=9 Гц, 2H), 7,82 (д, J=9 Гц, 2H), 7,85 (д, J=8 Гц, 2H) 8,12 (д, J=8 Гц, 2H) 9,63 (ушир.с., 1H).

40 Пример 9Промежуточное соединение: гидразид50 4-(4-метил-2-м-толилоксазол-5-илметокси)бензойной кислоты

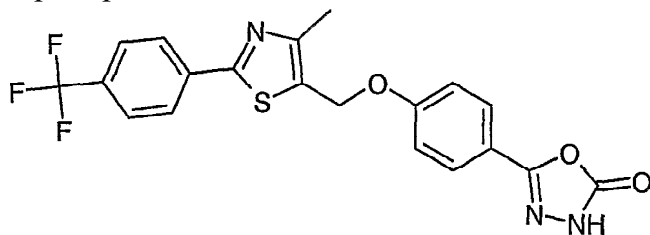
Повторение примера 8, но с использованием соединения примера 7 в качестве исходного вещества для получения указанного в заголовке соединения.

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 338 (M+H); 1H ЯМР

(ДМСО) δ 2,24 (с, 3H), 2,38 (с, 3H), 4,43 (ушир.с., 2H), 5,26 (с, 2H) 7,11 (д, J=9 Гц, 2H), 7,34 (д, J=8 Гц, 1H), 7,41 (т, J=8 Гц, 1H) 7,74-7,83 (м, 4H) 9,63 (ушир.с., 1H).

Пример 10

5



10

5-[4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]фенил]-3H-[1,3,4]оксадиазол-2-он

К суспензии гидразида

15

4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]бензойной кислоты (пример 8, 271 мг, 0,74 ммоль) в дихлорметане (7 мл) добавляют фенилхлорформат (94 мкл, 0,75 ммоль), а затем пиридин (132 мкл, 1,63 ммоль). Получившуюся смесь перемешивают при комнатной температуре, пока не будет израсходовано все исходное вещество (по анализу ТСХ). Смесь концентрируют, далее остаток добавляют в ацетонитрил (10 мл). К полученной смеси добавляют DBU (220 мкл, 1,5 ммоль). Получившийся раствор плотно закрывают; нагревают его до 180°C в микроволновой печи Personal Chemistry™ и перемешивают при этой температуре в течение 15-ти минут. Реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры, разбавляют этилацетатом, промывают раствором 1 М HCl (или насыщенным раствором NaH₂PO₄), высушивают над MgSO₄ и концентрируют. Получившийся остаток растирают несколько раз с дихлорметаном с получением указанного в заголовке соединения в виде желтовато-коричневого твердого вещества (69 мг).

20

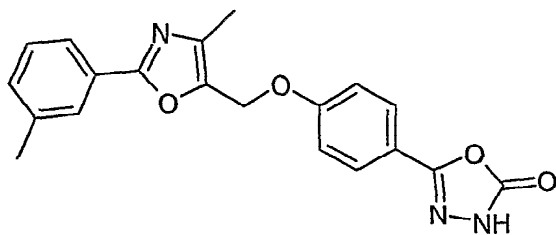
25

30

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 365 (M+H); ¹H ЯМР (ДМСО) δ 2,51 (с, 3H), 4,4 (ушир.с., 2H), 5,42 (с, 2H) 7,10 (д, J=9 Гц, 2H), 7,82 (д, J=9 Гц, 2H), 7,85 (д, J=8 Гц, 2H) 8,12 (д, J=8 Гц, 2H) 9,63 (ушир.с., 1H).

Пример 11

35



40

5-[4-(4-метил-2-м-толилоксазол-5-илметокси)фенил]-3H-[1,3,4]оксадиазол-2-он.

Повторение примера 10, но с использованием соединения примера 9 в качестве исходного вещества для получения указанного в заголовке соединения.

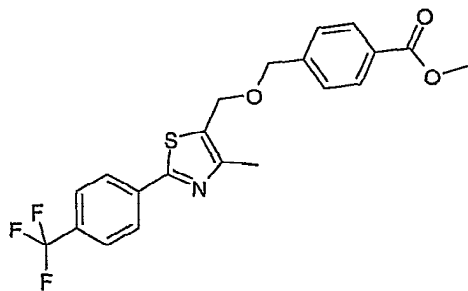
45

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 364 (M+H); ¹H ЯМР (ДМСО) δ 2,25 (с, 3H), 2,38 (с, 3H), 5,30 (с, 2H) 7,23 (д, J=9 Гц, 2H), 7,34 (д, J=8 Гц, 1H), 7,41 (т, J=8 Гц, 1H) 7,75-7,79 (м, 4H) 12,44 (ушир.с, 1H).

Пример 12

50

5

10 Промежуточное соединение: метиловый эфир4-((4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил)метоксиметил]бензойной кислоты

Суспензию NaH (84 мг, 60% дисперсия в минеральном масле, 2,05 ммоль) в ТГФ (4 мл) охлаждают (-5°C) и добавляют раствор, состоящий из

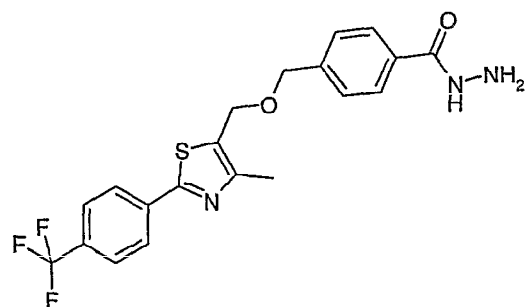
15 2-((4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил)метанола (546 мг, 2 ммоль) и метилового эфира 4-бромметилбензойной кислоты (458 мг, 2 ммоль) в ТГФ (5 мл).

Получившуюся смесь перемешивают в течение 5-ти минут, затем убирают холодную баню и перемешивают еще в течение 3-х часов. К реакционной смеси добавляют раствор 1 М HCl, затем ее разбавляют этилацетатом, промывают соляным раствором и высушивают над MgSO₄. Полученный раствор концентрируют под вакуумом и остаток очищают флэш-хроматографией (элюент 20% этилацетата в гептане) с получением продукта (377 мг) в виде белого твердого вещества.

25 Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): *m/z* 422 (M+H); ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,44 (с, 3H), 3,92 (с, 3H), 4,64 (с, 2H), 4,71 (с, 2H), 7,42 (д, J=8 Гц, 2H), 7,66 (д, J=8 Гц, 2H) 8,00 (м, 4H).

Пример 13

30



35

Промежуточное соединение: гидразид

4-((4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил)метоксиметил]бензойной кислоты

40 Повторение примера 8, но с использованием соединения примера 12 в качестве исходного вещества для получения указанного в заголовке соединения.

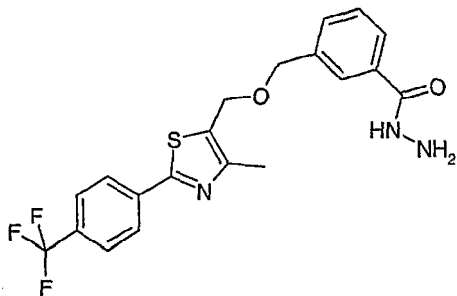
Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): *m/z* 422 (M+H); ¹H ЯМР (CDCl₃) δ 2,44 (с, 3H), 4,09 (ушир.с., 2H), 4,63 (с, 2H), 4,71 (с, 2H), 7,30 (ушир.с., 1H), 7,44 (д, J=8 Гц, 2H), 7,66 (д, J=8 Гц, 2H), 7,73 (д, J=8 Гц, 2H) 8,00 (д, J=8 Гц, 2H).

45

Пример 14

50

5



10

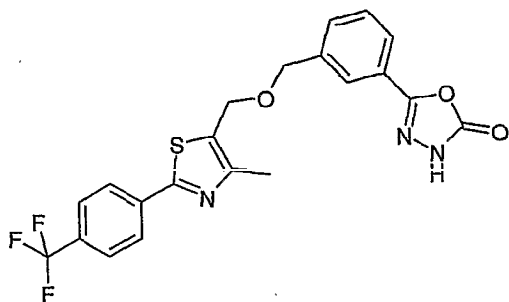
Промежуточное соединение: гидразид
4-([3-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил]метоксиметил)бензойной кислоты

Повторение примера 8, но с использованием соединения примера 15 в качестве исходного вещества для получения указанного в заголовке соединения.

15

Пример 17

20



25

5-{3-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил]метоксиметил}фенил}-3H
[1,3,4]оксадиазол-2-он

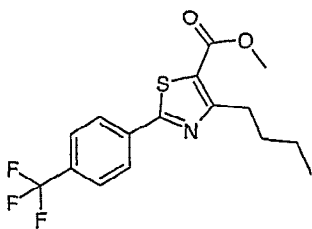
Повторение примера 10, но с использованием соединения примера 16 в качестве исходного вещества для получения указанного в заголовке соединения.

30

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 448 (M+H); ¹H ЯМР (ДМСО) δ 2,40 (с, 3H), 4,65 (с, 2H), 4,79 (с, 2H) 7,53 (м, 2H), 7,72 (м, 1H), 7,77 (с, 1H), 7,82 (д, J=8 Гц, 2H), 8,10 (д, J=8 Гц, 2H), 12,5 (ушир.с., 1H).

Пример 18

35



40

Промежуточное соединение: метиловый эфир
4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-карбоновой кислоты

45

В раствор метилового эфира 3-оксогептановой кислоты (5,0 г, 31,6 ммоль) в сухом дихлорметане (80 мл) добавляют сульфурилхлорид (2,82 мл). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 30-ти минут, затем добавляют воду (20 мл) и реакционную смесь пять раз экстрагируют порциями по 30 мл дихлорметана. Объединенные органические фракции промывают водой, насыщенным водным раствором NaHCO₃ и соляным раствором, а затем высушивают над MgSO₄.

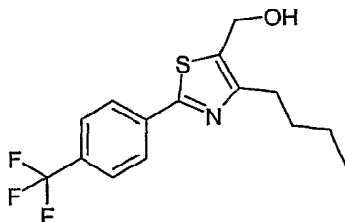
50

Растворитель удаляют при пониженном давлении и получают метиловый эфир 2-хлор-3-оксогептановой кислоты (6,0 г), который на следующей стадии используют без дополнительной очистки. В раствор метилового эфира 2-хлор-3-оксогептановой кислоты (6,0 г, 31,1 ммоль) в этаноле (50 мл) добавляют 4-(трифторметил)тиобензамид (6,4 г, 31,2 ммоль). Реакционную смесь нагревают с

обратным холодильником в течение ночи. Растворитель удаляют при пониженном давлении и остаток очищают хроматографией на силикагеле (элюент с градиентом н-гептан:этилацетат (от 100:1 до 60:1)) с получением метилового эфира 4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-карбоновой кислоты (7,4 г) в виде желтого маслянистого вещества.

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 344 (M+H).

Пример 19



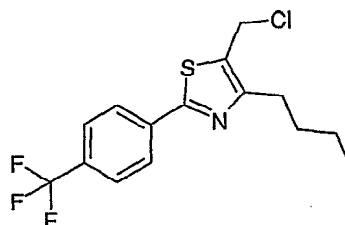
Промежуточное соединение: [4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил]метанол

К раствору алюмогидрида лития (1,2 г) в сухом тетрагидрофуране (100 мл) добавляют метиловый эфир 4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-карбоновой кислоты (5,3 г, 15,4 ммоль), растворенный в тетрагидрофуране (100 мл). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение одного часа. Добавляют насыщенный водный раствор хлорида аммония (50 мл), а затем 1-молярный водный раствор соляной кислоты (50 мл). Реакционную смесь экстрагируют пятикратно порциями по 60 мл этилацетата. Смешанный остаток высушивают над $MgSO_4$,

растворитель удаляют при пониженном давлении с получением [4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил]метанола (4,6 г) в виде желтого маслянистого вещества, которое затвердевает при комнатной температуре.

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 316 (M+H); 1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 0,91 (т, $J=7,0$ Гц, 3H), 1,35 (м, 2H), 1,64 (м, 2H), 2,70 (м, 2H), 4,68 (ушир.м., 2H), 5,63 (ушир.м., 1H), 7,83 (ушир.д., $J=8,5$ Гц, 2H), 8,09 (ушир.д., $J=8,5$ Гц, 2H).

Пример 20



Промежуточное соединение: 4-бутил-5-хлорметил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол

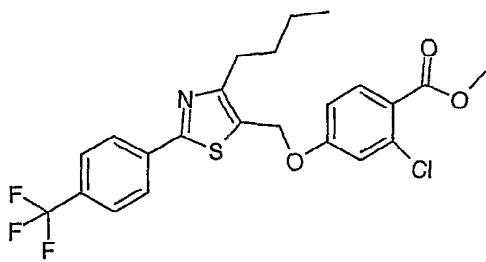
К раствору [4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил]метанола (1,0 г, 3,1 ммоль) в дихлорметане (50 мл) добавляют триэтиламин (0,88 мл) и метансульфонилхлорид (0,39 мл). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение трех часов, а затем добавляют дихлорметан (100 мл).

Реакционную смесь промывают насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ (50 мл), водой и соляным раствором. Органический слой высушивают над $MgSO_4$, удаляют растворитель при пониженном давлении с получением 4-бутил-5-хлорметил-2-(4-трифторметилфенил)тиазола (1,0 г) в виде желтого маслянистого вещества.

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 334 (M+H); 1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 0,92 (т, $J=7,5$ Гц, 3H), 1,37 (м, 2H), 1,68 (м, 2H), 2,80 (м, 2H), 5,14 (с, 2H), 7,86 (ушир.д., $J=8,5$ Гц, 2H), 8,12 (ушир.д., $J=8,5$ Гц, 2H).

Пример 21

5



10

Промежуточное соединение: метиловый эфир4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]-2-хлорбензойной кислоты

К охлаждаемому льдом раствору

[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил]-метанола (1,0 г, 3,17 ммоль),

15

метилового эфира 2-хлор-4-гидроксибензойной кислоты (592 мг, 3,17 ммоль) и

трифенилфосфина (832 мг, 3,17 ммоль) в дихлорметане добавляют

диэтилазодикарбоксилат (0,567 мл, 3,17 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 2-х часов, одновременно давая ей нагреваться до комнатной температуры.

Растворитель удаляют при пониженном давлении, остаток очищают

20

флэш-хроматографией на силикагеле с получением метилового эфира

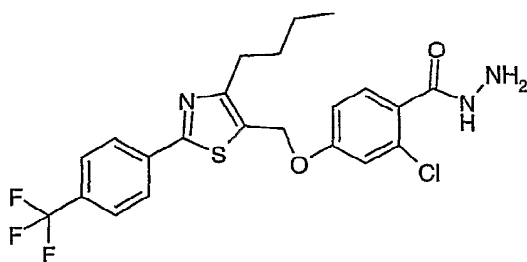
4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]-2-хлорбензойной кислоты (600 мг).

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 484 (M+H).

25

Пример 22

30

Промежуточное соединение: гидразид

35

4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]-2-хлорбензойной кислоты

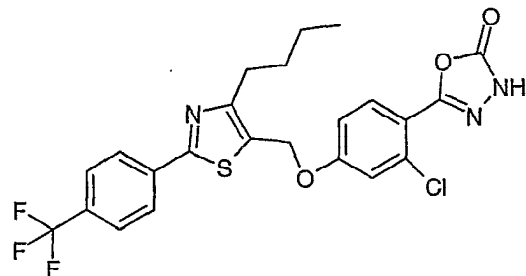
Повторение примера 8, но с использованием соединения примера 21 в качестве исходного вещества для получения указанного в заголовке соединения.

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 484 (M+H).

40

Пример 23

45



50

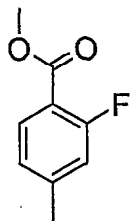
5-[4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]-2-хлорфенил]-3H-[1,3,4]оксадиазол-2-он

Повторение примера 10, но с использованием соединения примера 22 в качестве исходного вещества для получения указанного в заголовке соединения.

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 510 (M+H); 1H ЯМР

(ДМСО-d6) δ 0,91 (т, 3Н), 1,37 (м, 2Н), 1,68 (м, 2Н), 2,83 (т, 2Н), 5,50 (с, 2Н), 7,19 (дд, J=9, 2,5 Гц, 1Н), 7,40 (д, J=2,4 Гц, 1Н), 7,77 (д, J=8,6 Гц, 1Н), 7,86 (д, J=8,0 Гц, 2Н), 8,13 (д, J=8,3 Гц, 2Н), 12,64 (ушир.с., 1Н).

Пример 24

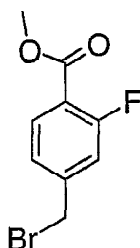


Промежуточное соединение: метиловый эфир 2-фтор-4-метилбензойной кислоты

В раствор 2-фтор-4-метилбензойной кислоты (1,1 г, 7,13 ммоль) в метаноле (20 мл) добавляют тионилхлорид (1,02 г, 8,56 ммоль). Полученную смесь перемешивают в течение ночи, затем концентрируют под вакуумом с получением указанного в заголовке соединения (1,2 г) в виде белого твердого вещества.

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 169 (M+H); ¹H ЯМР (ДМСО-d6) δ 2,37 (с, 3Н), 3,83 (с, 3Н), 7,12-7,21 (м, 2Н), 7,79 (т, J=8,0 Гц, 1Н).

Пример 25

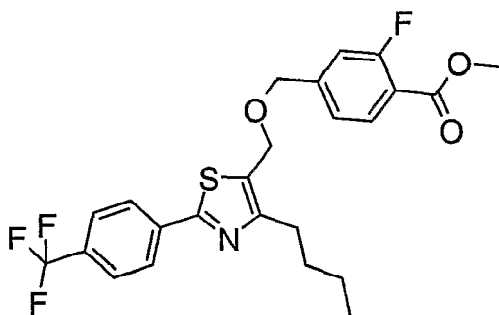


Промежуточное соединение: метиловый эфир 4-бромметил-2-фторбензойной кислоты

В раствор метилового эфира 2-фтор-4-метилбензойной кислоты (1,12 г, 6,66 ммоль) в тетрагидрофуране (12 мл) добавляют N-бромсукцинимид (1,18 г, 6,66 ммоль) и пероксид бензоила (10 мг). Полученную смесь нагревают до 60°C в течение 15 часов, затем концентрируют под вакуумом до половины и отфильтровывают. Фильтрат концентрируют под вакуумом и полученный неочищенный продукт очищают флэш-хроматографией на силикагеле (элюент смесь гептана/этилацетата в соотношении 5/1) с получением указанного в заголовке соединения (1,35 г) в виде белого твердого вещества.

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 247 (M+H); ¹H ЯМР (ДМСО-d6) δ 3,85 (с, 3Н), 4,73 (с, 2Н), 7,37-7,48 (м, 2Н), 7,88 (т, J=8,0 Гц, 1Н).

Пример 26



Промежуточное соединение: метиловый эфир

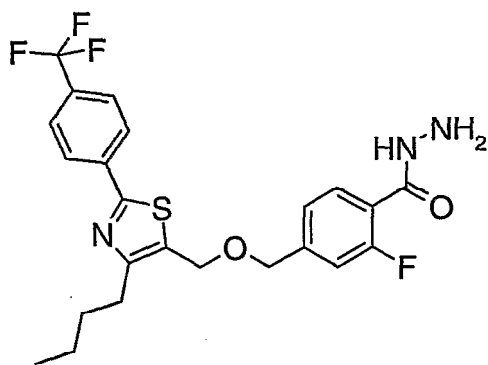
4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметоксиметил]-2-фторбензойной кислоты

В раствор [4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил]метанола (1,02 г, 3,24 ммоль) в безводном ДМФ (150 мл) добавляют карбонат цезия (2,7 г, 8,10 ммоль) и 4-метиловый эфир бромметил-2-фторбензойной кислоты (0,8 г, 3,24 ммоль).

Полученную смесь перемешивают в течение ночи, затем сливают в 1 М водный раствор дикалийфосфата и экстрагируют три раза в присутствии диизопропилового эфира. Объединенные фракции промывают водой, высушивают над $MgSO_4$,

отфильтровывают и концентрируют под вакуумом. Остаток очищают флэш-хроматографией на силикагеле (элюент с градиентом раствором гептан/этилацетата) с получением указанного в заголовке соединения (0,3 г) в виде оранжевого твердого вещества.

Масс-спектрокопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 482 (M+H); 1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 0,89 (т, $J=7,5$ Гц, 3H), 1,33 (м, 2H), 1,65 (м, 2H), 2,72 (м, 2H), 3,86 (с, 3H), 4,67 (с, 2H), 4,80 (с, 2H), 7,28-7,34 (м, 2H), 7,86 (ушир.д., $J=8,5$ Гц, 2H), 7,90 (т, $J=8,0$ Гц, 1H), 8,11 (ушир.д., $J=8,5$ Гц, 2H).

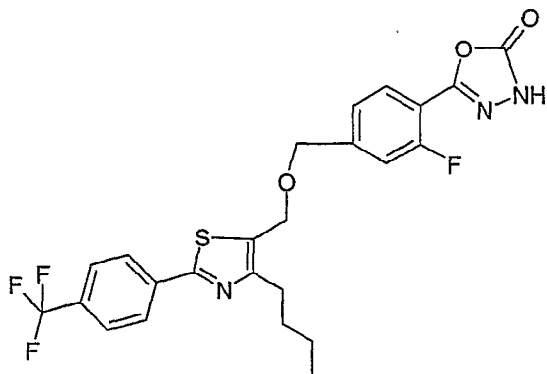
Пример 27

Промежуточное соединение: гидразид

4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметоксиметил]-2-фторбензойной кислоты

Повторение примера 8, но с использованием соединения примера 26 в качестве исходного вещества для получения указанного в заголовке соединения.

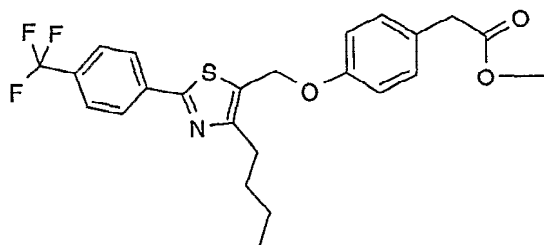
Масс-спектрокопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 482 (M+H); 1H ЯМР (ДМСО- d_6) δ 0,90 (т, $J=7,5$ Гц, 3H), 1,33 (м, 2H), 1,65 (м, 2H), 2,72 (м, 2H), 4,53 (ушир.с., 2H), 4,62 (с, 2H), 4,79 (с, 2H), 7,20-7,29 (м, 2H), 7,57 (ушир.с., $J=8,0$ Гц, 1H), 7,84 (ушир.с., $J=8,5$ Гц, 2H), 8,12 (ушир.д., $J=8,5$ Гц, 2H), 9,51 (м, 1H).

Пример 285-[4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметоксиметил]-

2-фторфенил}-3*H*-[1.3.4]оксадиазол-2-он

Повторение примера 10, но с использованием соединения примера 27 в качестве исходного вещества для получения указанного в заголовке соединения.

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 508 (M+H); ¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 0,89 (т, J=7,5 Гц, 3H), 1,33 (м, 2H), 1,65 (м, 2H), 2,73 (м, 2H), 4,68 (с, 2H), 4,81 (с, 2H), 7,33-7,40 м, 2H), 7,80 (т, J=8,0 Гц, 1H), 7,85 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 8,12 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 12,70 (ушир.м., 1H).

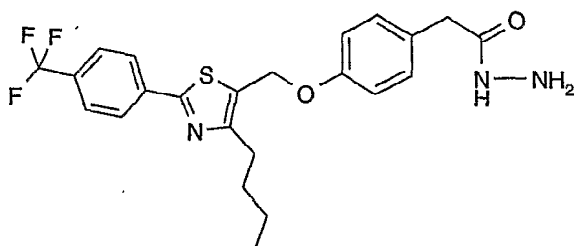
Пример 29Промежуточное соединение: метиловый эфир{4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]фенил}уксусной кислоты

В раствор 4-бутил-5-хлорметил-2-(4-трифторметилфенил)тиазола (278 мг, 0,83 ммоль) в безводном ДМФ (5 мл) добавляют карбонат цезия (297 мг, 1,66 ммоль) и метил 4-гидроксифенилацетат (200 мг, 1,20 ммоль). Полученную смесь перемешивают в течение ночи, затем сливают в воду и экстрагируют два раза этилацетатом.

Объединенные фракции промывают водой, высушивают над MgSO₄,

отфильтровывают и концентрируют под вакуумом с получением указанного в заголовке соединения (290 мг) в виде желтоватого твердого вещества.

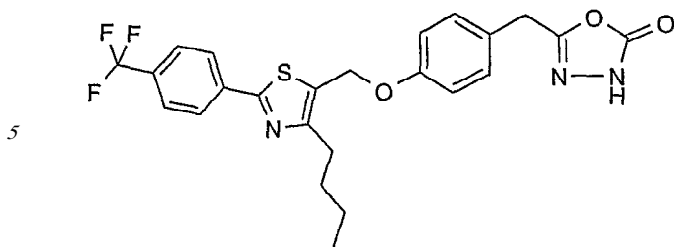
Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 508 (M+H); ¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 0,90 (т, J=7,5 Гц, 3H), 1,36 (м, 2H), 1,67 (м, 2H), 2,80 (м, 2H), 3,60 (с, 3H), 3,61 (с, 2H), 5,33 (с, 2H), 7,00 (ушир.с., J=8,5 Гц, 2H), 7,21 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 7,84 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 8,12 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H).

Пример 30Промежуточное соединение: гидразид{4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]фенил}уксусной кислоты

Повторение примера 8, но с использованием соединения примера 29 в качестве исходного вещества для получения указанного в заголовке соединения.

Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 464 (M+H); ¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 0,91 (т, J=7,5 Гц, 3H), 1,36 (м, 2H), 1,67 (м, 2H), 2,80 (м, 2H), 3,28 (с, 2H), 4,17 (ушир.д., J=4,0 Гц, 2H), 5,32 (с, 2H), 6,97 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 7,19 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 7,84 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 8,12 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 9,13 (ушир.т., J=4,0 Гц, 1H).

Пример 31

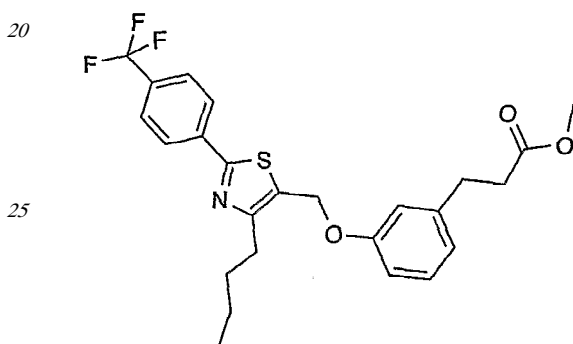


10 5-(4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]бензил)-3H-[1,3,4]оксадиазол-2-он

Повторение примера 10, но с использованием соединения примера 30 в качестве исходного вещества для получения указанного в заголовке соединения.

15 Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 490 (M+H); ¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 0,90 (т, J=7,5 Гц, 3H), 1,36 (м, 2H), 1,68 (м, 2H), 2,80 (м, 2H), 3,87 (с, 2H), 5,33 (с, 2H), 7,03 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 7,24 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 7,85 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 8,12 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 11,7-12,4 (ушир.м., 1H).

Пример 32



30 Промежуточное соединение: метиловый эфир

3-(3-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]фенил)пропионовой кислоты

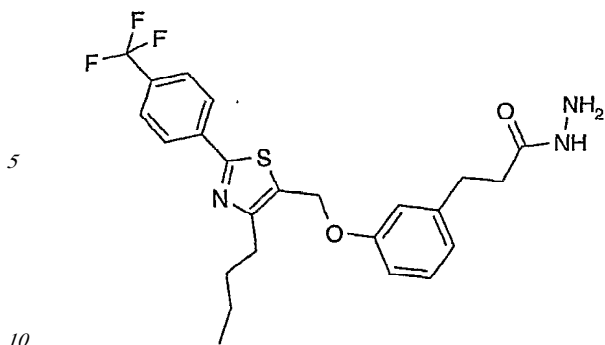
35 В раствор 4-бутил-5-хлорметил-2-(4-трифторметилфенил)тиазола (300 мг, 0,90 ммоль) в безводном ДМФ (5 мл) добавляют карбонат цезия (586 мг, 1,80 ммоль) и метил 3-(3-гидроксифенил)пропионат (178 мг, 0,99 ммоль). Полученную смесь перемешивают в течение ночи, затем сливают в воду и экстрагируют два раза этилацетатом. Объединенные фракции промывают водой, высушивают над MgSO₄, отфильтровывают и концентрируют под вакуумом. Остаток очищают

40 флэш-хроматографией на силикагеле (элюент 5-процентный раствор этилацетата в гептане) с получением указанного в заголовке соединения (290 мг) в виде желтого маслянистого вещества.

45 Масс-спектроскопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 478 (M+H); ¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 0,91 (т, J=7,5 Гц, 3H), 1,37 (м, 2H), 1,68 (м, 2H), 2,64 (м, 2H), 2,76-2,88 (м, 4H), 3,58 (с, 3H), 5,33 (с, 2H), 6,82-6,91 (м, 2H), 6,93 (ушир.с., 1H), 7,22 (т, J=8,0 Гц, 1H), 7,85 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 8,12 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H).

Пример 33

50



Промежуточное соединение: гидразид

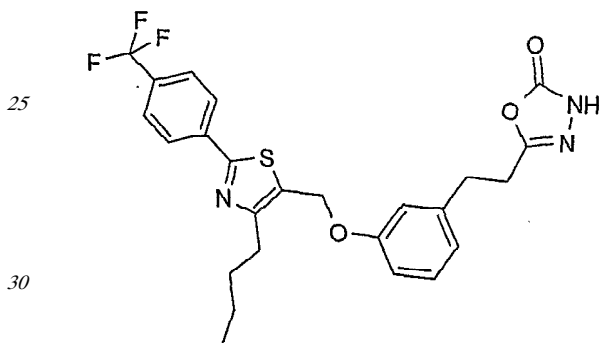
3-(3-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]фенил)пропионовой кислоты

15 Повторение примера 8, но с использованием соединения примера 32 в качестве исходного вещества для получения указанного в заголовке соединения.

Масс-спектрокопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 478 (M+H); ¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 0,91 (т, J=7,5 Гц, 3H), 1,36 (м, 2H), 1,68 (м, 2H), 2,33 (м, 2H), 2,80 (м, 4H), 4,14 (ушир.д., J=4,0 Гц, 2H), 5,32 (с, 2H), 6,79-6,92 (м, 3H), 7,21 (т, J=7,5 Гц, 1H), 7,85 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 8,12 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 8,94 (ушир.м. 1H),

20

Пример 34



5-(2-{3-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]фенил}этил)-3H-[1,3,4]оксадиазол-2-он

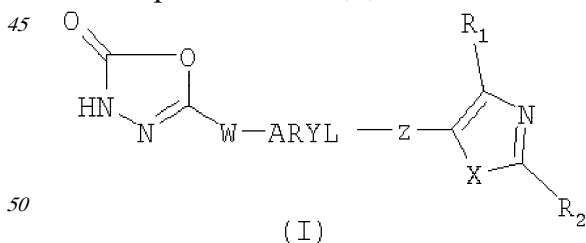
35 Повторение примера 10, но с использованием соединения примера 33 в качестве исходного вещества для получения указанного в заголовке соединения.

Масс-спектрокопия (с ионизацией электрораспылением): m/z 504 (M+H); ¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 0,91 (т, J=7,5 Гц, 3H), 1,36 (м, 2H), 1,67 (м, 2H), 2,80 (м, 2H), 2,88 (м, 4H), 5,33 (с, 2H), 6,83-6,93 (м, 2H), 6,97 (ушир.с., 1H), 7,23 (т, J=8,0 Гц, 1H), 7,85 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 8,12 (ушир.д., J=8,5 Гц, 2H), 11,5-12,5 (ушир.м., 1H).

40

Формула изобретения

1. Производные 1,3,4-оксадиазол-2-она формулы I:



где ARYL представляет собой фенил, который может иметь один заместитель, выбранные из галогена;

W представляет собой связь или $(\text{CH}_2)_m$, где m обозначает целое число от 1 до 4;

Z представляет собой $-\text{O}(\text{CH}_2)_n-$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{Y}-(\text{CH}_2)_n-$, где Y обозначает O, n независимо обозначает целое число от 1 до 5;

5 X представляет собой O или S;

R₁ представляет собой C₁₋₆ алкил;

R₂ представляет собой замещенный фенил, где заместители выбирают из группы, включающей C₁₋₆ алкил, C₁₋₄ перфторалкил;

10 или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п.1, в котором ARYL является фенилом.

3. Соединение по п.1, в котором X представляет O.

4. Соединение по п.11, в котором X представляет S.

5. Соединение по п.1, выбранное из группы, состоящей из:

15 5-{4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]фенил}-3H-

[1,3,4]оксадиазол-2-он,

5-[4-(4-метил-2-м-толилоксазол-5-илметокси)фенил]-3H-[1,3,4]оксадиазол-2-он,

5-{4-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил)метоксиметил]фенил}-3H-

20 [1,3,4]оксадиазол-2-он,

5-{3-[4-метил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-ил)метоксиметил]фенил}-3H-

[1,3,4]оксадиазол-2-он,

5-{4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]-2-хлорфенил}-3H-

[1,3,4]оксадиазол-2-он,

25 5-{4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметоксиметил]-

2-фторфенил}-3H-[1,3,4]оксадиазол-2-он,

5-{4-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]бензил}-3H-

[1,3,4]оксадиазол-2-он и

30 5-(2-{3-[4-бутил-2-(4-трифторметилфенил)тиазол-5-илметокси]фенил}этил)-3H-

[1,3,4]оксадиазол-2-он.

6. Фармацевтическая композиция, обладающая агонистической или антагонистической активностью в отношении PPAR-дельта рецептора, содержащая эффективное количество соединения по п.1 и фармацевтически приемлемый носитель.

35 7. Способ лечения заболевания у млекопитающего, в котором заболевание может модулироваться активностью связывания PPAR-дельта лигандов, путем введения млекопитающему, страдающему данным заболеванием, терапевтически эффективного количества соединения по п.1.

40 8. Способ по п.7, в котором указанное заболевание представляет собой демиелинизирующее заболевание.

9. Способ по п.8, в котором демиелинизирующим заболеванием является рассеянный склероз.

45

50