



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ(21)(22) Заявка: **2012110592/15**, 13.03.2009(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
13.03.2009

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
13.03.2008 US 61/036,294(62) Номер и дата подачи первоначальной заявки,
из которой данная заявка выделена:
2010141823 13.03.2008(43) Дата публикации заявки: **27.09.2013** Бюл. № 27(45) Опубликовано: **20.12.2013** Бюл. № 35(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: **US 2008/0015254**, 17.01.2008. **US**
2003/0220399 A1, 27.11.2003. **Фармакология:**
учебник для ВУЗов. /Под. ред. Р.Н.
Аляутдина, 2-е издание, исправленное. - М.:
ГЭОТАР-МЕД, 2004.

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры"

(72) Автор(ы):

О'НЕЙЛ Джеймс Деннен (US),
БАМАТ Майкл К. (US),
ВОН БОРСТЕЛ Рейд В. (US),
ШАРМА Шалини (US),
АРУДЧАНДРАН Рамачандран (US)

(73) Патентообладатель(и):

ВЕЛЛСТАТ ТЕРАПЬЮТИКС
КОРПОРЕЙШН (US)**(54) СОЕДИНЕНИЯ И СПОСОБ СНИЖЕНИЯ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ**

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к способу снижения концентрации мочевой кислоты в крови, или увеличения выведения мочевой кислоты, у млекопитающего пациента, включающий введение пациенту 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метилфенил)уксусной кислоты или ее фармацевтически приемлемой соли в эффективном количестве. Также заявленное соединение используют в способе лечения или профилактики множества состояний, включая подагру, гиперурикемию,

повышенные уровни мочевой кислоты, не соответствующие уровням, обычно определяющим диагноз гиперурикемии, почечную дисфункцию, камни в почках, сердечно-сосудистое заболевание, риск развития сердечно-сосудистого заболевания, синдром распада опухоли и ухудшение познавательной способности. Кроме того, заявленное соединение может применяться для изготовления фармацевтической композиции. 5 н. и 6 з.п. ф-лы, 6 ил., 13 табл., 28 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 501 555** (13) **C2**

(51) Int. Cl.

A61K 31/03 (2006.01)

A61K 31/085 (2006.01)

A61K 31/192 (2006.01)

A61P 19/06 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2012110592/15, 13.03.2009**

(24) Effective date for property rights:
13.03.2009

Priority:

(30) Convention priority:
13.03.2008 US 61/036,294

(62) Number and date of filing of the initial application, from which the given application is allocated: **2010141823 13.03.2008**

(43) Application published: **27.09.2013 Bull. 27**

(45) Date of publication: **20.12.2013 Bull. 35**

Mail address:

**129090, Moskva, ul. B. Spasskaja, 25, str.3, OOO
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery"**

(72) Inventor(s):

**O'NEJL Dzhejms Dennen (US),
BAMAT Majkl K. (US),
VON BORSTEL Rejd V. (US),
ShARMA Shalini (US),
ARUDChANDRAN Ramachandran (US)**

(73) Proprietor(s):

**VELLSTAT TERAP'JuTIKS KORPOREJShN
(US)**

(54) COMPOUNDS AND METHODS FOR URIC ACID REDUCTION

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: present invention refers to a method for reducing the blood uric acid concentration in a mammal patient, or increasing the uric acid discharge in a mammal patient involving administering 2-(3-(2,6-dimethylbenzyloxy)-4-methylphenyl)acetic acid or a pharmaceutically acceptable salt thereof in the effective amount into the patient. Besides, the declared invention is used

in a method of treating or preventing a number of conditions, including uratic arthritis, hyperuricemia, the uric acid levels exceeding those normally diagnosed as hyperuricemia, renal dysfunction, renal calculi, cardiovascular disorder, risk of cardiovascular disorder, tumour lysis syndrome and cognitive impairment.

EFFECT: declared compounds may be used for preparing the pharmaceutical composition.

11 cl, 6 dwg, 13 tbl, 28 ex

RU 2 501 555 C2

RU 2 501 555 C2

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Заболевания, вызванные повышенными уровнями мочевой кислоты, попадают в две основные категории: заболевания, вызванные осаждением кристаллов мочевой кислоты, и заболевания, вызванные патологическим действием растворимой мочевой кислоты. Подагрический артрит является классическим примером первой категории. Отложения кристаллов урата в почках также является широко распространенной причиной почечной дисфункции. Повышенные уровни растворимой мочевой кислоты ассоциируются с множеством расстройств, включая сердечно-сосудистые и почечные заболевания.

Подагра широко известна как воспаление одного или более суставов тела, дающее от умеренной до сильной боли. Эти события могут быть эпизодическими и/или хроническими. В течение времени подагра может вызвать разрушение хряща и кости, развитие отложений кристаллов мочевой кислоты, боль в почках и дисфункцию, а также камни в почках. Подагра также может поражать другие органы.

Подагра вызывается гиперурикемией и последующим образованием и отложением кристаллов мочевой кислоты в тканях, суставах, почках и других органах. Мочевая кислота возникает при нормальном метаболизме клетки и из некоторых типов пищи и напитков. Избыточные уровни мочевой кислоты являются результатом слишком активного производства мочевой кислоты, ухудшенного очищения почками (или сочетания избыточного производства и ухудшенного очищения), а также некоторыми формами лекарственных средств, принимаемыми при других состояниях здоровья. (Примеры включают диуретики, пиразинамид, циклоспорин, низкие дозы аспирина, никотиновой кислоты и леводопы). Многие типы состояний здоровья также могут вызывать гиперурикемию и подагру, включая алкоголизм, лейкемию, лимфому, рак легких, синдром распада опухоли, курение, псориаз, ожирение, почечную дисфункцию, застойную сердечную недостаточность, голодание, анемию, высокое кровяное давление, диабет, неподвижность, синдром Леша-Найхана, синдром Дауна и дисфункцию щитовидной железы и паращитовидной железы.

Подагра обычно делится на четыре категории на основании нарастания тяжести симптомов:

1) Асимптоматическая. Повышенные уровни мочевой кислоты в крови, но отсутствие выраженных симптомов.

2) Острый подагрический артрит: неожиданное проявление симптомов, часто в единичном суставе (обычно большой палец), затем вовлечение других суставов. Симптомы включают боль, опухание, покраснение и лихорадку.

3) Интеркритическая подагра: асимптоматические фазы между приступами подагры.

4) Хроническая подагра с отложением солей: хроническое состояние, которое может включать частые приступы, постоянную умеренную боль и воспаление суставов, разрушение хряща и кости, развитие отложений кристаллов мочевой кислоты, дисфункцию почек и камни в почках.

Лекарственные средства, применяемые в настоящее время для лечения острых симптомов подагры, включают нестероидные противовоспалительные средства, колхицин и кортикостероиды. Все эти лекарственные средства могут вызывать побочные эффекты от умеренных до тяжелых. Другие средства лечения таких острых симптомов изучаются, включая антитела и антагонисты воспалительных цитокинов, таких как Интерлейкин 1.

Другие типы лекарственных средств применяют для снижения вероятности

возникновения или тяжести будущих приступов через снижение уровня мочевой кислоты. Три принципиальных класса лекарственных средств включают ингибиторы ксантиноксидазы (например, аллопуринол), которые снижают производство мочевой кислоты из ксантина; средства, способствующие выведению мочевой кислоты (например, сульфинпиразон, пробенецид, бензбромарон и лозартан), которые предназначены для улучшения выведения мочевой кислоты через ингибирование повторного поглощения выделенной мочевой кислоты в почечных канальцах через ингибирование переносчика мочевой кислоты 1 (URAT1) (См. также публикацию заявки на патент США №2007/0010670, опубликованную 11 января 2007 года (Japan Tobacco Inc.)) или других элементов повторного поглощения мочевой кислоты; и уриказы, например, пегилированная уриказа, такая как PURICASE (пегилированная рекомбинантная уриказа млекопитающих по Савье). Эти лекарственные средства также часто вызывают значительные и нежелательные побочные эффекты. Например, было описано, что аллопуринол вызывает по меньшей мере 100 случаев токсического эпидермального некролиза Стивенса-Джонсона и приблизительно 30 смертей каждый год в Европе (Halevy et al., *Allopurinol is the most common cause of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Europe and Israel. J Am Acad Dermatol.* 58(1):25-32, 2008). Пробенецид и бензбромарон сняты из продажи во множестве стран из-за нежелательных побочных эффектов, таких как отказ печени при приеме бензбромарона. Согласие пациентов на прием этих лекарственных средств по имеющимся данным крайне редко (A. A. Reidel et al. "Compliance with Allopurinol Therapy among Managed Care Enrollees with Gout: A Retrospective Analysis of Administrative Claims." *Journal of Rheumatology* 2004; 31:1575-1581), предположительно из-за побочных эффектов и/или отсутствия пользы.

Более 5 миллионов людей в США страдают подагрой (National Health and Nutrition Examination Survey 111, 1988-1994). Распространение гиперурикемии и подагры в США в 1999 году, по имеющимся данным, составляет 41 на 1000 и 14 на 1000 в Соединенном Королевстве (T.R. Mikuls et al., "Gout Epidemiology: Results for the UK General Practice Research Database, 1990-1999." *Annals of the Rheumatic Diseases* 2005; 64:267-272). В последующих докладах указано, что распространение в США, Соединенном королевстве и других странах уверенно растет (K. L. Wallace et al., "Increasing Prevalence of Gout and Hyperuricemia over 10 Years Among Older Adults in a Managed Care Population." *Journal of Rheumatology* 2004; 31: 1582-1587). Более свежие данные позволяют предположить, что более 5 миллионов американцев в настоящее время имеют диагностируемую подагру (E. Krishnan et al., "Gout in Ambulatory Care Settings in the United States." *Journal of Rheumatology* 2008; 35(3): 498-501).

Гиперурикемия и подагра являются очень значимыми для пациентов с трансплантированными органами (Stamp, L., et al, "Gout in solid organ transplantation: a challenging clinical problem", *Drugs* (2005) 65(18): 2593-2611). Мочевая кислота часто повышена у пациентов с трансплантатами почек, и обычные иммунодепрессанты, такие как циклоспорин, могут вызвать особенно тяжелую гиперурикемию. У пациентов с трансплантатами аллопуринол абсолютно противопоказан из-за взаимодействия с некоторыми иммунодепрессантами, такими как азатиоприн, так как их сочетание вызывает недостаточность костного мозга. Более того, повышенная мочевая кислота может сыграть роль в отторжении трансплантата (Armstrong, K.A. et al., "Does Uric Acid Have a Pathogenetic Role in Graft Dysfunction and Hypertension in Renal Transplant Patients?" *Transplantation* (2005) 80(11): 1565-1571). Поэтому существует особенно острая необходимость в безопасных агентах, которые снижают

гиперурикемию у пациентов с трансплантатами.

Заболевания, связанные с повышенной растворимой мочевой кислотой, часто включают проблемы с сосудами: гипертензию (Sundstrom et al., Relations of serum uric acid to longitudinal blood pressure tracking and hypertension incidence. *Hypertension*. 45(1):28-33, 2005), предгипертензию (Syamela, S. et al., Association between serum uric acid and prehypertension among US adults. *J Hypertens*. 25 (8) 1583-1589, (2007), атеросклероз (Ishizaka et al., Association between serum uric acid, metabolic syndrome, and carotid atherosclerosis in Japanese individuals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. (5):1038-44, 2005), заболевание периферийной артерии (Shankar, A. et al., Association between serum uric acid level and peripheral artery disease. *Atherosclerosis* doi 10: 1016, 2007), воспаление сосудов (Zoccali et al., Uric acid and endothelial dysfunction in essential hypertension. *J Am Soc Nephrol*. 17(5):1466-71, 2006), сердечную недостаточность (Strasak, A.M. et al., Serum uric acid and risk of cardiovascular mortality: A prospective, long-term study of 83,683 Austrian men, *Clin Chem*. 54 (2) 273-284, 2008; Pascual-Figal, Hyperuricaemia and long-term outcome after hospital discharge in acute heart failure patients. *Eur J Heart Fail*. 2006 Oct 23; [Epub ahead of print]; Cengel, A., et al., "Serum uric Acid Levels as a Predictor of In-hospital Death in Patients Hospitalized for Decompensated Heart Failure." *Acta Cardiol*. (Oct. 2005) 60(5): 489-492), инфаркт миокарда (Strasak, A.M. et al.; Bos et al., Uric acid is a risk factor for myocardial infarction and stroke: the Rotterdam study. *Stroke*. 2006 Jun; 37(6):1503-7), дисфункцию почек (Cirillo et al., Uric Acid, the metabolic syndrome, and renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 17(12 Suppl 3):S165-8, 2006; Z. Avram and E. Krishnan, Hyperuricemia - where nephrology meets rheumatology. *Rheumatology (Oxford)*, 47(7): 960-964, 2008), и удары (Bos et al., 2006). Мочевая кислота непосредственно вызывает дисфункцию эндотелия (Kanellis, et al., Uric acid as a mediator of endothelial dysfunction, inflammation, and vascular disease. *Semin Nephrol*. 25(1):39-42, 2005; Khosla et al, Hyperuricemia induces endothelial dysfunction. *Kidney Int*. 67(5):1739-42, 2005). У детей и подростков рано возникающая первичная гипертензия связана с повышенной мочевой кислотой в сыворотке, и снижение уровня мочевой кислоты аллопуринолом снижает кровяное давление у таких пациентов (Feig and Johnson, The role of uric acid in pediatric hypertension. *J Ren Nutrition* 17(1): 79-83, 2007; D.I. Feig et al., Effect of allopurinol on blood pressure of adolescents with newly diagnosed essential hypertension. *JAMA* 300(8): 924-932, 2008). Feig et al. также утверждают, что это новый терапевтический подход, но что побочные эффекты существующих лекарственных средств для снижения мочевой кислоты могут ограничивать или препятствовать их применению. Гиперурикемия является независимым фактором риска во всех таких состояниях.

Повышенная растворимая мочевая кислота также связана с или непосредственно вызывает воспалительные реакции. Например, мочевая кислота транспортируется в клетки гладкой мускулатуры сосудов через переносчиков органической кислоты, особенно переносчик урата URAT1, и затем стимулирует клетки гладкой мускулатуры сосудов к производству С-реакционноспособного белка, МСР-1 и других цитокинов, там самым стимулируя пролиферацию и другие изменения, связанные с атеросклерозом (Price et al., Human vascular smooth muscle cells express a urate transporter. *J Am Soc Nephrol*. 17(7):1791-5, 2006; Kang et al., Uric acid causes vascular smooth muscle cell proliferation by entering cells via a functional urate transporter. *Am J Nephrol*. 2005 25(5):425-33 (2005); Yamamoto et al., Allopurinol reduces neointimal hyperplasia in the carotid artery ligation model in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens. Res*. 29 (11) 915-921, 2006), стимулирует человеческие одноядерные клетки вырабатывать IL-1 β , IL-6 и TNF- α , что вызывает заметное увеличение TNF- α при вливании мышам, активирует

эндотелиальные клетки и тромбоциты, и повышает прилипаемость тромбоцитов (Coutinho et al., "Associations of Serum Uric Acid with Markers of Inflammation, Metabolic Syndrome, and Subclinical Coronary Atherosclerosis", *Amer. J. Hypertens.* (2007) 20: 83-89; Levya, F., et al., "Uric Acid in Chronic Heart Failure: A Marker of Chronic Inflammation", *Eur. Heart J.* (1998) 19(12): 1814-1822.). Также было показано, что мочевая кислота ингибирует биодоступность эндотелиальной окиси азота и активирует систему ренин-ангиотензин. (T.S. Perlstein et al., Uric acid and the state of the intrarenal renin-angiotensin system in humans. *Kidney International.* 66:1465-1470, 2004).

Inokuchi et al. показали, что Интерлейкин 18 (IL-18) и другие воспалительные агенты отражают местное воспаление, связанное с подагрой, и что кристаллы урата усиливают активацию IL-18 (T. Inokuchi et al., Plasma IL-18 and other inflammatory cytokines in patients with gouty arthritis and monosodium urate monohydrate crystal-induced secretion of IL-18. *Cytokine.* 33(1): 21-27, 2006), которая, вероятно, играет причинную роль при почечной недостаточности. IL-18 и другие цитокины также значительно повышены у людей, которые не имеют самой подагры, но которые точно имеют повышенные уровни мочевой кислоты (C. Ruggiero et al. Uric acid and inflammatory markers. (C. Ruggiero et al., Uric acid and inflammatory markers. *European Heart Journal.* 27: 1174-1181, 2006).

Гиперурикемия также связана с ухудшением познавательной способности и другими формами дисфункции центральной нервной системы (Schretlen, D.J. et al., "Serum Uric Acid and Cognitive Function in Community-Dwelling Older Adults", *Neuropsychology* (Jan. 2007) 21(1): 136-140; Watanabe, S., et al., "Cerebral Oxidative Stress and Mitochondrial Dysfunction in Oxonate-Induced Hyperuricemic Mice", *J. Health Science* (2006) 52: 730-737).

Повышенные уровни мочевой кислоты в сыворотке также связаны с повышенным риском рака и смертности от рака. (Strasak, AM et al. (2007) Serum uric acid and risk of cancer mortality in a large prospective male cohort. *Cancer Causes Control* 18 (9) 1021-1029; Strasak, AM et al. (2007) The role of serum uric acid as an antioxidant protecting against cancer: prospective study in more than 28,000 older Austrian women. *Annals Oncol* 18 (11) 1893-1897; Jee, SA et al. (2004) Serum uric acid and risk of death from cancer, cardiovascular disease or all causes in men *Eur. J. Cardiovascular Prev. Rehab.* 11 (3) 185-191)

Повышенные уровни мочевой кислоты связаны с преддиабетическими состояниями, резистентностью к инсулину, развитием диабета 2 типа и повышенной вероятностью развития множества нежелательных состояний у человека с диабетом, таких как заболевания периферийных артерий, удар и повышенный риск смерти (Ioachimescu, A.G. et al. (2007) Serum uric acid, mortality and glucose control in patients with Type 2 diabetes mellitus: a PreCIS database study *Diabet. Med.* 24 (12) 1369-1374; Perry, I.J. et al (1995) Prospective study of risk factors for development of non-insulin dependent diabetes in middle aged British men *BMJ* 310 (6979) 560-564; Chien, K-L et al. (2008) Plasma uric acid and the risk of Type 2 diabetes in a Chinese community *Clin. Chem.* 54 (2) 310-316; Sautin, Y. Y. et al. (2007) Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes: NADPH oxidase-mediated oxidative/nitrosative stress *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 293: C584-C596; Tseng, C.H. (2004) Independent association of uric acid levels with peripheral artery disease in Taiwanese patients with Type 2 diabetes *Diabet. Med.* 21 (7) 724-729; Lehto, S. et al. (1998) Serum uric acid is a strong predictor of stroke in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus *Stroke* 29: 635-639.

Повышенные уровни мочевой кислоты являются определяющей характеристикой синдрома Леша-Нейхана. Пациенты с апноэ или расстройством дыхания во сне также

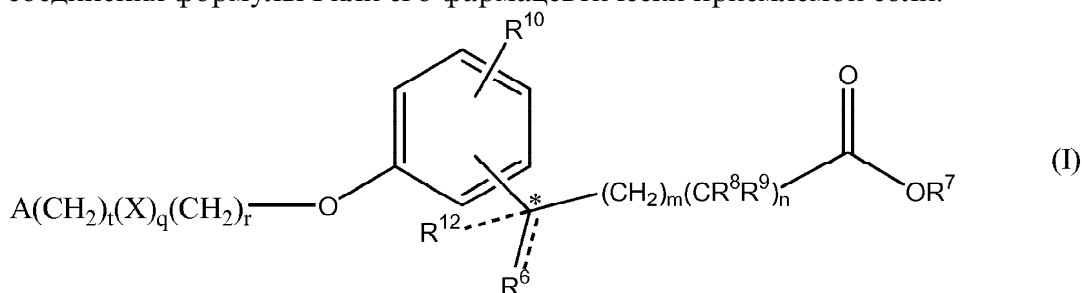
имеют повышенные уровни мочевой кислоты (Saito, H. et al., Tissue hypoxia in sleep apnea syndrome assessed by uric acid and adenosine. Chest 122: 1686-1694, 2002; Verhulst, S.L., et al., Sleep-disordered breathing and uric acid in overweight and obese children and adolescents. Chest 132: 76-80, 2007)

Повышенная мочевая кислота связана с преэклампсией (Bainbridge, S.A. and Roberts, J.M., Uric acid as a pathogenic factor in preeclampsia. Placenta Dec. 17 2007 epub ahead of print).

Существует значительная медицинская потребность в новых лекарственных средствах, которые могут безопасно, удобно и эффективно лечить и предотвращать расстройства, связанные с повышением мочевой кислоты в крови, где такие заболевания связаны с кристаллизацией мочевой кислоты, или эффектами сверхнормальных (где стандарт индивидуален или общий) уровней растворимой мочевой кислоты.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение относится к определенному терапевтическому применению соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли.



В формуле I, m равно 0, 1, 2, 3 или 4; n равно 0 или 1; m+n не более 4; t равно 0 или 1; q равно 0 или 1; и r равно 0, 1 или 2. R⁶ является водородом, метилом или этилом, и R¹² является водородом или метилом, или R⁶ является гидроксильной группой и R¹² является водородом, или R⁶ является O и R¹² отсутствует, или R⁶ и R¹² вместе являются -CH₂CH₂-. R⁷ является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода. Один из R⁸ и R⁹ является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и другой является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода. R¹⁰ является водородом, галогеном, алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, или алкокси, содержащим от 1 до 3 атомов углерода. X является C(O) и r равен 0 и t равен 0; или X является NH(R¹¹), где R¹¹ является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода. A является фенилом, незамещенным или замещенным 1 или 2 группами, выбранными из галогена, гидроксильной группы, метила, этила, перфторметила, метокси, этокси и перфторметокси; или 5-6-членным гетероароматическим кольцом, содержащим 1 или 2 гетероатома в кольце, выбранных из N, S и O, и гетероароматическое кольцо ковалентно связано с остатком соединения формулы I через атом углерода кольца; или циклоалкилом, содержащим от 3 до 6 атомов углерода в кольце, где циклоалкил не замещен или один или два атома углерода в кольце независимо монозамещены метилом или этилом. Сложные эфиры и другие пролекарства соединений формулы I также включены в данное изобретение.

В данном изобретении представлен способ снижения концентрации мочевой кислоты в крови, или увеличения выведения мочевой кислоты, у млекопитающего пациента, включающий введение пациенту соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в количестве, эффективном для снижения концентрации мочевой кислоты в крови, или увеличения выведения мочевой кислоты,

у пациента. В данном изобретении представлено применение биологически активного агента при производстве лекарственного средства для снижения концентрации мочевой кислоты в крови, или увеличения выведения мочевой кислоты, у млекопитающего, где агентом является соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль, и оно сформулировано для введения в количестве, эффективном для снижения концентрации мочевой кислоты в крови, или увеличения выведения мочевой кислоты, у пациента. В этом изобретении представлена фармацевтическая композиция для применения для снижения концентрации мочевой кислоты в крови, или увеличения выведения мочевой кислоты, у млекопитающего пациента, содержащая соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль в количестве, эффективном для снижения концентрации мочевой кислоты в крови, или увеличения выведения мочевой кислоты, у пациента. В данном изобретении представлен набор, содержащий одну или более единичных пероральных доз соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, и инструкции по введению соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли для снижения концентрации мочевой кислоты в крови, или увеличения выведения мочевой кислоты, у млекопитающего пациента.

Описанное здесь снижение мочевой кислоты может применяться для лечения или профилактики множества состояний, включая подагру (любую из асимптоматической подагры, острого подагрического артрита, интеркритической подагры и хронической подагры с отложением солей), гиперурикемии, повышенных уровней мочевой кислоты, которые не соответствуют уровням, обычно соответствующим диагнозу гиперурикемии, дисфункции почек, камней в почках, сердечно-сосудистого заболевания, риска развития сердечно-сосудистого заболевания и других последствий гиперурикемии, ухудшения познавательной способности и ранней первичной гипертензии.

Данное изобретение основано на наблюдении, что соединение формулы I при введении человеку снижает уровень мочевой кислоты в крови человека и увеличивает выведение мочевой кислоты, как описано в примерах 1-5. В *in vivo* экспериментах применяют соединение, где R⁶ является O. Так как соединения CF и CR являются метаболитами соединения BI, полагают, что соединения формулы I, где R⁶ является водородом или гидроксигруппой, также будут снижать *in vivo* уровень мочевой кислоты в крови и увеличивать выведение мочевой кислоты. Данное изобретение также основано на наблюдении, что соединения формулы I, включая соединения, где R⁶ является O, водородом или гидроксигруппой, ингибируют URAT1 *in vitro*, как показано в примере 6.

Ингибирование URAT1 является общепринятой *in vitro* моделью снижения мочевой кислоты *in vivo*.

В данном изобретении также представлены следующие соединения, их фармацевтически приемлемые соли, сложные эфиры и пролекарства:

DQ	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метоксифенил)уксусная кислота;
EB	Метил 3-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-3-оксoproпаноат;
DR	2-(3-(2,6-дифторбензилокси)фенил)уксусная кислота;
DS	4-(3-(2,6-дихлорбензилокси)фенил)-4-оксobутановая кислота;
DT	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропановая кислота;
DU	2-(3-(4-трифторметил)бензилокси)фенил)уксусная кислота;
DV	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)бутановая кислота;
DW	2-(3-(3,5-диметилбензилокси)фенил)уксусная кислота;
DX	2-(3-(2,4-диметилбензилокси)фенил)уксусная кислота;
DY	2-(3-(2,6-диметоксibenзилокси)фенил)бутановая кислота;

DZ	2-(3-(бензилокси)фенил)уксусная кислота; и
EA	2-(2-(2,6-диметилбензилокси)фенил)уксусная кислота;
EC	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропановая кислота;
ED	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)бутановая кислота;
EE	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-2-метилпропановая кислота;
EF	1-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)циклопропанкарбоновая кислота;
EG	2-(3-(2-Хлор-6-метилбензилокси)фенил)уксусная кислота;
EH	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метилфенил)уксусная кислота;
EI	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-фторфенил)уксусная кислота.

ОПИСАНИЕ ФИГУР

Фигура 1: Соединение VI увеличивает выведение мочевой кислоты в мочу мышей, леченных ингибитором уриказы: оксонатом калия.

Фигура 2: Уровни МК (мочевой кислоты) в плазме в течение начального 24-часового периода у пациентов, получающих различные дозы соединения VI.

Фигура 3: Уровни МК (мочевой кислоты) в плазме в течение 24-часового периода на 7 день у пациентов, получающих различные дозы соединения VI.

Фигура 4: Калибровочная кривая соединения EH, AGILENT ЖХ-МС.

Фигура 5: Концентрация соединения EH в плазме крыс.

Фигура 6: Концентрация соединения EH в плазме мышей.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В данном описании термин “алкил” означает линейную или разветвленную алкильную группу. Алкильная группа, определенная как имеющая указанное количество атомов углерода, означает любую алкильную группу, содержащую указанное количество атомов углерода. Например, алкильной группой, содержащей три атома углерода, может быть пропил или изопропил; и алкильной группой, содержащей четыре атома углерода, может быть н-бутил, 1-метилпропил, 2-метилпропил или трет-бутил.

В данном описании термин “галоген” относится к одному или более из фтора, хлора и брома.

В данном описании термин “перфтор” в определениях перфторметил или перфторметокси означает, что рассматриваемая группа содержит атомы фтора вместо всех атомов водорода.

Связь между R^6 и атомом углерода, к которому он непосредственно присоединен, изображена на формуле I выше сплошной и пунктирной линиями. Это изображение указывает на то, что рассматриваемая связь может быть либо одинарной связью, если R^6 является водородом, метилом, этилом или гидроксигруппой, или двойной связью, если R^6 является O.

Звездочка в изображении формулы I выше указывает на возможный хиральный центр, и что атом углерода является хиральным, если R^6 и R^{12} являются разными, т.е. если R^6 является гидроксигруппой, метилом или этилом, и R^{12} является водородом, или если R^6 является водородом, гидроксигруппой или этилом, и R^{12} является метилом. В таких случаях в данном изобретении представлен рацемат, (R) энантиомер и (S) энантиомер соединений формулы I, все из которых считаются активными. В примерах синтеза рацемат указан волнистой связью. Смеси этих энантиомеров могут быть разделены с применением ВЭЖХ, например, как описано в Chirality 11:420-425 (1999).

Термин “пролекарство(а)” рассматриваемого соединения относится к другим соединениям, которые расщепляются, обычно *in vivo*, с получением рассматриваемого

соединения.

Определенные химические соединения обозначены здесь их химическим наименованием или двухбуквенным кодом, показанным ниже. Перечисленные ниже соединения включены в объем формулы I, показанной выше.

5

BI	4-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-4-оксомасляная кислота
CF	3-(2,6-диметилбензилокси)фенилуксусная кислота
CR	4-(3-(2,6-диметилбензилокси)-фенил)-4(R)-гидроксипропановая кислота
DQ	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метоксифенил)уксусная кислота
10 AN	4-(3-(2-Метилбензилокси)фенил)-4-оксипропановая кислота
AW	4-(3-(2,6-дифторбензилокси)фенил)-4-оксипропановая кислота
BJ	4-(3-(2-Фтор-6-метилбензилокси)фенил)-4-оксипропановая кислота
BP	4-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-2,2-диметил-4-оксипропановая кислота
BS	4-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропановая кислота
15 EB	Метил 3-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-3-оксопропанат
CD	5-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-5-оксопентановая кислота
CQ	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-2-оксоуксусная кислота
CK	5-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пентановая кислота
CM	3-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропановая кислота
DR	2-(3-(2,6-дифторбензилокси)фенил)уксусная кислота
20 DS	4-(3-(2,6-дихлорбензилокси)фенил)-4-оксипропановая кислота
DT	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропановая кислота
DU	2-(3-(4-трифторметил)бензилокси)фенил)уксусная кислота
DN	2-(3-(2,4-бис(трифторметил)бензилокси)фенил)уксусная кислота
DV	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропановая кислота
25 DW	2-(3-(3,5-диметилбензилокси)фенил)уксусная кислота
DX	2-(3-(2,4-диметилбензилокси)фенил)уксусная кислота
DY	2-(3-(2,6-диметоксибензилокси)фенил)уксусная кислота
DZ	2-(3-(бензилокси)фенил)уксусная кислота
VN	4-(3-(циклопропилметокси)фенил)-4-оксипропановая кислота
30 DP	4-(3-(2,6-диметилбензоилокси)фенил)-4-оксипропановая кислота
AB	4-(4-(2-метоксибензилокси)фенил)-4-оксипропановая кислота
AF	4-оксо-4-(4-(пиридин-2-илметокси)фенил)пропановая кислота
AG	4-(4-(бензилокси)фенил)-4-оксипропановая кислота
AN	4-(4-(2,6-дифторбензилокси)фенил)-4-оксипропановая кислота
AI	4-(4-(2-Хлорбензилокси)фенил)-4-оксипропановая кислота
35 AM	гидрохлорид 4-(4-(2-((2-фторбензил)(метил)амино)этокси)фенил)-4-оксипропановой кислоты
AT	4-(4-(2,5-диметилбензилокси)фенил)-4-оксипропановая кислота
AY	4-(4-(2-трифторметилбензилокси)фенил)-4-оксипропановая кислота
BM	4-(4-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-4-оксипропановая кислота
BT	4-(4-(2,6-диметилбензилокси)-3-метоксифенил)-4-оксипропановая кислота
40 DO	2-(4-(2,6-диметилбензилокси)фенил)уксусная кислота
EA	2-(2-(2,6-диметилбензилокси)фенил)уксусная кислота
EC	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропановая кислота
ED	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропановая кислота
EE	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-2-метилпропановая кислота
45 EF	1-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)циклопропанкарбоновая кислота
EG	2-(3-(2-Хлор-6-метилбензилокси)фенил)уксусная кислота
EN	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метилфенил)уксусная кислота
EI	2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-фторфенил)уксусная кислота

50

В данном описании промежуточный термин “содержащий” является открытым. Предложение, в котором используется данный термин, может включать элементы, дополняющие те, которые перечислены в предложении.

В предложениях слово “или” означает “и/или” если такое прочтение имеет смысл в

контексте. Таким образом, например, фраза “снижение концентрации мочевой кислоты в крови или увеличение выведения мочевой кислоты у млекопитающего пациента” эквивалентна фразе “снижение концентрации мочевой кислоты в крови и/или увеличение выведения мочевой кислоты у млекопитающего пациента”.

СОЕДИНЕНИЯ В СООТВЕТСТВИИ С ДАННЫМ ИЗОБРЕТЕНИЕМ

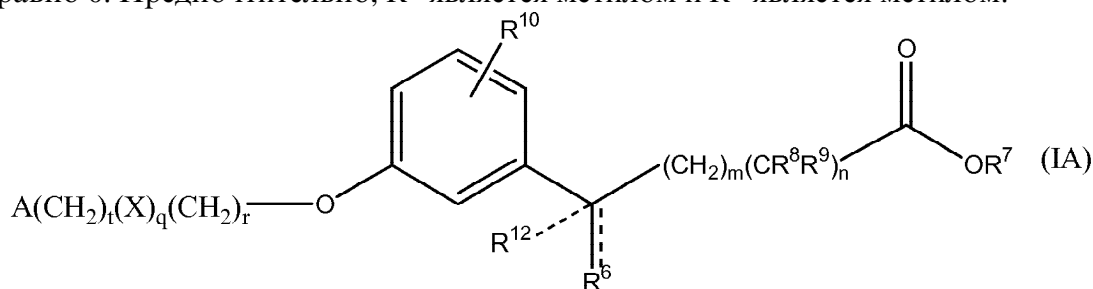
В одном варианте данного изобретения, описанном в разделе «Сущность изобретения» выше, А является замещенным (как определено выше) или незамещенным фенилом, например, 2,6-диметилфенилом. В других вариантах г равно 1, t равно 0 и q равно 0. В другом варианте R^{10} является метокси.

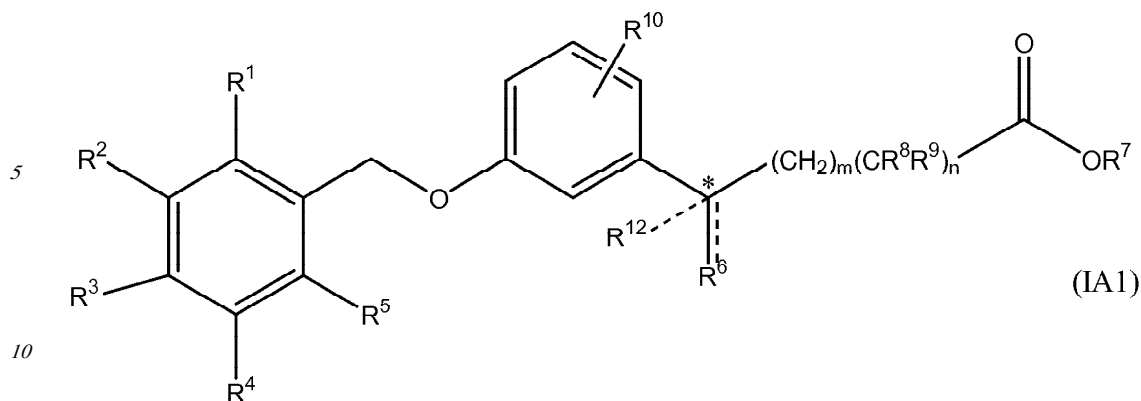
Два больших заместителя (т.е. отличных от R^{10}) вокруг центрального фенильного кольца могут быть расположены в положении орто, мета или пара по отношению друг к другу. Предпочтительно, они находятся в положении мета по отношению друг к другу.

В одном варианте формулы I, А является замещенным (как определено выше) или незамещенным фенилом, t равно 0, q равно 0, г равно 1, R^{10} является водородом, n равно 0, m равно 0, 2 или 4. В более конкретном варианте А является 2,6-диметилфенилом.

В одном варианте данного изобретения соединение представлено формулой IA. В более конкретном варианте соединение представлено формулой IA1. В формуле IA переменные такие, как определены выше. В формуле IA1 два из R^1 , R^2 , R^3 , R^4 и R^5 выбирают из группы, включающей водород, галоген, гидроксид, метил, этил, перфторметил, метокси, этокси и перфторметокси, остаток является водородом; и другие переменные такие, как определены выше. В более конкретных вариантах А является 2,6-диметилфенилом, т.е. R^1 является метилом и R^5 является метилом. Неограничивающие примеры соединений формулы I включают соединения AF, AG, AH, AT, BM, BT, DO и EA. Неограничивающие примеры соединений формулы IA включают соединения BH, DP и EG. Неограничивающие примеры соединений формулы IA1 включают соединения BI, CF, CR, DQ, AN, AW, BJ, BP, BS, EB, CD, CQ, CK, CM, DR, DS, DT, DU, DN, DV, DW, DX, DY и DZ, EB, EC, ED, EF, EH и EI.

В одном варианте формулы IA1 R^{10} является водородом, m равно 0, 2 или 4; и n равно 0. Предпочтительно, R^1 является метилом и R^5 является метилом.

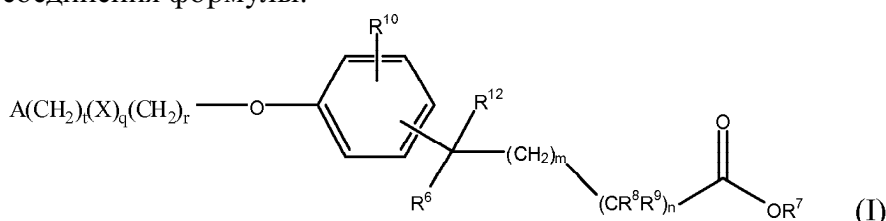




Соединения формулы I могут быть получены в соответствии со схемами реакций, представленными ниже. Кроме того, многие соединения формулы I могут быть получены способами, описанными в WO 02/100341, WO 04/073611, WO 04/091486, WO 04/098496, WO 07/087506, WO 07/146768 и PCT/US2009/030845, содержание которых включено сюда в качестве ссылки.

СХЕМЫ РЕАКЦИЙ

Соединение формулы I, где m равно 0, q равно 0 или 1, t равно 0 или 1 и r равно 0, 1 или 2, n равно 0, R¹⁰ является водородом, галогеном, алкокси, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, R⁶ является водородом или метилом, или этилом, и R¹² является водородом или метилом, или R⁶ и R¹² вместе образуют -CH₂CH₂-. Один из R⁸ и R⁹ является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и другой является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и X является C(O), r равно 0 и t равно 0; X является NH(R¹¹), где R¹¹ является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода. R⁷ является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



где A такой, как описан выше, могут быть получены согласно схеме реакций 1.

На схеме реакций 1 A, q, t, m, n, r, R⁶, R⁷, R¹⁰ и R¹² такие, как определены выше. R¹³ является алкильной группой, содержащей от 1 до 2 атомов углерода. R¹⁷ является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода, или бензильной группой. R¹⁴ является хлором или бромом, и Y является галогенидом.

Соединение формулы II может быть алкилировано соединением формулы III или соединением формулы (IV) реакцией стадии (a). Реакцию проводят в подходящем растворителе, таком как тетрагидрофуран, тетрагидрофуран/1,3-диметил-3,4,5,6-тетрагидро-2(1H)-пиримидинон, толуол, N,N-диметилформамид, тетрагидрофуран/гексаметилфосфорамид и подобные. В общем, реакцию проводят в присутствии от 2 до 3 молярных эквивалентов основания для получения соединения формулы V, где R⁶ является алкилом, содержащим от 1 до 2 атомов углерода, и R¹² является водородом, или от 4 до 6 молярных эквивалентов основания для получения соединения формулы V, где R⁶ и R¹² являются алкилом, содержащим от 1 до 2 атомов углерода, или вместе являются -CH₂CH₂-. Подходящим основанием для этой цели

может быть гидрид натрия, гидрид калия, гидроксид натрия, гидроксид тетрабутиламмония, бис(триметилсилил)амид калия, бис(триметилсилил)амид лития, диизопропиламид лития и подобные. При проведении этой реакции обычно предпочтительно применять водный раствор гидроксида тетрабутиламмония и водный гидроксид натрия. Реакция может проводиться при температуре от -78°C до 25°C в течение от 6 до 72 часов. Обычные методики, такие как экстракция, выпаривание, хроматография и перекристаллизация, могут применяться для очистки продукта. В случае, когда R⁶ и R¹² являются водородом, соединение формулы II может быть превращено в соединение формулы VI гидролизом нитрилов до кислоты без стадии алкилирования А.

Соединение формулы V может быть превращено в соединение формулы VI на стадии реакции (b) кислотным или щелочным гидролизом. При проведении этой реакции обычно предпочтительно применять щелочной гидролиз, например, водным гидроксидом натрия. Любые условия, обычно применяемые при гидролизе нитрилов для получения карбоновой кислоты, могут применяться для проведения реакции на стадии (b).

Соединение формулы VI может быть превращено в соединение формулы VII этерификацией соединения формулы VI с метанолом, этанолом или пропанолом. Реакция может проводиться либо с применением катализатора, например, H₂SO₄, TsOH и подобного, либо с применением дегидратирующего агента, например, дициклогексилкарбодиимида или подобного. Любые условия, применяемые в таких реакциях этерификации, могут применяться для проведения реакции стадии (c).

В случае, если X является C(O), соединение формулы VI может взаимодействовать с бензилбромидом в присутствии основания, например, триэтиламина, карбоната калия, с получением соединения формулы VII. Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях, могут применяться при проведении реакции на стадии (c). Соединение формулы VII может быть превращено в соединение формулы XI сначала деалкоксилированием с применением кислоты Льюиса, например, BBr₃ или BCl₃ в дихлорметане или хлороформе при низкой температуре, например, -78°C. Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях, могут применяться при проведении реакции стадии (d).

На второй стадии продукт стадии реакции (d) может быть превращен в соединение формулы XI реакцией стадии (e) через конденсацию Мицунобу с соединением IX с применением трифенилфосфина и диэтилазодикарбоксилата или диизопропилазодикарбоксилата. Реакцию проводят в подходящем растворителе, например, тетрагидрофуране. Любые условия, применяемые при реакциях Мицунобу, могут применяться для проведения реакции стадии (e).

В случае, когда X является C(O), соединение формулы VII может взаимодействовать с соединением формулы IX в присутствии дегидратирующего агента, например, дициклогексилкарбодиимида. Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях, могут применяться при проведении реакции стадии (e).

Соединение формулы XI также могут быть получены этерификацией или алкилированием гидроксила стадии (d) с соединением формулы X реакцией стадии (e). В соединении формулы X, Y, включают, но не ограничены ими, мезилокси, тозилокси, хлор, бром, йод и подобные. Любые обычные методы этерификации гидроксильной группы взаимодействием с уходящей группой могут применяться на стадии реакции (e).

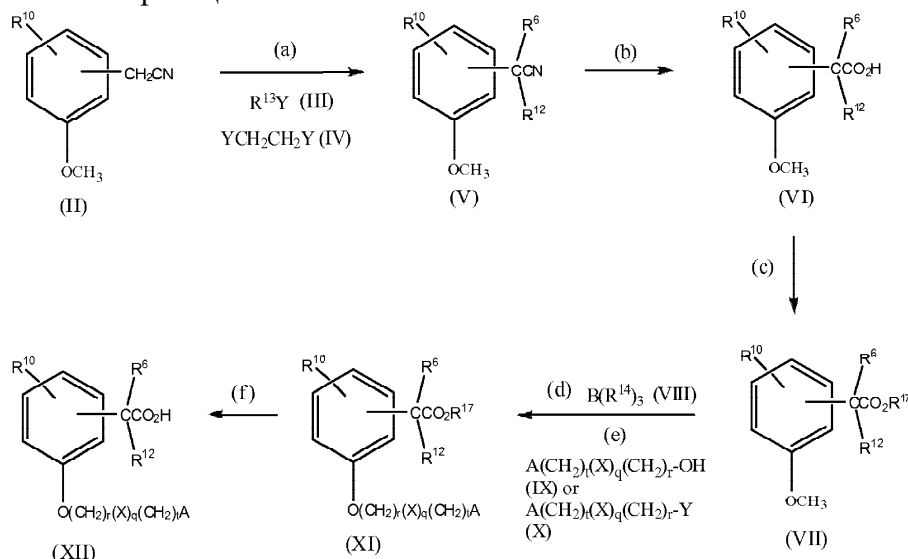
В случае, если X является C(O), соединение формулы VII может взаимодействовать с

соединением формулы X, где Y является хлором. Обычно реакцию проводят в присутствии основания, например, пиридина. Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях, могут применяться при проведении реакции стадии (e). Соединение формулы XI является соединением формулы I, где m равно 0, n равно 0 и R⁷ является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода. Соединение формулы XI может быть превращено в соединение формулы XII реакцией стадии (f), где m равно 0, n равно 0 и R⁷ является H, гидролизом сложного эфира. Любой обычный способ гидролиза сложного эфира дает соединение формулы I, где R⁷ является H.

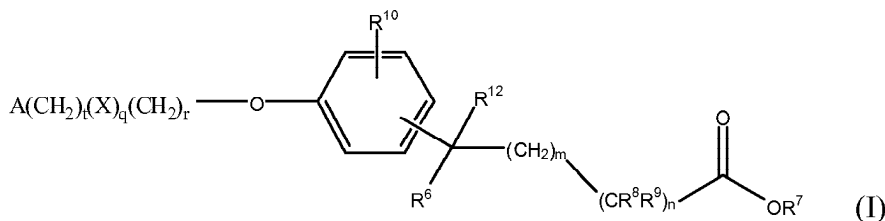
В случае, если X является C(O), бензильная группа может быть удалена каталитическим гидрированием с получением соединения формулы I, где R⁷ является H. Любые условия, применяемые для реакций каталитического гидрирования, могут применяться для получения соединения формулы I.

Если A является фенилом, замещенным 1 или 2 гидроксильными группами, обычно предпочтительно защищать гидроксильные группы. Подходящие защитные группы описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene. Защищенная группа может быть лишена защиты с применением подходящих агентов для снятия защиты, таких как описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene.

Схема реакций 1



Соединение формулы I, где m равно от 1 до 4, q равно 0 или 1, t равно 0 или 1 и r равно 0, 1 или 2, n равно 0, R¹⁰ является водородом, галогеном, алкокси, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, R⁶ является водородом или метилом, или этилом и R¹² является водородом или метилом или R⁶ и R¹² вместе образуют -CH₂CH₂-. Один из R⁸ и R⁹ является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и другой является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и X является C(O), r равно 0 и t равно 0; X является NH(R¹¹), где R¹¹ является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода. R⁷ является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



где А такой как описан выше, могут быть получены согласно схеме реакций 2.

На схеме реакций 2 А, q, t, m, r, R⁶, R⁷, R¹⁰ и R¹² такие, как определены выше, и Y является галогенидом. R¹⁷ является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода, или бензильной группой.

Соединение формулы VII может быть восстановлено до соединения формулы XIII реакцией стадии (g). Реакцию проводят с применением обычного восстанавливающего агента, например, гидрида щелочного металла, такого как алюмогидрид лития.

Реакцию проводят в подходящем растворителе, таком как тетрагидрофуран. Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях, могут применяться при проведении реакции стадии (g).

Соединение формулы XIII может быть превращено в соединение формулы XIV замещением гидроксильной группы галогеновой группой, где предпочтительным галогеном является бром или хлор. Подходящие галогенирующие реагенты включают, но не ограничены ими, тионилхлорид, бром, трибромид фосфора, четырехбромистый углерод и подобные. Любые условия, обычные для таких реакций галогенирования, могут применяться в реакции стадии (h).

Соединение формулы XIV может быть превращено в соединение формулы XV взаимодействием Y с цианидом щелочного металла, например, цианидом натрия, калия или меди. Реакцию проводят в подходящем растворителе, таком как этанол, диметилсульфоксид и подобные. Любые условия, обычно применяемые для получения нитрилов, могут применяться для проведения реакции стадии (i).

Соединение формулы XV может быть превращено в соединение формулы XVI реакцией стадии (j) кислотным или щелочным гидролизом. При проведении этой реакции обычно предпочтительно применять щелочной гидролиз, например, гидроксид натрия в этаноле, тетрагидрофуране:воде и подобные. Любые условия, обычно применяемые для гидролиза нитрила, могут применяться для проведения реакции стадии (j).

Соединение формулы XVI может быть превращено в соединение формулы XVII реакцией стадии (k) по методике, описанной выше для реакции стадии (c).

Соединение формулы XVII может быть превращено в соединение формулы XVIII реакцией стадии (l) по методике, описанной выше для реакции стадии (d) и реакции стадии (e).

Соединение формулы XVIII является соединением формулы I, где m равно 1, n равно 0 и R⁷ является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода.

Соединение формулы XVIII может быть превращено в соединение формулы I, где m равно 1, n равно 0 и R⁷ является H, по методике, описанной выше для реакции стадии (f).

Соединение формулы XIV может взаимодействовать с диэтилмалонатом с применением подходящего основания, например, гидрида натрия, с получением соединения формулы XIX. Реакцию проводят в подходящем растворителе, таком как N,N-диметилформамид, тетрагидрофуран и подобные. Любые условия, обычно применяемые для реакций алкилирования, могут применяться для проведения реакции

стадии (m).

Соединение формулы XIX может быть гидролизровано и декарбоксилировано с применением гидроксида натрия в подходящем растворителе, таком как этанол-вода, с получением соединения формулы XX. Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях, могут применяться при проведении реакции стадии (n). Соединение формулы XX может быть превращено в соединение формулы XXI реакцией стадии (o) по методике, описанной выше для реакции стадии (c). Соединение формулы XXI может быть превращено в соединение формулы XXII реакцией стадии (p) по методике, описанной выше для реакции стадии (d) и реакции стадии (e).

Соединение формулы XXII является соединением формулы I, где m равно 2, n равно 0 и R^7 является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода. Соединение формулы XXII может быть превращено в соединение формулы I, где m равно 2, n равно 0 и R^7 является H, по методике, описанной выше для реакции стадии (f).

Соединение формулы XX может быть восстановлено с получением соединения формулы XXIII реакцией стадии (q). Эта реакция может проводиться по методике, описанной выше для реакции стадии (g).

Соединение формулы XXIII может быть превращено в соединение формулы XXIV реакцией стадии (r) по методике, описанной выше для реакции стадии (h).

Соединение формулы XXIV может быть превращено в соединение формулы XXV реакцией стадии (s) по методике, описанной выше для реакции стадии (i).

Соединение формулы XXV может быть превращено в соединение формулы XXVI реакцией стадии (t) по методике, описанной выше для реакции стадии (j).

Соединение формулы XXVI может быть превращено в соединение формулы XXVII реакцией стадии (u) по методике, описанной выше для реакции стадии (c).

Соединение формулы XXVII может быть превращено в соединение формулы XXVIII реакцией стадии (v) по методике, описанной выше для реакции стадии (d) и реакции стадии (e). Соединение формулы XXVIII является соединением формулы I, где m равно 3, n равно 0 и R^7 является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода. Соединение формулы XXVIII может быть превращено в соединение формулы I, где m равно 3, n равно 0 и R^7 является H, по методике, описанной выше для реакции стадии (f).

Соединение формулы XXIV может быть превращено в соединение формулы XXIX реакцией стадии (w) по методике, описанной выше для реакции стадии (m).

Соединение формулы XXIX может быть превращено в соединение формулы XXX реакцией стадии (x) по методике, описанной выше для реакции стадии (n).

Соединение формулы XXX может быть превращено в соединение формулы XXXI реакцией стадии (y) по методике, описанной выше для реакции стадии (c).

Соединение формулы XXXI может быть превращено в соединение формулы XXXII реакцией стадии (z) по методике, описанной выше для реакции стадии (d) и реакции стадии (e).

Соединение формулы XXXII является соединением формулы I, где m равно 4, n равно 0 и R^7 является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода.

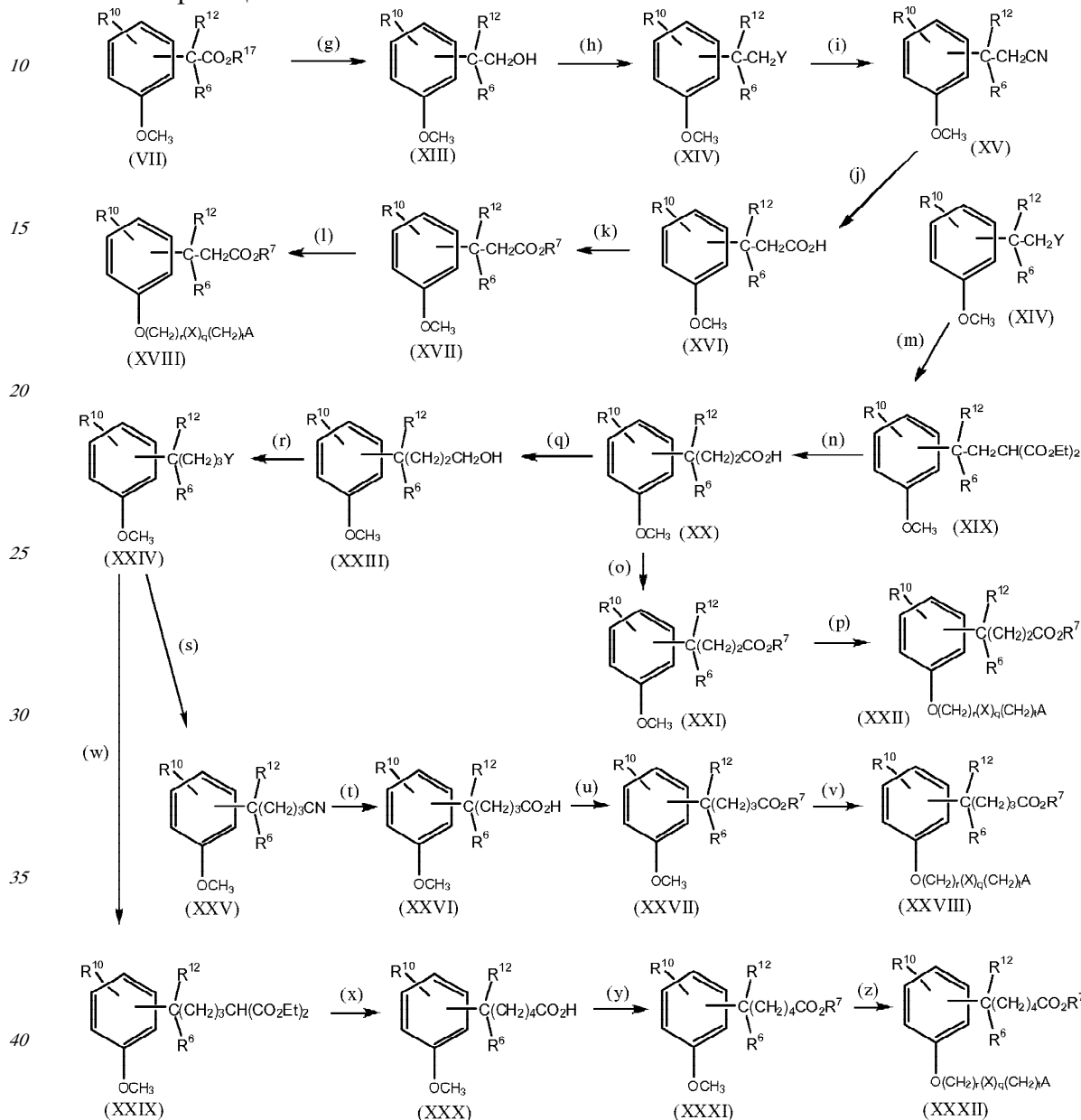
Соединение формулы XXXII может быть превращено в соединение формулы I, где m равно 4, n равно 0 и R^7 является H, по методике, описанной выше для реакции стадии (f).

Продукты на всех стадиях могут быть выделены и очищены методами, такими как

экстрагирование, выпаривание, хроматография и перекристаллизация.

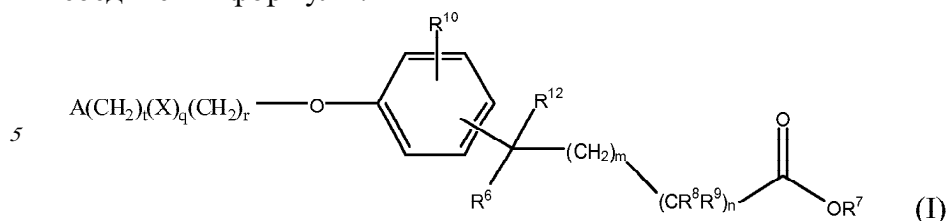
Если А является фенилом, замещенным 1 или 2 гидроксильными группами, обычно предпочтительно защищать гидроксильные группы. Подходящие защитные группы описаны в *Protective Groups in Organic Synthesis* by T. Greene. Защищенная группа может
 5 быть лишена защиты с применением подходящих агентов для снятия защиты, таких как описаны в *Protective Groups in Organic Synthesis* by T. Greene.

Схема реакций 2



Соединение формулы I, где m равно 0-3, q равно 0 или 1, t равно 0 или 1 и r равно 0, 1 или 2, n равно 1, R^{10} является водородом, галогеном, алкокси, содержащим от 1 до 3
 45 атомов углерода, или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, R^6 является водородом или метилом, или этилом, и R^{12} является водородом или метилом, или R^6 и R^{12} вместе являются $-CH_2CH_2-$. Один из R^8 и R^9 является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и другой является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и X является $C(O)$, r равно 0 и t равно 0; X является $NH(R^{11})$,
 50 где R^{11} является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода. R^7 является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е.

соединения формулы:



где А такой, как описан выше, может быть получен реакциями согласно схеме 3.

10 На схеме реакций 3 А, q, t, m, n, r, R⁷, R⁸, R⁹ и R¹⁰ такие, как определены выше, р равно 2-4, s равно 1-3 и Y является галогенидом. R¹³ является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода. R¹⁵ является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода, или бензильной группой.

15 Соединение формулы XXXIII может быть превращено в соединение формулы XXXV реакцией стадии (а') с применением реакции Виттига, обработкой соединения формулы XXXIII соединением формулы XXXIV. Любой подходящий метод взаимодействия альдегида с гидрогалогенидом триарилфосфина может применяться для проведения реакции стадии (а'). Любые условия, обычно применяемые в реакциях Виттига, могут применяться для проведения реакции стадии (а').

20 Соединение формулы XXXV может быть превращено в соединение формулы XXXVI восстановлением алкена каталитическим гидрированием в присутствии катализатора на основе переходного металла, например, никеля Ренея, палладия на угле, металлической платины или ее оксида, в атмосфере водорода. Любые условия, обычно применяемые для такого каталитического гидрирования, могут применяться для проведения реакции стадии (b').

30 Соединение формулы XXXVI может быть алкилировано соединением формулы III с получением соединения формулы XXXVII реакцией стадии (с'). Реакцию проводят в подходящем растворителе, таком как тетрагидрофуран, тетрагидрофуран/1,3-диметил-3,4,5,6-тетрагидро-2(1H)-пиримидинон, тетрагидрофуран/гексаметилфосфорамид и подобные. Обычно реакцию проводят в присутствии 2-3 молярных эквивалентов основания с получением соединения формулы XXXVII, где один из R⁸ и R⁹ является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, другой является водородом, или от 4 до 6 молярных эквивалентов основания, с получением соединения формулы XXXVII, где R⁸ и R⁹ являются алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода. Обычным основанием может быть бис(триметилсилил)амид калия, бис(триметилсилил)амид лития, диизопропиламид лития и подобные. Обычно реакцию проводят при температуре от -78°C до 25°C в течение от 6 до 72 часов. Обычные методики, такие как экстрагирование, выпаривание, хроматография и перекристаллизация, могут применяться для очистки продукта.

45 В соединении формулы XXXVII m равно 0-3 и n равно 1.

50 Соединение формулы XXXVII может быть превращено в соединение формулы XXXVIII деалкоксилированием с применением кислоты Льюиса, например, BBr₃ или BCl₃, в дихлорметане или хлороформе при низкой температуре, например, -78°C. Любые условия, обычно применяемые для таких реакций, могут применяться для проведения реакции стадии (d').

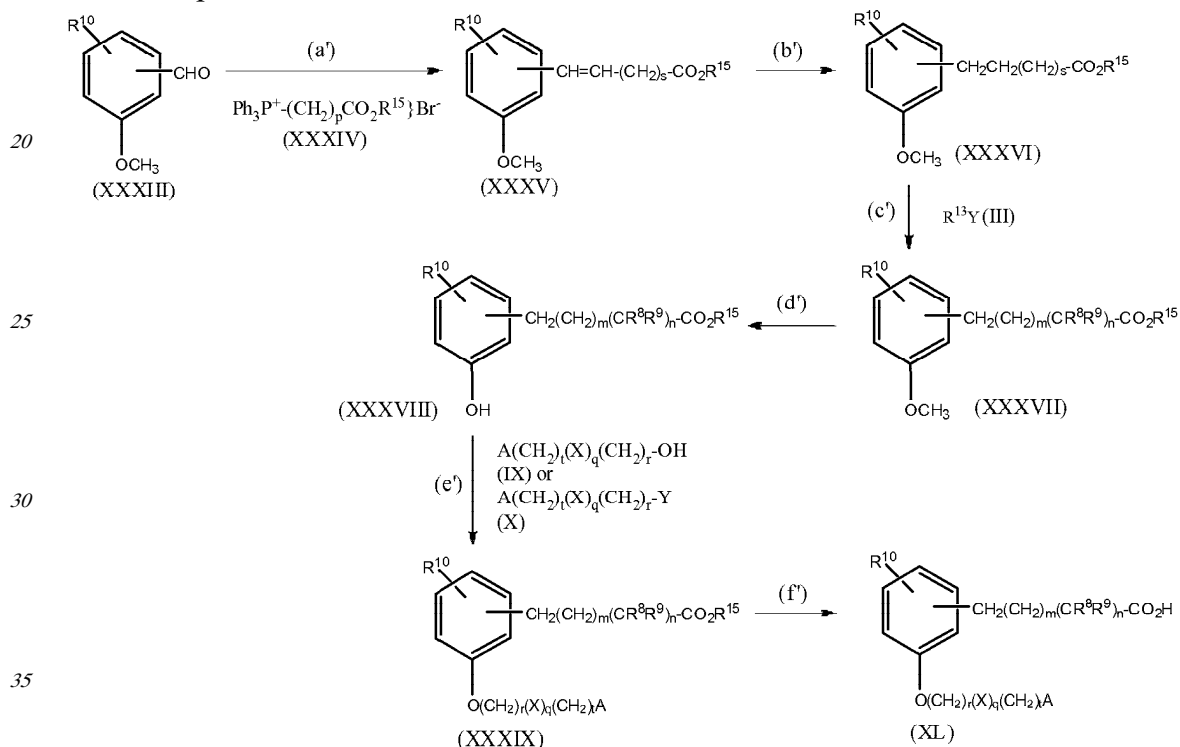
Соединение формулы XXXVIII может быть превращено в соединение формулы XXXIX реакцией стадии (e') по методике, описанной выше для реакции стадии (e).

Соединение формулы XXXIX является соединением формулы I, где m равно 0-3, n равно 1 и R^7 является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода. Соединение формулы XXXIX может быть превращено в соединение формулы XL

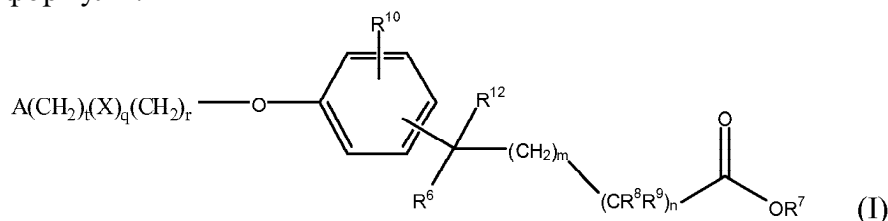
реакцией стадии (f') по методике, описанной выше для реакции стадии (f). Соединение XL является соединением формулы I, где m равно 0-3, n равно 1 и R^7 является H.

Обычные методы, такие как экстрагирование, выпаривание, хроматография и перекристаллизация, могут применяться для очистки продуктов. Если A является фенилом, замещенным 1 или 2 гидроксильными группами, обычно предпочтительно защищать гидроксильные группы. Подходящие защитные группы описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene. Защищенная группа может быть лишена защиты после реакции на стадии (e') с применением подходящих агентов для снятия защиты, таких как описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene.

Схема реакций 3



Соединение формулы I, где m равно 0, q равно 0 или 1, t равно 0 или 1 и r равно 0, 1 или 2, n равно 0, R^{10} является водородом, галогеном, алкокси, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, R^6 является O и R^{12} отсутствует, R^7 является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и один из R^8 и R^9 является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и другой является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и X является C(O), r равно 0 и t равно 0; X является NH(R^{11}), где R^{11} является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



где А такой, как описан выше, могут быть получены реакциями со схемы 4.

На схеме реакций 4 А, q, t, r, R⁷ и R¹⁰ такие, как определены выше. Y является уходящей группой. Соединение формулы XLI может быть превращено в соединение формулы XLII реакцией стадии (g') с применением конденсации Мицунобу, соединения XLI с соединением IX с применением трифенилфосфина и диэтилазодикарбоксилата или диизопропилазодикарбоксилата. Реакцию проводят в подходящем растворителе, например, тетрагидрофуране. Любые условия, обычно применяемые в реакциях Мицунобу, могут применяться для проведения реакции стадии (g').

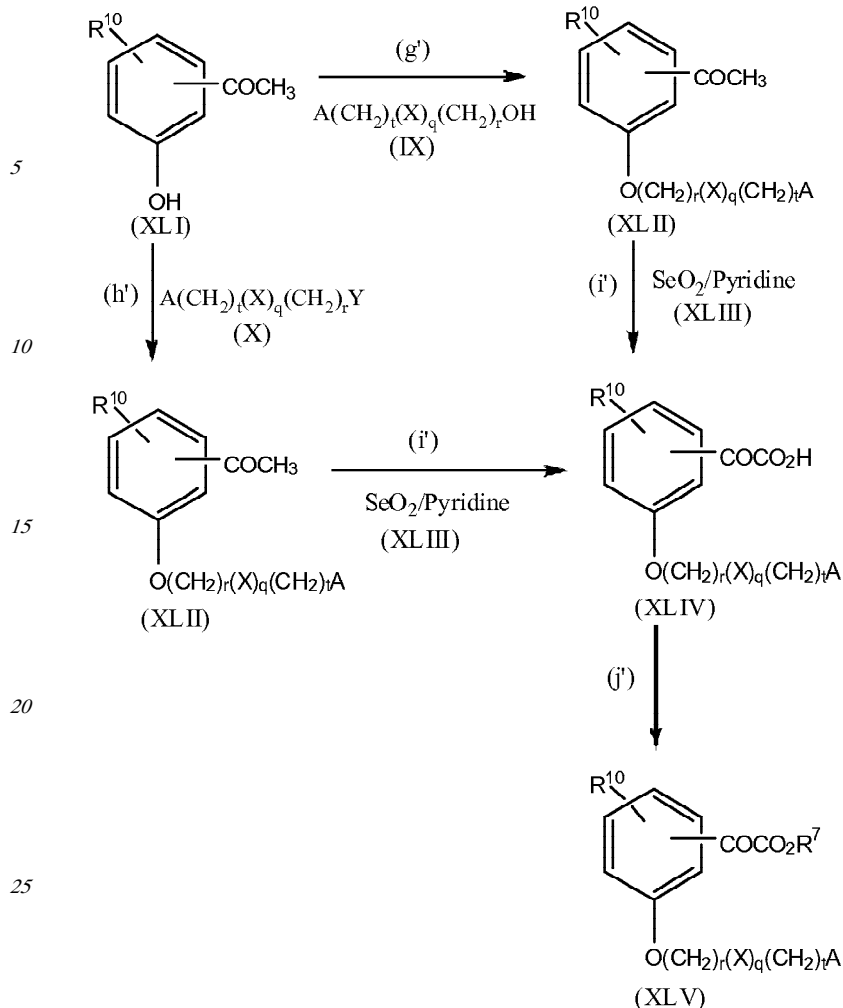
Соединение формулы XLII также может быть получено этерификацией или алкилированием соединения формулы XLI с соединением формулы X реакцией стадии (h') с применением подходящего основания, такого как карбонат калия, гидрид натрия, триэтиламин, пиридин и подобные. В соединении формулы X, Y включают, но не ограничены ими, мезилокси, тозилокси, хлор, бром, йод и подобные. Любые подходящие условия алкилирования гидроксильной группы уходящей группой могут применяться для проведения реакции стадии (h'). Реакция стадии (h') предпочтительна над реакцией стадии (g'), если соединение формулы X легко доступно. Соединение формулы XLII может быть превращено в соединение формулы XLIV реакцией стадии (i') окислением метильной группы двуокисью селена (XLII) в присутствии пиридина. Обычно реакцию проводят при температурах 25°C-100°C. Продукт может быть выделен и очищен такими методами, как экстракция, выпаривание, хроматография и перекристаллизация. Соединение формулы XLIV является соединением формулы I, где m равно 0, n равно 0, R⁶ является O, R¹² отсутствует и R⁷ является H.

Соединение формулы XLIV может быть превращено в соединение формулы XLV этерификацией соединения формулы XLIV метанолом, этанолом или пропанолом. Реакция может проводиться либо с применением катализатора, например, H₂SO₄, TsOH и подобных, либо с применением дегидратирующего агента, например, дициклогексилкарбодиимида и подобных. Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях этерификации, могут применяться для проведения реакции стадии (j').

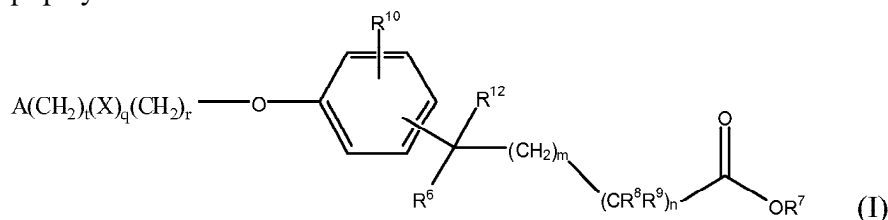
Соединение формулы XLV является соединением формулы I, где m равно 0, n равно 0 и R⁷ является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода. Продукт может быть выделен и очищен такими методами, как экстракция, выпаривание, хроматография и перекристаллизация.

Если А является фенилом, замещенным 1 или 2 гидроксильными группами, обычно предпочтительно защищать гидроксильные группы. Подходящие защитные группы описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene. Защищенная группа может быть лишена защиты с применением подходящих агентов для снятия защиты, таких как описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene.

Схема реакций 4



Соединение формулы I, где m равно 1, q равно 0 или 1, t равно 0 или 1, и r равно 0, 1 или 2, n равно 0, R^{10} является водородом, галогеном, алкокси, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, R^6 является O и R^{12} отсутствует, R^7 является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и один из R^8 и R^9 является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и другой является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и X является C(O), r равно 0 и t равно 0; X является NH(R^{11}), где R^{11} является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



где A такой, как описан выше, могут быть получены реакциями согласно схеме 5. На схеме реакций 5 A, q , t , r , R^7 и R^{10} такие, как определены выше. Y является уходящей группой.

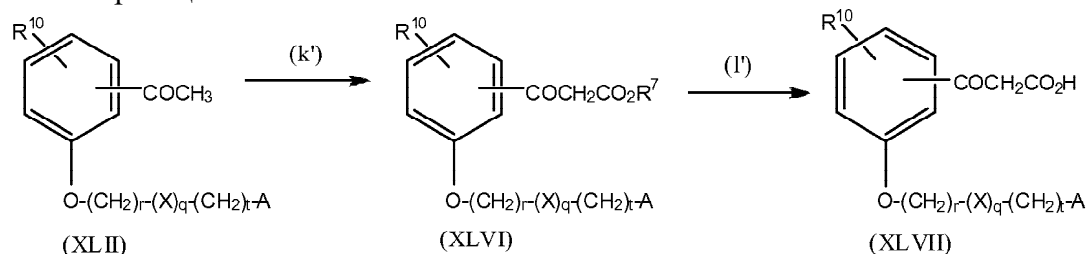
Соединение формулы XLII (полученное по методике, показанной на схеме реакций 4) может взаимодействовать с диалкилкарбонатом с применением реакции стадии (k') в присутствии подходящего основания, такого как гидрид натрия или подобные. Реакция может проводиться в обычных растворителях, таких как N,N'-

диметилформамид, тетрагидрофуран, дихлорметан и подобные, с последующим добавлением диалкилкарбоната, такого как диметил- или диэтил- или дипропилкарбонат, с получением соответствующего соединения формулы XLVI.

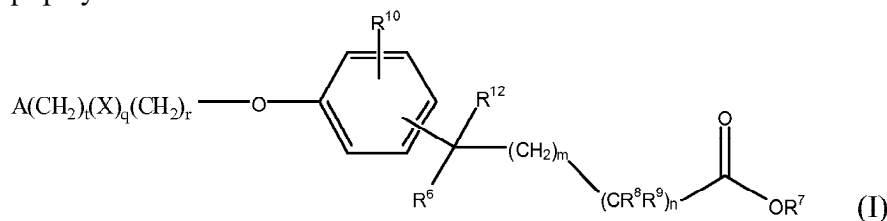
Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях алкилирования, могут применяться для проведения реакции стадии (k'). Соединение формулы XLVI является соединением формулы I, где m равно 1, n равно 0, R⁶ является O, R¹² отсутствует и R⁷ является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода. Соединение формулы XLVI может быть превращено в соединение формулы XLVII реакцией стадии (l') по методике, описанной выше для реакции стадии (f). Соединение формулы XLVII является соединением формулы I, где m равно 1, n равно 0 и R⁷ является H. Обычные методы, такие как экстрагирование, выпаривание, хроматография и перекристаллизация, могут применяться для очистки продуктов.

Если A является фенилом, замещенным 1 или 2 гидроксильными группами, обычно предпочтительно защищать гидроксильные группы. Подходящие защитные группы описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene. Защищенная группа может быть лишена защиты с применением подходящих агентов для снятия защиты, таких как описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene.

Схема реакций 5



Соединение формулы I, где m равно 2-4, q равно 0 или 1, t равно 0 или 1 и r равно 0, 1 или 2, n равно 0, R¹⁰ является водородом, галогеном, алкокси, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, R⁶ является O и R¹² отсутствует, R⁷ является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и один из R⁸ и R⁹ является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и другой является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и X является C(O), r равно 0 и t равно 0; X является NH(R¹¹), где R¹¹ является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



где A такой, как описан выше, могут быть получены реакциями согласно схеме 6.

На схеме реакций 6 A, t, r, q, R⁷ и R¹⁰ такие, как определены выше. R¹⁶ является алкильной группой, содержащей от 1 до 2 атомов углерода, или бензильной группой, и r равно 1-3. Соединение формулы XLII (полученное по методике, описанной в реакциях на схеме 4) может быть превращено в соединение формулы XLIX реакцией стадии (m') алкилированием соединения формулы XLII соединением формулы XLVIII. Эта реакция может проводиться в присутствии приблизительно молярного эквивалента обычного основания, которое превращает ацетофенон в сложный 3-

кетозфир (т.е. гамма-кетозфир). При проведении этой реакции обычно предпочтительно, но необязательно, применять соли щелочных металлов гексаметилдисилана, такой как бис(триметилсилил)амид лития и подобные. Обычно эту реакцию проводят в инертных растворителях, таких как тетрагидрофуран:1,3-диметил-3,4,5,6-тетрагидро-2(1H)-пиримидинон. Обычно реакцию проводят при температуре от -65°C до 25°C. Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях алкилирования, могут применяться для проведения реакции стадии (m').

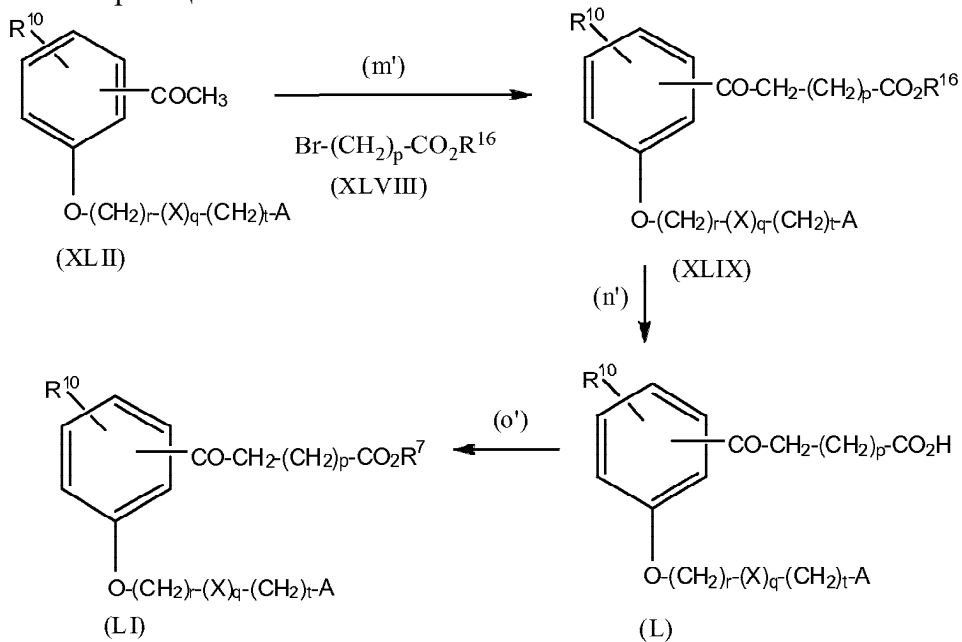
Соединение формулы XLIX может быть превращено в соединение формулы L реакцией стадии (n'), где X является NH(R¹¹), где R¹¹ является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и R⁷ является H, гидролизом сложного эфира, или соединение формулы L, где X является C(O) и r равно 0 и t равно 0 и R⁷ является H, каталитическим гидрированием. Любые обычные методы гидролиза сложного эфира и каталитического гидрирования для удаления бензильной группы могут применяться для получения соединения формулы L. Соединение формулы L является соединением формулы I, где m равно 2-4, n равно 0, R⁶ является O, R¹² отсутствует и R⁷ является H.

Соединение формулы L может быть превращено в соединение формулы LI реакцией стадии (o'), где R⁷ является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, по методике, описанной в реакции стадии (c). Соединение формулы LI является соединением формулы I, где m равно 2-4, n равно 0 и R⁷ является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода.

Обычные методы, такие как экстрагирование, выпаривание, хроматография и перекристаллизация, могут применяться для очистки продуктов.

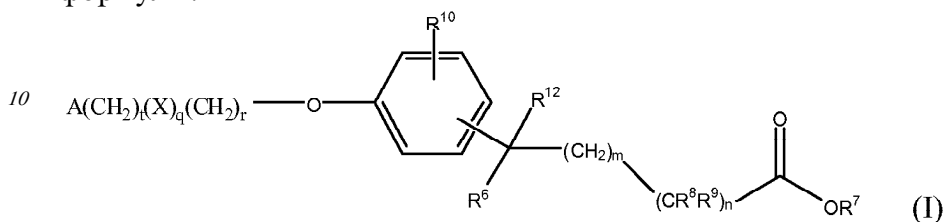
Если A является фенилом, замещенным 1 или 2 гидроксильными группами, обычно предпочтительно защищать гидроксильные группы. Подходящие защитные группы описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene. Защищенная группа может быть лишена защиты с применением подходящих агентов для снятия защиты, таких как описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene.

Схема реакций 6



Соединение формулы I, где m равно 0-3, q равно 0 или 1, t равно 0 или 1 и r равно 0, 1 или 2, n равно 1, R¹⁰ является водородом, галогеном, алкокси, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, R⁶ является O

и R^{12} отсутствует, R^7 является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и один из R^8 и R^9 является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и другой является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и X является $C(O)$, r равно 0 и t равно 0; X является $NH(R^{11})$, где R^{11} является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



где A такой, как описан выше, могут быть получены реакциями согласно схеме 7.

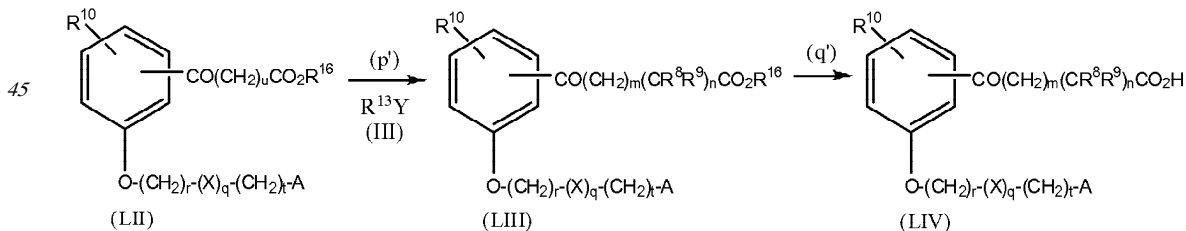
На схеме реакций 7 A , t , r , m , n , q , R^7 , R^8 , R^9 и R^{10} такие, как определены выше, и u равно 1-4. R^{16} является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода, или бензильной группой. R^{13} является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода, и Y является галогенидом.

Соединение формулы LII может быть превращено в соединение формулы LIII по методике, описанной выше на стадии реакции (с'). Соединение формулы LIII является соединением формулы I, где m равно 0-3, n равно 1 и R^7 является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода. Соединение формулы LIII может быть превращено в соединение формулы LIV реакцией стадии (q'), где X является $NH(R^{11})$, где R^{11} является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и R^7 является H , гидролизом сложного эфира, или соединение формулы LIV, где X является $C(O)$ и r равно 0 и t равно 0 и R^7 является H , каталитическим гидрированием. Любые обычные методы гидролиза сложного эфира и каталитического гидрирования могут применяться для получения соединения формулы LIV.

Соединение формулы LIV является соединением формулы I, где m равно 0-3, n равно 1, R^6 является O , R^{12} отсутствует и R^7 является H . Обычные методы, такие как экстрагирование, выпаривание, хроматография и перекристаллизация, могут применяться для очистки продуктов.

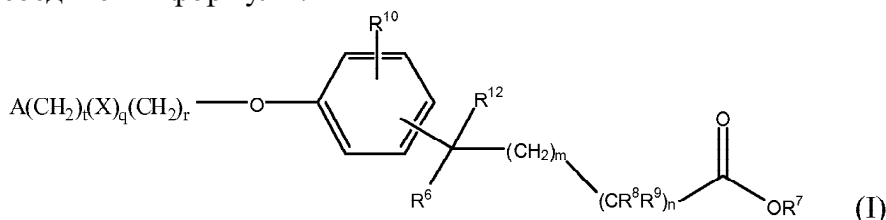
Если A является фенилом, замещенным 1 или 2 гидроксильными группами, обычно предпочтительно защищать гидроксильные группы. Подходящие защитные группы описаны в *Protective Groups in Organic Synthesis* by T. Greene. Защищенная группа может быть лишена защиты с применением подходящих агентов для снятия защиты, таких как описаны в *Protective Groups in Organic Synthesis* by T. Greene.

Схема реакций 7



Соединение формулы I, где m равно 0, q равно 0 или 1, t равно 0 или 1 и r равно 0, 1 или 2, n равно 0, R^{10} является водородом, галогеном, алкокси, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, R^6 является гидроксидом и R^{12} является водородом, R^7 является водородом или алкилом, содержащим

от 1 до 3 атомов углерода, и один из R^8 и R^9 является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и другой является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и X является C(O), r равно 0 и t равно 0; X является NH(R^{11}), где R^{11} является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



где A такой, как описан выше, могут быть получены реакциями согласно схеме 8.

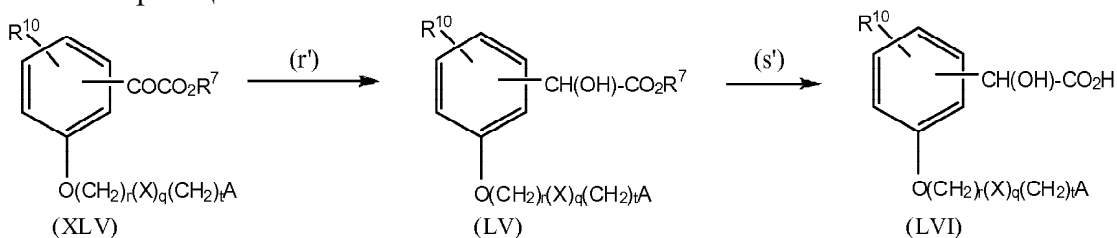
На схеме реакций 8 A, t, r, q, R^6 , R^7 и R^{10} такие, как определены выше.

Соединение формулы XLV (получают по методике, описанной в реакциях 4) может быть превращено в соединение формулы LV реакцией стадии (r') гидрированием альфа-кетокислоты с применением катализатора, например, родий{амидофосфин-фосфинит} (Tetrahedron: Asymmetry, Vol 8, No. 7, 1083-1099, 1997), $[Ru_2Cl_4(BINAP)_2](NEt_3)$ (EP-A-0 295 890) и подобные. Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях гидрирования, могут применяться для проведения реакции стадии (r'). Применение ВЭЖХ позволяет разделять рацемические смеси формулы LV. (Chirality 11:420-425 (1999)). Соединение формулы LV является соединением формулы I, где m равно 0, n равно 0, R^6 является гидроксилем, R^{12} является водородом и R^7 является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода. Соединение формулы LV может быть превращено в соединение формулы LVI, где R^7 является H, по методике, описанной для реакции стадии (f).

Соединение формулы LVI является соединением формулы I, где m равно 0, n равно 0 и R^7 является H. Продукт может быть выделен и очищен такими методами, как экстракция, выпаривание, хроматография и перекристаллизация.

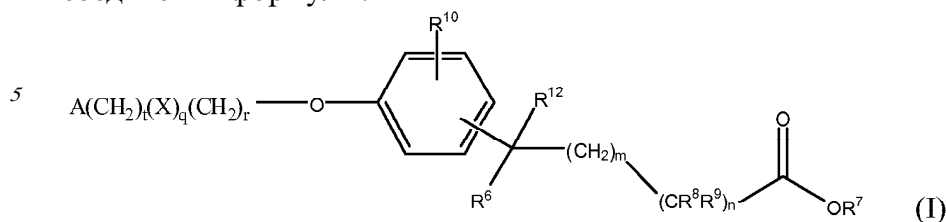
Если A является фенилом, замещенным 1 или 2 гидроксильными группами, обычно предпочтительно защищать гидроксильные группы. Подходящие защитные группы описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene. Защищенная группа может быть лишена защиты с применением подходящих агентов для снятия защиты, таких как описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene.

Схема реакций 8



Соединение формулы I, где m равно 1, q равно 0 или 1, t равно 0 или 1 и r равно 0, 1 или 2, n равно 0, R^{10} является водородом, галогеном, алкокси, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, R^6 является гидроксильным, и R^{12} является водородом, R^7 является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и один из R^8 и R^9 является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и другой является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и X является C(O), r равно 0 и t равно 0; X является NH(R^{11}), где R^{11}

является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединении формулы:



10 где А такой, как описан выше, могут быть получены реакциями согласно схеме 9.

На схеме реакций 9 А, t, r, q, R⁷ и R¹⁰ такие, как определены выше.

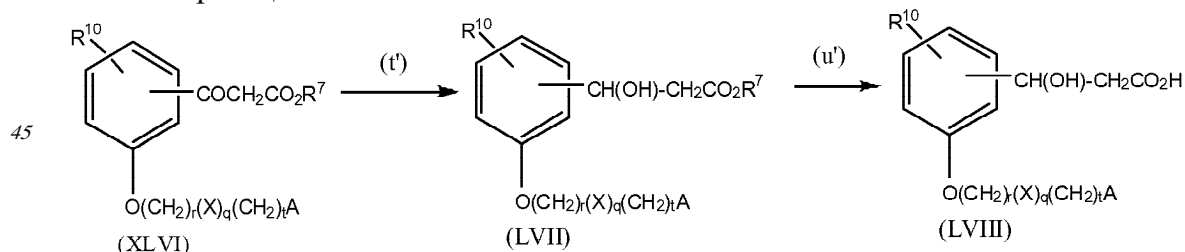
Соединение формулы XLVI (полученное по методике, описанной в реакциях на схеме 5) может быть превращено в соединение формулы LVII реакцией стадии (t') восстановлением бета-кетогруппы в спиртовую группу. Реакция может проводиться с применением обычного восстанавливающего агента, которые превращает кетон в спирт, например, реакция может проводиться гидрированием с применением катализатора на основе никеля Ренея, который обработан винной кислотой (Harada, T.; Izumi, Y. Chem Lett. 1978, 1195-1196) или гидрированием хиральным гомогенным рутениевым катализатором (Akutagawa, S.; Kitamura, M.; Kumobayashi, H.; Noyori, R.; Ohkuma, T.; Sayo, N.; Takaya, M. J. Am. Chem. Soc. 1987, 109, 5856-5858). Восстановление также может проводиться с применением боргидрида натрия в растворителях, таких как метанол, этанол и подобные. Обычно реакцию проводят при температурах от 0°C до 25°C. Рацемические смеси формулы LVII могут быть разделены с применением ВЭЖХ. (Chirality 11:420-425 (1999)).

Соединение формулы LVII является соединением формулы I, где m равно 1, n равно 0, R⁶ является гидроксилом, R¹² является водородом и R⁷ является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода.

30 Соединение формулы LVII может быть превращено в соединение формулы LVIII реакцией стадии (u'), где R⁷ является H, по методике, описанной в реакции стадии (f). Соединение формулы LVIII является соединением формулы I, где m равно 1, n равно 0 и R⁷ является H. Продукт может быть выделен и очищен такими методами, как экстракция, выпаривание, хроматография и перекристаллизация.

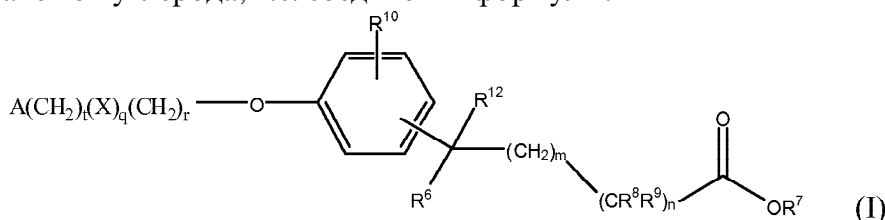
35 Если А является фенилом, замещенным 1 или 2 гидроксильными группами, обычно предпочтительно защищать гидроксильные группы. Подходящие защитные группы описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene. Защищенная группа может быть лишена защиты с применением подходящих агентов для снятия защиты, таких как описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene.

Схема реакций 9



50 Соединение формулы I, где m равно 2-4, q равно 0 или 1, t равно 0 или 1, и r равно 0, 1 или 2, n равно 0, R¹⁰ является водородом, галогеном, алкокси, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, R⁶ является гидроксидом, и R¹² является водородом, R⁷ является водородом или алкилом,

содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и один из R^8 и R^9 является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и другой является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и X является C(O), r равно 0 и t равно 0; X является $NH(R^{11})$, где R^{11} является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



где A такой, как описан выше, могут быть получены реакциями согласно схеме 10.

На схеме реакций 10 A, t, r, q, R^7 и R^{10} такие, как определены выше. R^{16} является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода, или бензильной группой, и r равно от 1 до 3.

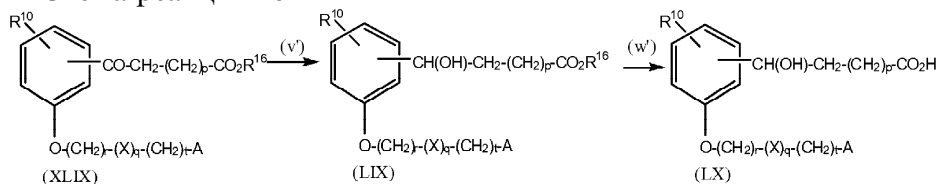
Соединение формулы XLIX (полученное по методике, описанной в реакциях на схеме б) может быть превращено в соединение формулы LIX реакцией стадии (v') восстановлением кетонной группы до спиртовой группы. Реакция может проводиться с применением обычного восстанавливающего агента, который превращает кетон в спирт. При проведении этой реакции обычно предпочтительно, но не обязательно, применять боргидрид натрия в качестве восстанавливающего агента. Обычно эту реакцию проводят в растворителях, таких как метанол, этанол и подобные. Обычно реакцию проводят при температурах от 0°C до 25°C. Продукт может быть выделен и очищен такими методами, как экстракция, выпаривание, хроматография и перекристаллизация.

Рацемические смеси формулы LIX могут быть отделены с применением ВЭЖХ. (Chirality 11:420-425 (1999)). Соединение формулы LIX является соединением формулы I, где m равно 2-4, n равно 0, R^6 является гидроксигруппой, R^{12} является водородом и R^7 является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода.

Соединение формулы LIX может быть превращено в соединение формулы LX, где R^7 является H, гидролизом сложного эфира или реакцией каталитического гидрирования стадии (w') по методике, описанной выше для реакции стадии (f). Любые обычные методы гидролиза сложного эфира или каталитического гидрирования могут давать соединение формулы I, где R^1 является H. Продукт может быть выделен и очищен такими методами, как экстракция, выпаривание, хроматография и перекристаллизация.

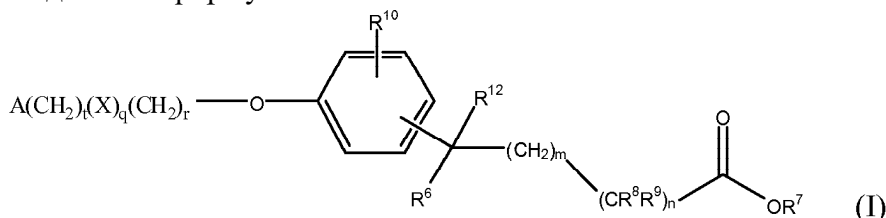
Если A является фенилом, замещенным 1 или 2 гидроксильными группами, обычно предпочтительно защищать гидроксильные группы. Подходящие защитные группы описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene. Защищенная группа может быть лишена защиты с применением подходящих агентов для снятия защиты, таких как описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene.

Схема реакций 10



Соединение формулы I, где m равно 0-3, q равно 0 или 1, t равно 0 или 1 и r равно 0,

1 или 2, n равно 1, R^{10} является водородом, галогеном, алкокси, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, R^6 является гидроксильной группой и R^{12} является водородом, R^7 является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и один из R^8 и R^9 является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и другой является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, и X является $C(O)$, r равно 0 и t равно 0; X является $NH(R^{11})$, где R^{11} является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



где A такой, как описан выше, могут быть получены реакциями согласно схеме 11.

На схеме реакций 11 A , t , r , q , R^7 , R^8 , R^9 и R^{10} такие, как определены выше.

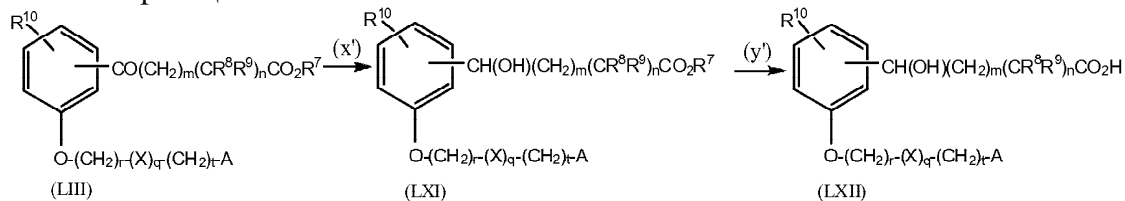
Соединение формулы LIII (полученное по методике, описанной в реакциях схемы 7) может быть превращено в соединение формулы LXI реакцией стадии (x') по методике, описанной выше для реакции стадии (v').

Рацемические смеси формулы LXI могут быть разделены с применением ВЭЖХ. (Chirality 11:420-425 (1999)). Соединение формулы LXI является соединением формулы I, где m равно 0-3, n равно 1, R^6 является гидроксильной группой, R^{12} является H и R^7 является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода.

Соединение формулы LXI может быть превращено в соединение формулы LXII, где R^7 является H , реакцией стадии (y') по методике, описанной выше для реакции стадии (f'). Соединение формулы LXII является соединением формулы I, где m равно 0-3, n равно 1, R^6 является гидроксильной группой, R^{12} является H и R^7 является H .

Продукт может быть выделен и очищен такими методами, как экстракция, выпаривание, хроматография и перекристаллизация. Если A является фенилом, замещенным 1 или 2 гидроксильными группами, обычно предпочтительно защищать гидроксильные группы. Подходящие защитные группы описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene. Защищенная группа может быть лишена защиты с применением подходящих агентов для снятия защиты, таких как описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene.

Схема реакций 11



Соединение формулы IX, где t равно 0 или 1, r равно 0, 1 или 2 и q равно 0, т.е. соединения формулы:



и соединение формулы X, где t равно 0 или 1, r равно 0, 1 или 2 и q равно 0, т.е. соединения формулы:

могут быть получены реакциями согласно схеме 12.

На схеме реакций 12 А такой, как описан выше. Y является уходящей группой.

5 Соединение формулы LXIII может быть восстановлено до соединения формулы LXIV реакцией стадии (z'). Реакцию проводят с применением обычного восстанавливающего агента, например, гидрида щелочного металла, такого как алюмогидрид лития. Реакцию проводят в подходящем растворителе, таком как
10 тетрагидрофуран. Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях восстановления, могут применяться для проведения реакции стадии (z'). Соединение формулы LXIV является соединением формулы IX, где t равно 0 и r равно 1.

Соединение формулы LXIV может быть превращено в соединение формулы LXV замещением гидроксильной группы галогеновой группой, где предпочтительным
15 галогеном является бром или хлор. Подходящие галогенирующие агенты включают, но не ограничены ими, тионилхлорид, бром, трибромид фосфора, четырехбромистый углерод и подобные. Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях галогенирования, могут применяться для проведения реакции стадии (a'').

Соединение формулы LXV является соединением формулы X, где t равно 0 и r
20 равно 1. Соединение формулы LXV может быть превращено в соединение формулы LXVI взаимодействием соединения LXV с цианидом щелочного металла, например, цианидом натрия или калия. Реакцию проводят в подходящем растворителе, таком как этанол, диметилсульфоксид. Любые условия, обычно
25 применяемые при получении нитрила, могут применяться для проведения реакции стадии (b'').

Соединение формулы LXVI может быть превращено в соединение формулы LXVII реакцией стадии (c'') кислотным или щелочным гидролизом. При проведении этой
30 реакции обычно предпочтительно применять щелочной гидролиз, например, водный гидроксид натрия. Любые условия, обычно применяемые в гидролизе нитрила, могут применяться для проведения реакции стадии (c'').

Соединение формулы LXVII может быть восстановлено с получением соединения формулы LXVIII реакцией стадии (d''). Эта реакция может проводиться по методике,
35 описанной выше для реакции стадии (z'). Соединение формулы LXVIII является соединением формулы IX, где t равно 1 и r равно 1.

Соединение формулы LXVIII может быть превращено в соединение формулы LXIX реакцией стадии (e'') по методике, описанной выше для реакции стадии (a''). Соединение
40 формулы LXIX является соединением формулы X, где t равно 1 и r равно 1.

Соединение формулы LXIX может быть превращено в соединение формулы LXX реакцией стадии (f'') по методике, описанной выше для реакции стадии (b''). Соединение
формулы LXX может быть гидролизовано кислотой или щелочью с получением соединения формулы LXXI реакцией стадии (g'').

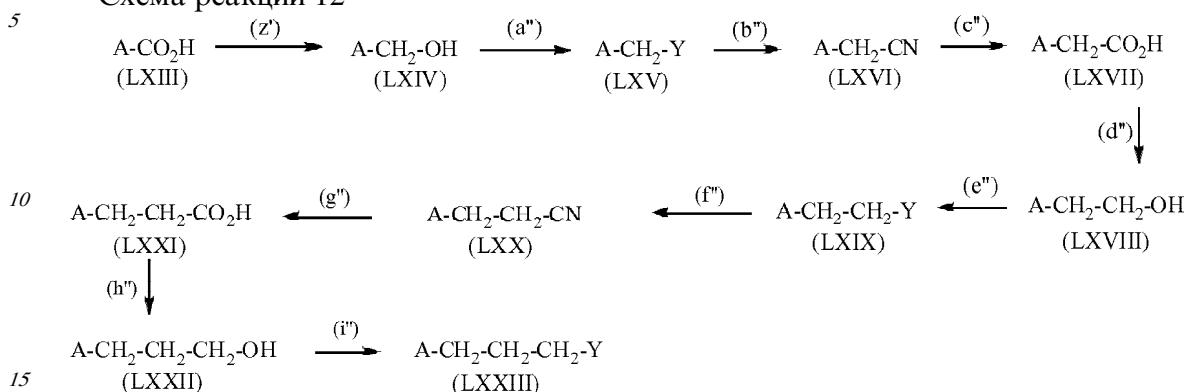
45 Соединение формулы LXXI может быть превращено в соединение формулы LXXII реакцией стадии (h'') по методике, описанной выше для реакции стадии (z'). Соединение формулы LXXII является соединением формулы IX, где t равно 1 и r равно 2.

Соединение формулы LXXII может быть превращено в соединение формулы LXXIII реакцией стадии (i'') по методике, описанной выше для реакции стадии (a''). Соединение
50 формулы LXXIII является соединением формулы X, где t равно 1 и r равно 2.

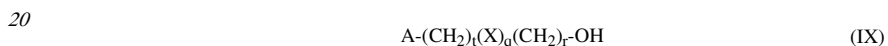
Продукт может быть выделен и очищен такими методами, как экстракция, выпаривание, хроматография и перекристаллизация. Если А является фенилом,

замещенным 1 или 2 гидроксильными группами, обычно предпочтительно защищать гидроксильные группы. Подходящие защитные группы описаны в *Protective Groups in Organic Synthesis* by T. Greene.

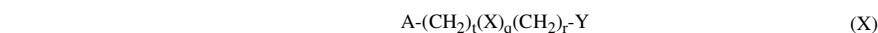
Схема реакций 12



Соединение формулы IX, где t равно 0 или 1, r равно 0, 1 или 2, q равно 1 и X является NH(R¹¹), где R¹¹ является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



и соединение формулы X, где t равно 0 или 1, r равно 0, 1 или 2, q равно 1 и X является NH(R¹¹), где R¹¹ является водородом или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



могут быть получены реакциями согласно схеме 13.

30 На схеме реакций 13 A, t, r и R¹¹ такие, как определены выше. Y является хлором или бромом. Соединение формулы LXXIV может быть мезилировано с получением соединения формулы LXXV реакцией стадии (j''). Любые обычные условия проведения реакции мезилирования гидроксильной группы могут применяться для проведения стадии (j''). Соединение формулы LXXV затем нагревают с соединением

35 формулы LXXVI с получением соединения формулы LXXVII. Любые условия, подходящие для получения аминспиртов, могут применяться для проведения реакции стадии (k''). Соединение формулы LXXVII является соединением формулы IX.

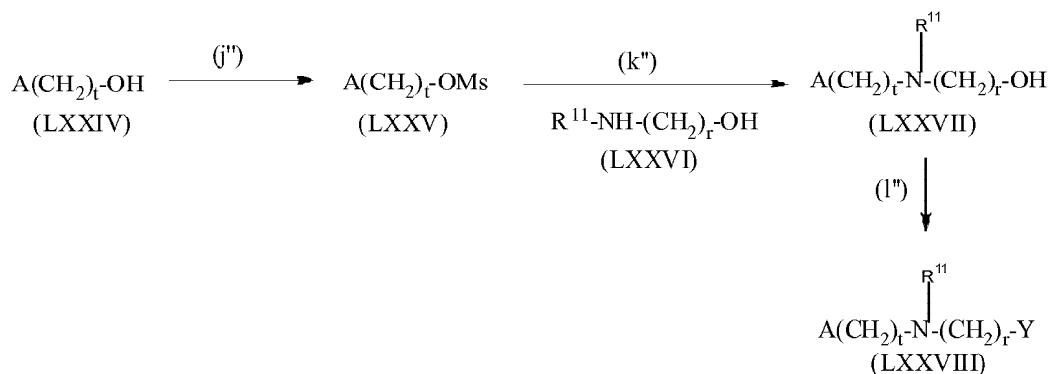
В соединении формулы LXXVII спирт может быть замещен хлором или бромом

40 обработкой соединения формулы LXXVII тионилхлоридом, бромом, трибромидом фосфора, оксалилхлоридом, четырехбромистым углеродом и подобными с получением соединения формулы LXXVIII. Любые обычные методы замещения спирта хлором или бромом могут применяться для проведения реакции стадии (l''). Соединение формулы LXXVIII является соединением формулы X.

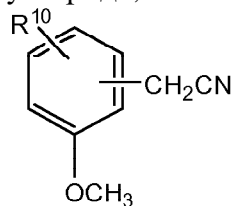
45 Если A является фенилом, замещенным 1 или 2 гидроксильными группами, обычно предпочтительно защищать гидроксильные группы. Подходящие защитные группы описаны в *Protective Groups in Organic Synthesis* by T. Greene. Защищенная группа может быть лишена защиты с применением подходящих агентов для снятия защиты, таких

50 как описаны в *Protective Groups in Organic Synthesis* by T. Greene.

Схема реакций 13



Соединение формулы II, где R¹⁰ является водородом, галогеном, алкокси, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



(II)

могут быть получены реакциями согласно схеме 14.

На схеме реакций 14 R¹⁰ такой, как описан выше. Y является галогенидом.

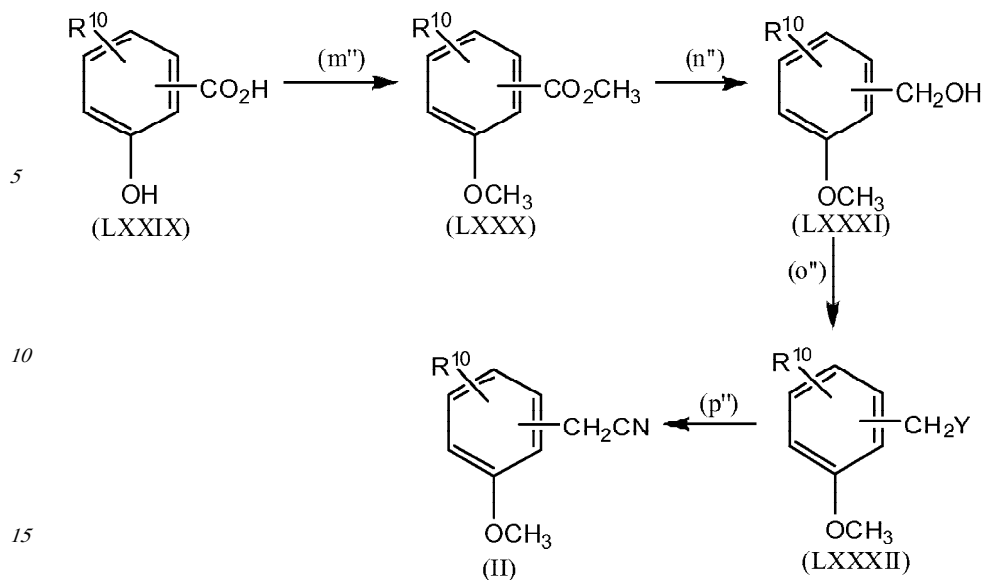
Соединение формулы LXXIX может быть превращено в соединение формулы LXXX реакцией стадии (m'') алкилированием карбоновой кислоты и спирта в присутствии основания, например, карбоната калия, с применением метилйодида в апротонном растворителе, например, N,N-диметилформамиде. Любые обычные условия такого алкилирования могут применяться для проведения реакции стадии (m'').

Соединение формулы LXXX может быть восстановлено с получением соединения формулы LXXXI реакцией стадии (n''). Реакцию проводят с применением обычного восстанавливающего агента, например, гидрида щелочного металла, такого как алюмогидрид лития. Реакцию проводят в подходящем растворителе, таком как тетрагидрофуран и подобные. Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях восстановления, могут применяться для проведения реакции стадии (n'').

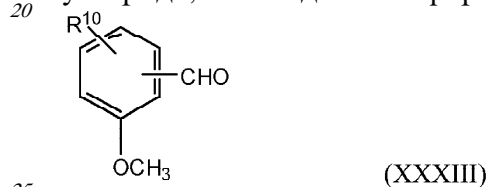
Соединение формулы LXXXI может быть превращено в соединение формулы LXXXII замещением гидроксильной группы галогеновой группой, где предпочтительным галогеном является бром или хлор. Подходящие галогенирующие агенты включают, но не ограничены ими, тионилхлорид, бром, трибромид фосфора, четырехбромистый углерод и подобные. Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях галогенирования, могут применяться для проведения реакции стадии (o'').

Соединение формулы LXXXII может быть превращено в соединение формулы II взаимодействием соединения LXXXII с цианидом щелочного металла, например, цианидом натрия, калия и меди. Реакцию проводят в подходящем растворителе, таком как этанол, диметилсульфоксид. Любые условия, обычно применяемые при получении нитрилов, могут применяться для проведения реакции стадии (p'').

Схема реакций 14



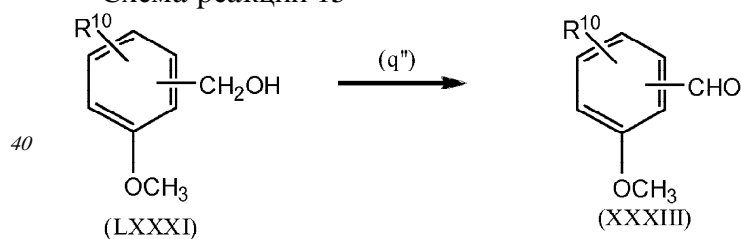
Соединение формулы XXXIII, где R^{10} является водородом, галогеном, алкокси, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



могут быть получены реакциями согласно схеме 15.

На схеме реакций 15 R^{10} такой, как описан выше. Соединение формулы LXXXI может быть превращено в соединение формулы XXXIII реакцией стадии (q'') окислением спирта до альдегида. Реакция может проводиться с применением подходящего окисляющего агента, например, хлорхромата пиридиния или диметилсульфоксида, активированного 2,4,6-трихлор[1,3,5]-триазином (циануровым хлоридом, ТСТ) в условиях окисления Сверна (J.O.C. 2001, 66, 7907-7909) и подобных. Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях окисления, могут применяться для проведения реакции стадии (q'').

Схема реакций 15



Соединение формулы XXXIV, где p равно 2-4 и R^{15} является алкильной группой, содержащей от 1 до 3 атомов углерода, или бензильной группой, т.е. соединения формулы:

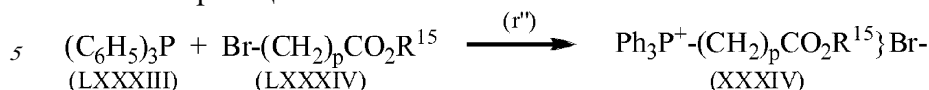


могут быть получены реакциями согласно схеме 16.

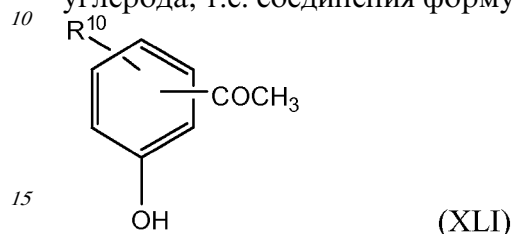
На схеме реакций 16 R^{15} и p такие, как определены выше. Соединение формулы LXXXIII может взаимодействовать с соединением формулы LXXXIV реакцией стадии (r'') с получением соединения формулы XXXIV. Любые условия,

обычно применяемые при взаимодействии трифенилфосфина с гидрогалогенидом, могут применяться для проведения реакции стадии (r'').

Схема реакций 16



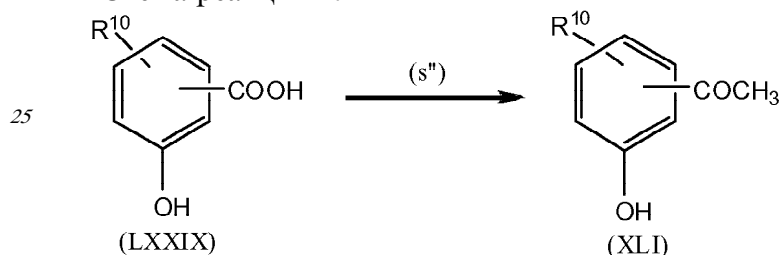
Соединение формулы XLI, где R¹⁰ является водородом, галогеном, алкокси, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, или алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



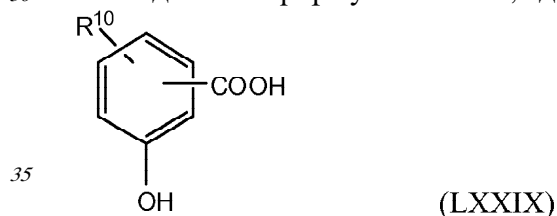
могут быть получены реакциями согласно схеме 17.

На схеме реакций 17 R¹⁰ такой, как определен выше. Соединение формулы XLI может быть синтезировано способом, описанным у George M Rubottom et al., J. Org. Chem. 1983, 48, 1550-1552.

Схема реакций 17



Соединение формулы LXXIX, где R¹⁰ является галогеном, т.е. соединения формулы:



либо коммерчески доступны, либо могут быть получены методами, описанными в следующей литературе:

1. 3-Br или F-2-OHC₆H₃CO₂H

Canadian Journal of Chemistry (2001), 79(11) 1541-1545.

2. 4-Br-2-OHC₆H₃CO₂H

WO 9916747 или JP 04154773.

3. 2-Br-6-OHC₆H₃CO₂H

JP 47039101.

4. 2-Br-3-OHC₆H₃CO₂H

WO 9628423.

5. 4-Br-3-OHC₆H₃CO₂H

WO 2001002388.

6. 3-Br-5-OHC₆H₃CO₂H

Journal of labelled Compounds and Radiopharmaceuticals (1992), 31 (3), 175-82.

7. 2-Br-5-OHC₆H₃CO₂H и 3-Cl-4-OHC₆H₃CO₂H

WO 9405153 и US 5519133.

8. 2-Br-4-OHC₆H₃CO₂H и 3-Br-4-OHC₆H₃CO₂H

WO 20022018323

9. 2-Cl-6-OHC₆H₃CO₂H

JP 06293700

10. 2-Cl-3-OHC₆H₃CO₂H

Proceedings of the Indiana Academy of Science (1983), Volume date 1982, 92, 145-51.

11. 3-Cl-5-OHC₆H₃CO₂H

WO 2002000633 и WO 2002044145.

12. 2-Cl-5-OHC₆H₃CO₂H

WO 9745400.

13. 5-I-2-OHC₆H₃CO₂H и 3-I, 2-OHC₆H₃CO₂H

Z. Chem. (1976), 16(8), 319-320.

14. 4-I-2-OHC₆H₃CO₂H

Journal of Chemical Research, Synopses (1994), (11), 405.

15. 6-I-2-OHC₆H₃CO₂H

US 4932999.

16. 2-I-3-OHC₆H₃CO₂H и 4-I-3-OHC₆H₃CO₂H

WO 9912928.

17. 5-I-3-OHC₆H₃CO₂H

J. Med. Chem. (1973), 16(6), 684-7.

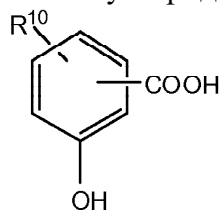
18. 2-I-4-OHC₆H₃CO₂H

Collection of Czechoslovak Chemical Communications, (1991), 56(2), 459-77.

19. 3-I-4-OHC₆H₃CO₂,

J.O.C. (1990), 55(18), 5287-91.

Соединение формулы LXXIX, где R¹⁰ является алкокси, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



(LXXIX)

могут быть синтезированы реакцией схемы 18.

В реакции схемы 18, R¹⁵ является алкильной группой, содержащей от 1 до 2 атомов углерода. R является гидроксильной защитной группой. Соединение формулы LXXXV может быть превращено в соединение формулы LXXXVI реакцией стадии (t'') защитой фенольной группы подходящей защитной группой. Подходящие условия для защиты группы могут быть описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T. Greene.

Соединение формулы LXXXVI может быть превращено в соединение формулы LXXXVII окислением альдегида до карбоновой кислоты. Реакция может проводиться с применением подходящих окисляющих реагентов, например, хлорхромата пиридиния, перманганата калия, перманганата натрия и подобных. Любые условия, подходящие для таких реакций окисления, могут применяться для проведения реакции стадии (u'').

Соединение формулы LXXXVII может быть превращено в соединение формулы LXXIX реакцией стадии (v''), где R¹⁰ является алкокси, имеющим 1 атом углерода, снятием защиты с защищенной группы. Подходящие условия снятия защиты

описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T Greene.

Соединение формулы LXXXVII может быть превращено в соединение формулы LXXXVIII обработкой соединения формулы LXXXVII трибромидом бора или трихлоридом бора с применением растворителя, например, дихлорметана, в течение от 4 до 48 часов при температуре от -72°C до 0°C . Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях, могут применяться для проведения реакции стадии (w'').

Соединение формулы LXXXVIII может быть превращено в соединение формулы LXXXIX этерификацией соединения формулы LXXXVIII метанолом или этанолом. Реакция может проводиться либо с применением катализаторов, например, H_2SO_4 , TsOH и подобных, либо с применением дегидратирующего агента, например, дициклогексилкарбодиимида и подобных. Любые условия, обычно применяемые в таких реакциях этерификации, могут применяться для проведения реакции стадии (x'').

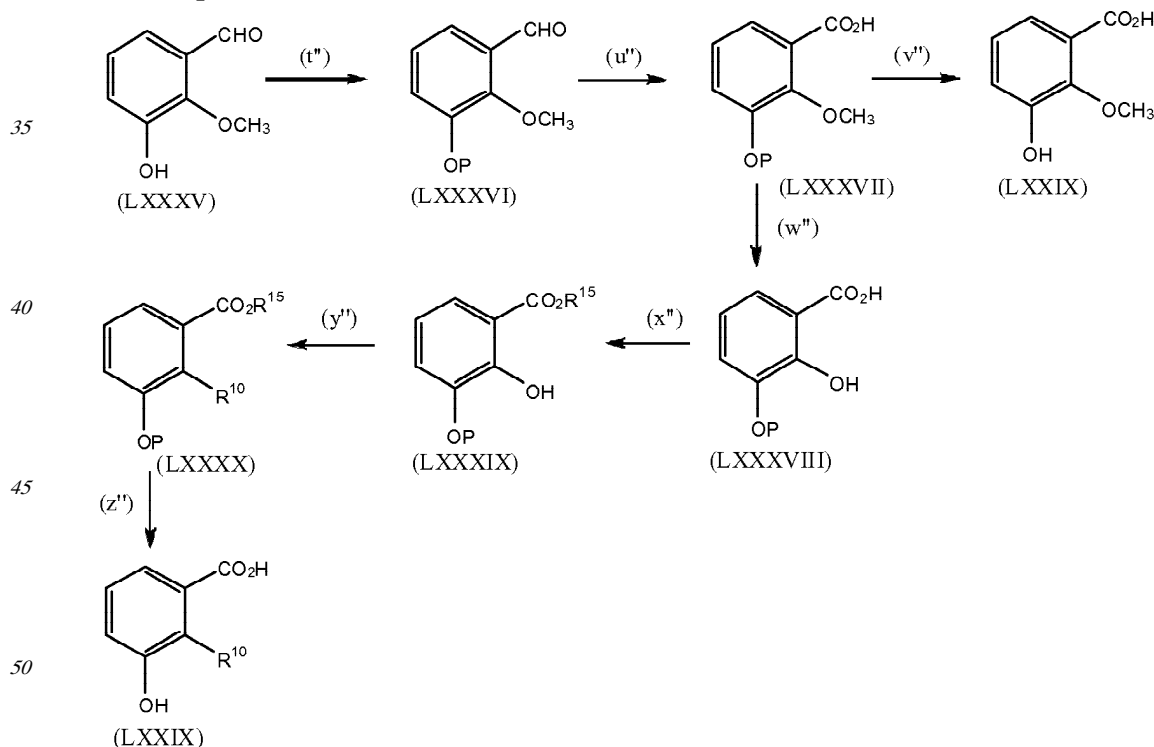
Соединение формулы LXXXIX может быть превращено в соединение формулы LXXXX этерификацией или алкилированием соединения формулы LXXXIX с алкилгалогенидом, имеющим от 2 до 3 атомов углерода, с применением подходящего основания, например, карбоната калия, гидрида натрия, пиридина и подобных.

Реакция может проводиться в обычных растворителях, таких как тетрагидрофуран, N,N-диметилформамид, дихлорметан и подобные. Реакцию обычно проводят при температуре от 0°C до 40°C . Любые условия, подходящие для таких реакций алкилирования, могут применяться для проведения реакции стадии (y'').

Соединение формулы LXXXX может быть превращено в соединение формулы LXXIX реакцией стадии (z''), где R^{10} является алкокси, имеющим от 2 до 3 атомов углерода, снятием защитной группы. Подходящие условия снятия защиты описаны в Protective Groups in Organic Synthesis by T Greene.

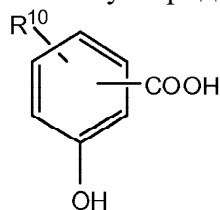
Продукт может быть выделен и очищен методами, такими как экстракция, выпаривание, хроматография и перекристаллизация.

Схема реакций 18



Соединение формулы LXXIX, где R^{10} является алкокси, содержащим от 1 до 3

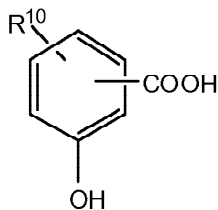
атомов углерода, т.е. соединения формулы:



либо коммерчески доступны, либо могут быть получены методами, описанными в следующей литературе:

1. 2-OMe-4-OHC₆H₃CO₂H
US 2001034343 или WO 9725992.
2. 5-OMe-3-OHC₆H₃CO₂H
J.O.C (2001), 66(23), 7883-88.
3. 2-OMe-5-OHC₆H₃CO₂H
US 6194406 (страница 96) и Journal of the American Chemical Society (1985), 107(8), 2571-3.
4. 3-OEt-5-OHC₆H₃CO₂H
Taiwan Kexue (1996), 49(1), 51-56.
5. 4-OEt-3-OHC₆H₃CO₂H
WO 9626176
6. 2-OEt-4-OHC₆H₃CO₂H
Takeda Kenkyusho Nempo (1965), 24,221-8.
JP 07070025.
7. 3-OEt-4-OHC₆H₃CO₂H
WO 9626176.
8. 3-OPr-2-OHC₆H₃CO₂H
JP 07206658, DE 2749518.
9. 4-OPr-2-OHC₆H₃CO₂H
Farmacia (Bucharest) (1970), 18(8), 461-6.
JP 08119959.
10. 2-OPr-5-OHC₆H₃CO₂H и 2-OEt-5-OHC₆H₃CO₂H
Адаптация синтеза из US 6194406 (страница 96) с применением пропилоксида и этилоксида.
11. 4-OPr-3-OHC₆H₃CO₂H
Адаптация синтеза из WO 9626176
12. 2-OPr-4-OHC₆H₃CO₂H
Адаптация синтеза из Takeda Kenkyusho Nempo (1965), 24,221-8 с применением пропилгалогенида.
13. 4-OEt-3-OHC₆H₃CO₂H
Biomedical Mass Spectrometry (1985), 12(4), 163-9.
14. 3-OPr-5-OHC₆H₃CO₂H
Адаптация синтеза из Taiwan Kexue (1996), 49(1), 51-56 с применением пропилгалогенида.

Соединение формулы LXXIX, где R¹⁰ является алкилом, содержащим от 1 до 3 атомов углерода, т.е. соединения формулы:



(LXXIX)

либо коммерчески доступны, либо могут быть получены методами, описанными в следующей литературе:

1. 5-Me-3-ОНС₆Н₃СО₂Н и 2-Me-5-ОНС₆Н₃СО₂Н

WO 9619437.

J.O.C. 2001, 66, 7883-88.

2. 2-Me-4-ОНС₆Н₃СО₂Н

WO 8503701.

3. 3-Et-2-ОНС₆Н₃СО₂Н и 5-Et-2-ОНС₆Н₃СО₂Н

J. Med. Chem. (1971), 14(3), 265.

4. 4-Et-2-ОНС₆Н₃СО₂Н

Yaoxue Xuebao (1998), 33(1), 67-71.

5. 2-Et-6-ОНС₆Н₃СО₂Н и 2-n-Pr-6-ОНС₆Н₃СО₂Н

J. Chem. Soc., Perkin Trans 1 (1979), (8), 2069-78.

6. 2-Et-3-ОНС₆Н₃СО₂Н

JP 10087489 и WO 9628423.

7. 4-Et-3-ОНС₆Н₃СО₂Н

J.O.C. 2001, 66, 7883-88.

WO 9504046.

8. 2-Et-5-ОНС₆Н₃СО₂Н

J.A.C.S (1974), 96(7), 2121-9.

9. 2-Et-4-ОНС₆Н₃СО₂Н и 3-Et-4-ОНС₆Н₃СО₂Н

JP 04282345.

10. 3-n-Pr-2-ОНС₆Н₃СО₂Н

J.O.C (1991), 56(14), 4525-29.

11. 4-n-Pr-2-ОНС₆Н₃СО₂Н

EP 279630.

12. 5-n-Pr-2-ОНС₆Н₃СО₂Н

J. Med. Chem (1981), 24(10), 1245-49.

13. 2-n-Pr-3-ОНС₆Н₃СО₂Н

WO 9509843 и WO 9628423.

14. 4-n-Pr-3-ОНС₆Н₃СО₂Н

WO 9504046.

15. 2-n-Pr-5-ОНС₆Н₃СО₂Н

Синтез может быть адаптирован из J.A.C.S (1974), 96(7), 2121-9 с применением этил альфа-формилвалерата.

16. 3-n-Pr-4-ОНС₆Н₃СО₂Н

Polymer (1991), 32(11) 2096-105.

17. 2-n-Pr-4-ОНС₆Н₃СО₂Н

3-Пропилфенол может быть метилирован до 3-пропиланизола, который затем формилируют до 4-метокси-3-бензальдегида. Альдегид может быть окислен с применением реагента Джонса с получением соответствующей кислоты, и снятием защиты с метильной группы с применением VBr₃, с получением указанного в

заголовке соединения.

18. 1. 3-Et-5-ОНС₆Н₃СО₂Н и 3-Pr-n-5-ОНС₆Н₃СО₂Н

Адаптация синтеза из J.O.C. 2001, 66, 7883-88 с применением 2-этилакролеина и 2-пропилакролеина.

5 ПРИМЕНЕНИЕ В СПОСОБАХ ЛЕЧЕНИЯ

В этом изобретении представлен способ снижения уровней мочевой кислоты у
млекопитающего пациента или увеличения выведения мочевой кислоты у
млекопитающего пациента. Уровень мочевой кислоты у млекопитающего может быть
10 определен с применением любого обычного средства. Обычно определяют уровень
мочевой кислоты в крови. Мочевая кислота также может отлагаться или осаждаться в
тканях, что вызывает образование депо (т.е. тофусы), на которые может влиять
повышение или понижение концентраций мочевой кислоты в крови, и которые,
наоборот, могут оказывать влияние на циркулирование мочевой кислоты. Способ в
15 соответствии с данным изобретением снижения мочевой кислоты может применяться
для лечения или профилактики множества состояний, включая подагру,
гиперурикемию, повышенные уровни мочевой кислоты, которые не соответствуют
уровням, обычно характерным для диагностики гиперурикемии, камни в почках,
20 почечную дисфункцию, сердечно-сосудистые заболевания, фактор риска сердечно-
сосудистых заболеваний и ухудшение познавательной способности. При снижении
уровней мочевой кислоты введение соединений формулы I замедляет развитие
заболеваний почек. Повышенный уровень мочевой кислоты идентифицирован как
фактор риска возникновения сердечно-сосудистых заболеваний. Значительная
25 корреляция была обнаружена между повышенной мочевой кислотой и ухудшением
познавательной способности у пожилых людей. (Schretlen, D.J. et al., "Serum Uric Acid
and Cognitive Function in Community-Dwelling Older Adults", Neuropsychology (Jan. 2007)
21(1): 136-140). Следовательно, способ в соответствии с данным изобретением
30 снижения мочевой кислоты может применяться для лечения или профилактики
ухудшения познавательной способности, включая ухудшение познавательной
способности у пожилых людей. Хорошо известно, что люди с синдромом Леша-
Найхана имеют повышенные уровни мочевой кислоты и страдают от множества
последствий такой гиперурикемии, включая подагру. Таким образом, данное
35 изобретение для снижения уровней в крови и увеличения выведения мочевой кислоты
может применяться для лечения людей с синдромом Леша-Найхана.

Обычный уровень мочевой кислоты в крови составляет от 3,4 мг/дл до 7,0 мг/дл у
мужчин, от 2,4 мг/дл до 6,0 мг/дл у предклимактерических женщин и от 2,5 мг/дл до 5,5
40 мг/дл у детей. Образование/осаждение кристаллов урата обычно возникает у мужчин
при уровне 6,6 мг/дл или выше, и у женщин при уровне 6,0 мг/дл или выше. Очевидно,
что уровни мочевой кислоты, которые попадают в так называемый нормальный
интервал, могут иметь нежелательные последствия для здоровья, даже приводить к
подагре. Кроме того, уровни, которые считаются нормальными для населения в
45 целом, могут быть повышенными для отдельных людей. Сердечно-сосудистые и
другие последствия повышенной мочевой кислоты могут возникать при уровнях в
крови, попадающих в эти «нормальные» интервалы. Поэтому диагноз гиперурикемия
не обязательно является предпосылкой для благоприятного действия соединений в
50 соответствии с данным изобретением.

Данное изобретение включает лечение гиперурикемии, связанной с подагрой,
гипертензией, воспалением сосудов, сердечной недостаточностью, артериально-
венозными расстройствами, инфарктом миокарда, ударом, преэклампсией,

эклампсией, апноэ во сне, почечной дисфункцией (включая почечную недостаточность, абсолютную почечную недостаточность [АПН]), трансплантацией органов, диуретиками, тиазидами, циклоспорином, аспирином, витамином С, никотиновой кислотой, леводопа (L-DOPA), цитотоксическими лекарственными средствами и определенными антибактериальными агентами (такими как пирозинамид), циррозом, дисфункцией щитовидной железы, дисфункцией паращитовидной железы, раком легких, анемией, лейкемией, лимфомой, множественной миеломой, синдромом распада опухоли, дисфункцией щитовидной железы или паращитовидной железы, синдромом Леша-Найхана, курением, потреблением алкоголя и псориазом. Это изобретение включает лечение гиперурикемии, которая может привести к подагре, образованию кристаллов урата, почечной дисфункции, отторжению трансплантата или трансплантата органа после трансплантации, расстройств эндотелия (таких как воспаление), хронической сердечной недостаточности, артериально-венозным расстройствам, преэклампсии, эклампсии, гипертензии и ухудшению познавательной способности. В вариантах способа в соответствии с данным изобретением для лечения подагры, отложения мочевой кислоты в тканях, включающих, но не ограниченных ими, тофусы, снижаются и тяжесть приступов подагры также снижается.

Соединение формулы I или его соль может вводиться любым обычным методом системного введения. Предпочтительно, они вводятся перорально. Предпочтительно, чтобы лекарственное средство было в форме для перорального введения. Другие пути введения, которые могут применяться в соответствии с данным изобретением, включают ректальный, парентеральный, инъекции (например, внутривенные, подкожные, внутримышечные или внутрибрюшинные инъекции) или назальный.

Другие варианты каждого применения и способа лечения данного изобретения включают введение любого из вариантов соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли. Во избежание ненужного многословия, каждый такой агент и группа агентов не повторяются, но они включены в описание применения и способов лечения, так как если бы они повторялись.

Люди и млекопитающие животные могут быть лечены в соответствии со способом лечения данного изобретения. Оптимальная доза конкретного активного агента для конкретного пациента может быть определена в клинических условиях специалистом в данной области. Для перорального введения соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль обычно вводят взрослым пациентам в суточной дозе от 1 мг до 2500 мг, более предпочтительно, от 1 мг до 1200 мг, более предпочтительно, от 400 мг до 1000 мг, более предпочтительно, от 600 мг до 800 мг, более предпочтительно, от 600 мг до 1000 мг, один или два раза в сутки. Средняя масса тела обычного взрослого человека составляет от 60 до 70 килограммов, поэтому подходящая доза, выраженная в мг/кг, приблизительно составляет от 0,015 до 42 мг/кг, более предпочтительно, от 0,015 до 20 мг/кг, более предпочтительно, от 6,6 до 13 мг/кг, более предпочтительно, от 10 до 13 мг/кг, более предпочтительно, от 10 до 16 мг/кг, при введении один или два раза в сутки. При лечении детей оптимальную дозу определяет лечащий врач. При пероральном введении мышам соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль обычно вводят в суточной дозе от 1 до 300 мг агента на килограмм массы тела. Из-за мощности соединения ЕН (см. пример 6, таблицу 6) перечисленные выше дозы должны быть снижены на коэффициент около 10.

Соединение формулы I или его фармацевтически приемлемая соль может вводиться в комбинации с другими лекарственными средствами для снижения мочевой кислоты.

В таких случаях доза соединения формулы I или его соли такая, как описана выше. Любые обычные или испытываемые лекарственные средства для снижения мочевой кислоты могут применяться в комбинации с соединениями формулы I. Примеры таких лекарственных средств включают ингибиторы ксантиноксидазы, такие как аллопуринол (от 100 мг/сутки до 1000 мг/сутки; более предпочтительно, от 100 мг/сутки до 300 мг/сутки), фебуксостат (от 40 мг/сутки до 120 мг/сутки; более конкретно, от 60 мг/сутки до 80 мг/сутки) и оксипуринол; пуриказу/ПЭГ-уриказу (от 4 мг до 12 мг каждые две недели вливанием); агенты, способствующие выведению мочевой кислоты, такие как сульфинпиразон (от 100 мг/сутки до 800 мг/сутки), пробенецид (500 мг/сутки), лозартан (от 25 мг/сутки до 200 мг/сутки, более конкретно, от 50 мг/сутки до 100 мг/сутки), фенофибрат, JTT-552 (ингибитор URAT-1), бензбромарон (от 70 мг/сутки до 150 мг/сутки), и статины, такие как аторвастатин (LIPITOR®). Другие лекарственные средства для снижения мочевой кислоты могут вводиться в обычном количестве или в количестве, которое меньше обычного количества, либо введением меньших доз такого другого лекарственного средства, либо снижением частоты дозирования другого лекарственного средства.

Соединения формулы I и их фармацевтически приемлемые соли могут вводиться вместе с другими лекарственными средствами для снижения боли, связанной с приступами подагры, например, нестероидными противовоспалительными лекарственными средствами (НСПВЛ), колхицином, кортикостероидами и анальгетиками.

В курсе снижения уровней мочевой кислоты в крови ожидается, что соединения формулы I будут повышать уровни мочевой кислоты в моче. Для повышения pH мочи и улучшения растворимости мочевой кислоты, цитрат или бикарбонат, например, могут вводиться в комбинации с соединением формулы I.

Смесь соединения или соли формулы I с одним или более другими агентами для снижения мочевой кислоты, анальгетиками и агентами, повышающими pH, может вводиться пациенту. Альтернативно, соединение или соль формулы I и один или более других агентов для снижения мочевой кислоты, анальгетиков и агентов, повышающих pH, не смешивают вместе с получением смеси, а вводят независимо пациенту. Если активные ингредиенты не смешивают вместе с получением единой смеси или композиции, удобно давать их в форме набора, содержащего одну или более единичных пероральных форм соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли, одну или более единичных пероральных форм других лекарственных средств для снижения мочевой кислоты, анальгетиков и агентов, повышающих pH, и инструкции по введению соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с другими активными ингредиентами. Предпочтительно, компоненты набора упаковывают вместе, в коробке или блистерной упаковке.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ

В данном изобретении представлена фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль, и, необязательно, фармацевтически приемлемый носитель. Другие варианты фармацевтической композиции в соответствии с данным изобретением включают любой из вариантов биологически активных агентов, описанных выше. Во избежание ненужного многословия каждый такой агент и группа агентов не повторяется, но они включены в это описание фармацевтических композиций так, как если бы они повторялись.

Предпочтительно, композиция адаптирована для перорального введения,

например, в виде таблетки, таблетки в оболочке, драже, твердой или мягкой желатиновой капсулы, раствора, эмульсии или суспензии. В общем, пероральная композиция содержит от 1 мг до 2500 мг, более предпочтительно от 1 мг до 1200 мг, предпочтительно от 400 мг до 1000 мг, более предпочтительно от 600 мг до 800 мг, более предпочтительно от 600 мг до 1000 мг соединения формулы I или его соли. Для пациента удобно проглатывать одну или две таблетки, таблетки в оболочке, драже или желатиновые капсулы в сутки. Однако композиция может быть адаптирована для введения любыми другими обычными методами системного введения, включая ректальный, например, в форме суппозитория, парентеральный, например, в форме инъекций растворов, или назальный.

Активные ингредиенты могут быть обработаны с фармацевтически инертными неорганическими или органическими носителями для получения фармацевтических композиций. Лактоза, кукурузный крахмал или его производные, тальк, стеариновая кислота или ее соли, и подобные могут применяться, например, в качестве таких носителей для таблеток, таблеток в оболочке, драже и твердых желатиновых капсул. Подходящие носители для мягких желатиновых капсул включают, например, растительные масла, парафины, жиры, полужидкие или жидкие многоатомные спирты и подобные. В зависимости от природы активного ингредиента, однако, другие носители для мягкой желатиновой капсулы обычно не требуются, кроме самой мягкой желатиновой капсулы. Подходящие носители для получения растворов и сиропов включают, например, воду, многоатомные спирты, глицерин, растительные масла и подобные. Подходящие носители для суппозитория включают, например, природные или отвержденные масла, полужидкие или жидкие многоатомные спирты и подобные.

Более того, фармацевтическая композиция может включать консерванты, солюбилизаторы, стабилизаторы, смачивающие агенты, эмульгаторы, подсластители, красители, вкусовые добавки, соли для изменения осмотического давления, буферы, оболочки или антиоксиданты.

Данное изобретение будет более понятно из представленных ниже примеров, которые иллюстрируют, но не ограничивают описанное здесь изобретение.

ПРИМЕРЫ

ПРИМЕР 1

Пять групп из 4 здоровых обычных мужчин и женщин получают одно пероральное введение увеличивающихся доз соединения VI ($n=3$ на группу) или капсулу плацебо ($n=1$ на группу) для проведения случайного двойного слепого клинического исследования. Уровни мочевой кислоты в крови измеряют до и через 24 часа после введения экспериментального лечения. Соединение VI вводят в дозах 50, 100, 200, 400 или 800 мг.

Введение одной дозы соединения VI дает значительное, зависимое от дозы снижение уровней мочевой кислоты. Уровни мочевой кислоты повышались у пациентов, принимающих плацебо (таблица 1).

Таблица 1

Процентное изменение уровней мочевой кислоты после одного введения экспериментального лечения

		Экспериментальное лечение (N)	Средний % изменения
Плацебо		(5)	+8,4
VI	50	(3)	-8,8
VI	100	(3)	-13,4
VI	200	(3)	-18,9
VI	400	(3)	-35,0
VI	800	(3)	-32,7

ПРИМЕР 2

Две группы из 8 здоровых обычных мужчин и женщин получают перорально либо 800 мг соединения VI один раз в сутки (n=6 в группе), либо 400 мг соединения VI два раза в сутки (n=6 в группе), либо капсулы плацебо (n=2 в группу) для проведения случайного двойного слепого клинического исследования. Уровни мочевой кислоты в крови измеряют до введения экспериментального лечения, через 24 часа после введения экспериментального лечения и через 7 последующих дней после введения экспериментального лечения.

Введение одной дозы соединения VI дает значительное снижение уровней мочевой кислоты в обеих группах пациентов, получающих соединение VI (таблица 2), как и ежедневное введение в течение 7 дней (таблица 3). Уровни мочевой кислоты у пациентов, получающих капсулы с плацебо, были повышены по сравнению с базовыми значениями через 24 часа после первого введения и не изменяются после получения плацебо ежедневно в течение 7 дней.

Таблица 2

Процентное изменение уровней мочевой кислоты после одного введения экспериментального лечения

Экспериментальное лечение (N)		Средний % изменения
Плацебо	(4)	+4,9
VI 400 2/сутки	(6)	-54,0
VI 800 1/сутки	(6)	-45,3

Таблица 3

Процентное изменение уровней мочевой кислоты после ежедневного введения экспериментального лечения в течение семи дней

Экспериментальное лечение (N)		Средний % изменения
Плацебо	(4)	+0,5
VI 400 2/сутки	(6)	-56,7
VI 800 1/сутки	(6)	-53,2

ПРИМЕР 3

Соединение VI увеличивает выведение мочевой кислоты в мочу мышей, обработанных ингибитором уриказы: оксонатом калия

Модель гиперурикемии включает применением ингибитора уриказы (уратоксидазы): оксоната калия, который вызывает задержку разложения мочевой кислоты до аллантаина. Человек имеет незначительную или отсутствие активности уриказы, поэтому ингибирование этого фермента оксонатом калия заставляет мышей перерабатывать мочевую кислоту практически так же, как человек. Самцов 11-недельных мышей C57/Bl6 (Harlan, Frederick, MD) применяют в исследованиях (8 на экспериментальную группу). Мыши получают стандартный корм для грызунов, который убирают за один час до введения оксоната калия. Мышам вводят внутрибрюшинную инъекцию (в.б.) оксоната калия (300 мг/кг), который суспендирован в 0,5% гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ). Через 90 минут мышам дают перорально аллопуринол (20 мг/кг; Sigma, Saint Louis, MO), бензбромарон (30 или 100 мг/кг; Sigma) или соединение VI (100 мг/кг) или носитель (1% ГПМЦ) и начинают сбор мочи. Мочу собирают через 1, 3 и 5 часов после введения лекарственного средства, и мочевую кислоту измеряют в колориметрическом анализе (BioVision Research Products, Mountain View, California).

В моче, собранной между 3 и 5 часами после введения лекарственного средства, соединение VI вызывает значительное увеличение выведенной мочевой кислоты по

сравнению с контрольной группой, получающей оксонат. Бензбромозон в обеих дозах также вызывает увеличение концентрации мочевой кислоты в моче, хотя в меньшей степени, чем соединение VI. Аллопуринол, который ингибирует синтез мочевой кислоты в печени и других тканях, снижает концентрацию мочевой кислоты в моче. (Таблица 4 и фигура 1).

Таблица 4	
Экспериментальная группа	Мочевая кислота в моче (мг/дл)
оксонат 300 мг/кг в.б. (контроль)	118±7
оксонат в.б. + соединение VI 100 мг/кг п.о.	293±13**
оксонат в.б. + аллопуринол 20 мг/кг п.о.	79±5
оксонат в.б. + бензбромозон 30 мг/кг п.о.	185±12*
оксонат в.б. + бензбромозон 100 мг/кг п.о.	173±8*
* = больше, чем в группе оксоната, P<.05	
** = больше чем в группах оксоната, бензбромарона или аллопуринола, P<.05	

ПРИМЕР 4

Образцы плазмы берут непосредственно до и через 1, 2, 4, 6, 12 и 24 часа после одного перорального введения тестируемого соединения 4 здоровым обычным мужчинам и женщинам в каждой из трех групп, как описано выше в примере 1, и анализируют для определения уровней мочевой кислоты. Соединение VI (n=3 на группу) или капсулы плацебо (n=1 на группу) вводят для проведения случайного двойного слепого клинического исследования. Образцы плазмы, взятые в моменты времени, указанные для пациентов, получающих соединение VI в дозах 200, 400 или 800 мг, хранят при -70°C и анализируют позже.

Введение одной дозы соединения VI дает значительное, зависимое от дозы снижение уровней мочевой кислоты во всех трех группах (фигура 2). Уровни мочевой кислоты повышены по сравнению с базовыми уровнями в течение 24-часового периода у пациентов, получающих плацебо. Уровни мочевой кислоты у пациентов, получающих плацебо, уверенно повышаются от базового уровня в течение 12 часов и затем снижаются до практически базового уровня через 24 часа, отражая ежедневный ритм уровней кислоты в плазме. Наоборот, уровни мочевой кислоты у всех пациентов, получающих соединение VI, снижаются до или почти до самых низких уровней для каждой группы в течение 6-часового периода времени. Уровни мочевой кислоты в группе, получающей самую высокую дозу соединения VI, были практически идентичны через 6 и 12 часов, и снижались далее между 12 и 24 часами.

Эти результаты показывают, что введение соединения VI может снижать уровни мочевой кислоты в течение 24-часового периода по сравнению с введением плацебо, и что введение самой высокой одной дозы соединения VI, 800 мг, дает самые низкие уровни мочевой кислоты в течение 24 часов.

ПРИМЕР 5

Шестнадцать мужчин и женщин, участвующих в клиническом исследовании, случайным образом получают либо капсулы плацебо (n=4 пациента), 400 мг соединения VI дважды в сутки (n=6 пациентов) или 800 мг соединения VI один раз в сутки (n=6 пациентов) в течение семи последовательных дней. Образцы плазмы, взятые до (время 0) и через 1, 2, 4, 9, 11, 13, 18 и 24 часа после начального введения тестируемого образца, на 7 день исследования хранят при -70°C и позже анализируют на мочевую кислоту (данный пример 5 является продолжением эксперимента, описанного в примере 2).

Уровни мочевой кислоты в обеих группах пациентов, получающих соединение VI,

были значительно снижены во время 0 на 7 день по сравнению с первым днем исследования и по сравнению с уровнями плацебо в любой день. Уровни мочевой кислоты в группах, леченных соединением VI, остаются значительно ниже значений для плацебо на 7 день (фигура 3).

Уровни мочевой кислоты на 7 день у пациентов, получающих капсулы плацебо ежедневно в течение 7 дней исследования фактически не поддаются влиянию плацебо и вполне сравнимы со значениями плацебо, полученными во время первого 24-часового периода исследования, описанного в примере 4, как можно видеть при сравнении фигуры 3 с фигурой 2. (пример 4/фигура 2 включает другую группу пациентов из примера 5/Фигура 3.)

Эти результаты показывают, что ежедневное введение соединения VI в течение семи дней снижает влияние мочевой кислоты на пациента даже в большей степени, чем наблюдалось при одном дне лечения.

ПРИМЕР 6

АНАЛИЗ ИНГИБИРОВАНИЯ URAT1

URAT1 (транспортёр мочевой кислоты 1) экспрессируется на апикальной мембране в почечных канальцах. Он медирует повторное поглощение мочевой кислоты из мочи в кровь. Ингибирование URAT1 приводит к увеличению выведения мочевой кислоты в мочу и поэтому считается потенциальным образом действия для лекарственных средств, которые снижают концентрации мочевой кислоты в сыворотке. Пробенецид и бензбромарон, например, клинически используют для лечения подагры и гиперурикемии, и они оба действуют на URAT1 для снижения повторного поглощения мочевой кислоты. Однако бензбромарон выведен с рынка из-за токсичности для печени через механизмы, независимые от URAT1, и пробенецид действует на множество транспортирующих белков, что вызывает взаимодействие с множеством других лекарственных средств.

In vitro анализ URAT1 применяют для идентификации соединений с потенциальным действием по снижению мочевой кислоты в сыворотке. Подходящее исследование включает трансфекцию клеток (например, клеток почек эмбриона человека; "НЕК") вектором, кодирующим человеческий URAT1, с последующим определением способности трансфицированных клеток принимать радиоактивно меченную мочевую кислоту. Активность соединений в качестве ингибиторов URAT1 оценивают по их способности блокировать поглощение мочевой кислоты трансфицированными клетками.

Тестируемые соединения и химические реагенты:

Бензбромарон (Sigma, Cat.No.B5774), пробенецид (Sigma, Cat.No.P8761)), ДМСО (Sigma, Cat.No.D-2650), [8-¹⁴C] урат (50-60 мКи/ммоль; American Radio Chemicals, Cat. No. ARC0513).

Субклонирование чURAT1 в вектор экспрессии:

Плазмидный вектор pCMV6-XL5, содержащий кДНК чURAT1 (Cat. No. SC125624) и вектор экспрессии pCMV6-Neo (Cat. No.pCMVNEO) получают от OriGene Technologies, Inc. кДНК чURAT1 полной длины получают из вектора pCMV6-XL5 и субклонируют в вектор экспрессии pCMV6-Neo для создания плазмиды экспрессии чURAT1 pCMV6-чURAT1. Последовательности подтверждают автоматическим секвенированием ДНК.

Культура клеток, трансфекция плазмид, экспрессирующих URAT1, и установление стабильно экспрессирующих НЕК клеток для чURAT1:

Клетки почек эмбриона человека 293 (НЕК) (ATCC, Cat No. CRL-1573) культивируют в ЕМЕМ с добавлением 10% ФБС и 2 мМ L-глутамин и инкубируют

при 37°C и 5% CO₂. Для экспериментов трансфекции клетки помещают на 60 мм чашки в 1 мл среды на чашку. Через 18-24 часового инкубирования клетки трансфицируют плазмидой pCMV6-чURAT1 или вектором экспрессии pCMV6-Neo, с применением агента трансфекции липофектина по инструкции
 5 производителя (Invitrogen, Cat.No.18292). После трансфекции клетки выращивают в среде EMEM в течение 72 часов и затем при добавлении 1 мг/мл генетина (GIBCO, Cat. No 10131) выбирают стабильные трансфектанты. Стабильные трансфектанты, экспрессирующие чURAT1 (далее обозначенные как клетки чURAT1-НЕК) или клетки,
 10 имеющие только вектор экспрессии pCMV6-Neo (далее обозначенные как клетки mock-НЕК) подтверждают с применением методов обратной транскрипции - полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР).

Анализ поглощения [8-¹⁴C] урата:

15 Клетки чURAT1-НЕК и клетки mock-НЕК помещают в поли-D-лизиновые 24-луночные планшеты для культивирования клеток (Becton Dickinson, Cat. No.354414) в концентрации 3×10^5 в среде EMEM и инкубируют в течение ночи. Реакционные растворы, содержащие [8-¹⁴C] урат (55 мКи/ммоль) в конечной концентрации 50 мкМ получают с или без тестируемых соединений в сбалансированном солевом растворе Хенка (HBSS), содержащем 125 мМ глюконата натрия, 4,8 мМ глюконата калия, 1,3 мМ кальция, 5,6 мМ глюкозы, 1,2 мМ сульфата магния, 1,2 мМ KН₂РO₄ и 25 мМ HEPES (pH 7,4). До начала исследования поглощения культуральную среду удаляют, и клетки инкубируют в течение 5 мин в 0,6 мл HBSS. После этого HBSS
 20 удаляют, полученные реакционные растворы добавляют в каждую лунку и инкубируют в течение 5 мин при комнатной температуре. Затем реакционный раствор удаляют, клетки дважды промывают 0,6 мл холодного HBSS и лизируют 0,2 мл 0,1 М NaOH в течение 20 мин. Лизаты клеток переносят в сцинтилляционные пробирки, содержащие 1 мл сцинтилляционной жидкости (Opti Phase SuperMIX, PerkinElmer, Cat
 30 No. 1200-439) и радиоактивность считывают на счетчике Microbeta (1450, Wallac Jet, PerkinElmer). Тестируемые соединения растворяют в ДМСО, и ту же концентрацию ДМСО добавляют в лунки с клетками mock-НЕК и клетками чURAT1-НЕК, которые не содержат тестируемых соединений. Для каждого тестируемого соединения исследование поглощения проводят 2 раза и в трех повторах. Поглощение урата клетками для каждого тестируемого соединения представлено как средний процент ингибирования по сравнению с ДМСО контролем. Значения радиоактивности, полученные для лунок, которые содержат ДМСО, берут как 100% поглощение клеток. Полученные данные концентрация - процент ингибирования подгоняют к
 40 сигмоидальной модели концентрация - эффект, где:

$$IC_{50}^{\wedge \text{наклон}} = [(100 * \text{конц.}^{\wedge \text{наклон}}) / \% \text{ ингибирования}] - \text{конц.}^{\wedge \text{наклон}}$$

Оценки IC₅₀ и наклона с 95% пределами достоверности определяют нелинейным регрессионным анализом методом наименьших квадратов с применением Data Analysis
 45 Toolbox™ (MDL Information Systems, San Leandro, CA, USA).

Для оценки активности соединений в качестве ингибиторов URAT1, процент ингибирования поглощения мочевой кислоты обычно определяют при концентрации лекарственного средства 10 микромоль (таблица 5). Дополнительные концентрации лекарственного средства тестируют для определения значений IC-50 для некоторых
 50 соединений (таблица 6).

Таблица 5

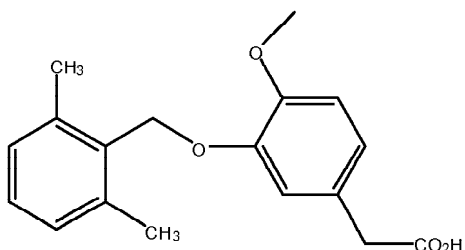
Ингибирующее действие тестируемых соединений в концентрации 10 мкМ на поглощение ¹⁴Сурата в клетках чURAT1-НЕК

	Тестируемое соединение	% ингибирования	Ст. откл.
5	AB	3,7	3,29
	AF	41,30	7,97
	AG	5,99	4,39
	AH	26,78	2,97
	AI	2,3	0,25
10	AM	0,0	0,0
	AN	54,44	3,47
	AT	7,95	2,60
	AW	61,93	1,61
	AY	8,9	2,14
15	BH	62,40	5,47
	BI	86,07	0,46
	BJ	81,76	1,41
	BM	22,21	2,20
	BP	76,50	4,63
20	BS	28,60	6,38
	BT	51,80	2,55
	CF	96,50	1,13
	EB	21,57	0,48
	CD	63,5	0,44
25	CQ	84,84	0,36
	DP	60,51	1,24
	CK	88,00	0,84
	CM	88,96	1,18
	CR	60,60	3,70
30	DR	68,30	0,47
	DS	75,00	1,00
	DT	89,12	0,48
	DU	30,52	2,10
	DN	45,38	0,79
35	DV	79,55	0,79
	DO	80,30	0,29
	DQ	99,40	1,01
	EA	49,00	1,36
	DW	54,00	4,34
40	DX	64,00	1,79
	DY	85,20	1,73
	DZ	26,90	6,22
	EC	89,12	0,48
	ED	79,55	0,79
45	EE	90,1	0,22
	EF	90,35	0,09
	EG	89,68	0,35
	EH	95,86	0,11
	EI	93	0,17

Таблица 6	
Соединение	Значения IC50 (мкМ)
CQ	1,33
CM	1,01
CK	2,69
DT	0,33
DQ	0,18
DY	1,88
CF	0,53

BI	0,95
DV	0,89
BP	4,39
EC	0,33
ED	0,89
EF	0,59
EH	0,08
бензбромарон	0,75
пробенецид	174

ПРИМЕР 7



2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метоксифенил)уксусная кислота

Стадия А: Получение этил 2-(3-гидрокси-4-метоксифенил)ацетата:

Перемешиваемый раствор 2-(3-гидрокси-4-метоксифенил)уксусной кислоты (9,82 г, 53,90 ммоль) и моногидрата п-толуолсульфоновой кислоты (1,15 г, 6,0 ммоль) в абсолютном этаноле (100 мл) кипятят с обратным холодильником в течение 4 часов или до потребления всех исходных материалов. Реакционную смесь концентрируют, разбавляют этилацетатом и промывают 1М НСl. Органический слой сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 2:1) с получением указанного в заголовке соединения.

^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 1,2 (т, 3H); 3,6 (с, 2H); 3,8 (с, 3H); 4,1 (кв, 2H); 6,6-6,8 (м, 3H).

Стадия В: Получение этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метоксифенил)ацетата:

Раствор 2,6-диметилбензилового спирта (3,23 г, 23,7 ммоль) и диизопропилазодикарбоксилата (DIAD, 5,23 г, 25,9 ммоль) в ТГФ (20 мл) добавляют по каплям к раствору этил 2-(3-гидрокси-4-метоксифенил)ацетата (стадия А, 5,48 г, 26,12 ммоль) и трифенилфосфина (6,79 г, 25,9 ммоль) в ТГФ (100 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 4 часов, разбавляют простым эфиром и промывают водой и насыщенным раствором соли. Органический слой сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 4:1) с получением указанного в заголовке соединения.

^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 1,2 (т, 3H); 2,3 (с, 6H); 3,5 (с, 2H); 3,8 (с, 3H); 4,1 (кв, 2H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 2H); 7,15-7,35 (м, 4H).

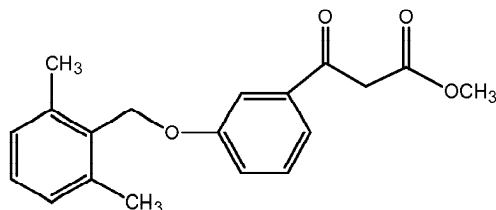
Стадия С: Получение 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метоксифенил)уксусной кислоты:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метоксифенил)ацетата (стадия В, 7,86 г, 24 ммоль) в абсолютном этаноле (120 мл) добавляют 1н NaOH (50 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов или до расхода всех исходных материалов, концентрируют и разбавляют хлороформом и подкисляют 1М НСl для доведения pH до 3,5-4. Органический слой промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с

силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешанный с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета.

^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 2,3 (с, 6H); 3,5 (с, 2H); 3,8 (с, 3H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 2H); 7,15-7,35 (м, 4H).

ПРИМЕР 8



Метил 3-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-3-оксопропаноат

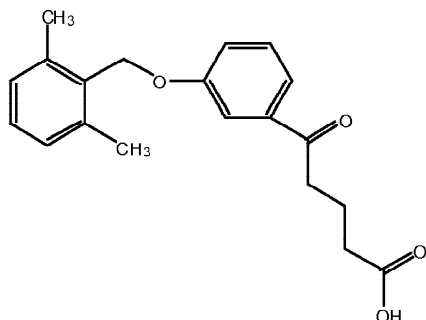
Стадия А: Получение метил 3-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-3-оксопропаноата:

К раствору 3-(2,6-диметилбензилокси)ацетофенона (10,40 г, 43,3 ммоль) и диметилкарбоната (64 мл) в ДМФ (100 мл) добавляют NaH (60% дисперсия в масле, 2,38 г, 99 ммоль). Полученную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 2 часов, гасят водной HCl и экстрагируют диэтиловым эфиром (2х).

Объединенные органические слои промывают водой, насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией, элюируя гексаном:этилацетатом (2:1) с получением указанного в заголовке соединения.

^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 2,4 (с, 6H); 3,8 (с, 3H); 4,0 (с, 2H); 5,1 (с, 2H); 7,1 (дд, 2H); 7,2 (м, 2H); 7,4 (т, 1H); 7,5-7,6 (м, 2H).

ПРИМЕР 9



5-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-5-оксопентановая кислота

Стадия А: Получение этил 3-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-3-оксопропаноата:

К раствору 3-(2,6-диметилбензилокси)ацетофенона (5,20 г, 21,6 ммоль) и диэтилкарбоната (43,49 г, 368 ммоль) в ДМФ (50 мл) добавляют NaH (60% дисперсия в масле, 1,61 г, 40,2 ммоль). Полученную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 2 часов, гасят водной HCl и экстрагируют диэтиловым эфиром (2х). Объединенные органические слои промывают водой, насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией, элюируя гексаном:этилацетатом (4:1) с получением указанного в заголовке соединения.

^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 1,3 (т, 3H); 2,4 (с, 6H); 4,0 (с, 2H); 4,1 (кв, 2H); 5,1 (с, 2H); 7,1 (дд, 2H); 7,2 (м, 2H); 7,4 (т, 1H); 7,5-7,6 (м, 2H).

Стадия В: Получение диэтил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)бензоил)пентандиоата:

К раствору этил 3-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-3-оксопропаноата (стадия А, 5 г, 16,02 ммоль) в трет-бутиловом спирте (50 мл) добавляют раствор трет-бутоксид калия (1М в трет-бутиловом спирте, 1,988 г, 17,7 ммоль), и реакционную смесь

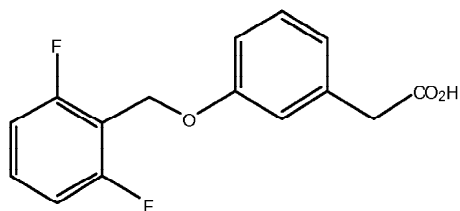
перемешивают в течение 30 минут при комнатной температуре. К реакционной смеси добавляют по каплям этил 3-бромпропионат, и перемешивание продолжают в течение еще 2 часов и затем выливают в 1М HCl, экстрагируют этилацетатом (2х), промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией, элюируя гексаном:этилацетатом (2:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия С: Получение 5-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-5-оксопентановой кислоты

К раствору диэтил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)бензоил)пентандиоата (стадия В, 1,66 г, 4,0 ммоль) в метаноле (50 мл) добавляют 1н NaOH (17 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 14 часов или до расхода всех исходных материалов, концентрируют, разбавляют в хлороформе, и промывают 1М HCl для доведения pH до 3,5-4. Органический слой промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией, элюируя хлороформом:метанолом (95:5, смешанным с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения.

¹H ЯМР (270 МГц, CDCl₃): 2,1 (м, 2H); 2,4 (с, 6H); 2,5 (т, 2H); 3,1 (т, 2H); 5,1 (с, 2H); 7,1 (дд, 2H); 7,2 (м, 2H); 7,4 (т, 1H); 7,5-7,6 (м, 2H).

ПРИМЕР 10



2-(3-(2,6-дифторбензилокси)фенил)уксусная кислота

Стадия А: Получение этил 2-(3-гидроксифенил)ацетата:

Перемешиваемый раствор 2-(3-гидроксифенил)уксусной кислоты (25 г, 164,3 ммоль) и моногидрата п-толуолсульфоновой кислоты (3,49 г, 18,3 ммоль) в абсолютном этаноле (250 мл) кипятят с обратным холодильником в течение 4 часов или до расхода всех исходных материалов. Реакционную смесь концентрируют, разбавляют этилацетатом и промывают 1М HCl. Органический слой сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 4:1) с получением указанного в заголовке соединения.

¹H ЯМР (270 МГц, CDCl₃): 1,2 (т, 3H); 3,6 (с, 2H); 4,1 (кв, 2H); 6,6-6,8 (м, 3H).

Стадия В: Получение этил 2-(3-(2,6-дифторбензилокси)фенил)ацетата:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-гидроксифенил)ацетата (4 г, 22,2 ммоль) в ДМФ (20 мл) добавляют карбонат калия (4 г, 28,9 ммоль) при комнатной температуре с последующим добавлением по каплям 2,6-дифторбензилбромида (5,06 г, 24,4 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 12 часов и помещают в этилацетат, промывают водой (2х), насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 4:1) с получением указанного в заголовке соединения.

¹H ЯМР (270 МГц, CDCl₃): 1,2 (т, 3H); 3,6 (с, 2H); 4,1 (кв, 2H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 5H); 7,2-7,35 (м, 2H).

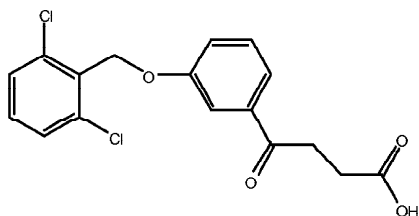
Стадия С: Получение 2-(3-(2,6-дифторбензилокси)фенил)уксусной кислоты:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-(2,6-дифторбензилокси)фенил)ацетата (стадия В, 7,86 г, 24 ммоль) в абсолютном этаноле (120 мл) добавляют 1н NaOH (50 мл)

при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов или до расхода всех исходных материалов, концентрируют и разбавляют хлороформом и промывают 1М HCl для доведения pH до 3,5-4. Органический слой промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешанный с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета.

¹H ЯМР (270 МГц, CDCl₃): 3,6 (с, 2H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 5H); 7,2-7,35 (м, 2H).

ПРИМЕР 11



4-(3-(2,6-дихлорбензилокси)фенил)-4-оксобутановая кислота

Стадия А: Получение 4-(2,6-дихлорбензилокси)ацетофенона:

Раствор 2,6-дихлорбензилового спирта (15 г, 84,7 ммоль) и диизопропилазодикарбоксилата (DIAD, 18,66 г, 92,2 ммоль) в ТГФ (50 мл) добавляют по каплям в раствор 3-гидроксиацетофенона (11,53 г, 84,7 ммоль) и трифенилфосфина (24,22 г, 92,3 ммоль) в ТГФ (200 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 4 часов, разбавляют эфиром и промывают водой, 1н NaOH и насыщенным раствором соли. Органический слой сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 4:1) с получением указанного в заголовке соединения.

¹H ЯМР (270 МГц, CDCl₃): 2,5 (с, 3H); 5,3 (с, 2H); 7,2-7,3 (м, 2H); 7,4 (м, 3H); 7,6 (м, 2H).

Стадия В: Получение этил 4-(3-(2,6-дихлорбензилокси)фенил)-4-оксобутаноата:

К перемешиваемому раствору 4-(2,6-дихлорбензилокси)ацетофенона (стадия А, 12 г, 40,6 ммоль) в сухом ТГФ (100 мл) и DMPU (30 мл) добавляют раствор бис(триметилсилил)амида лития (1М в ТГФ, 47,21 мл) при -65°C в атмосфере аргона. Через 10 минут перемешивания при -65°C быстро добавляют этилбромацетат (10,18 г, 61 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение дополнительных 10 минут и затем нагревают до комнатной температуры в течение 4 часов. Неочищенную смесь помещают в этилацетат и промывают водой и насыщенным раствором соли. Водный слой экстрагируют еще раз этилацетатом. Объединенные органические слои сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (этилацетат:гексан, 1:4) с получением указанного в заголовке соединения.

¹H ЯМР (270 МГц, CDCl₃): 1,2 (т, 3H); 2,8 (т, 2H); 3,3 (т, 2H); 4,4 (кв, 2H); 5,3 (с, 2H); 7,2-7,3 (м, 2H); 7,4 (м, 3H); 7,6 (м, 2H).

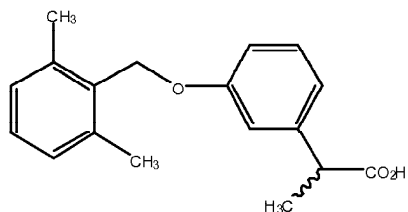
Стадия С: Получение 4-(3-(2,6-дихлорбензилокси)фенил)-4-оксобутановой кислоты:

Раствор этил 4-(3-(2,6-дихлорбензилокси)фенил)-4-оксобутаноата (стадия В, 14,86 г, 39 ммоль) в абсолютном этаноле (100 мл) обрабатывают 1н NaOH (60 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов или до расхода всех исходных материалов, концентрируют и разбавляют хлороформом и промывают 1М HCl для доведения pH до 3,5-4. Органический слой промывают

насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешан с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета.

^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 2,8 (т, 2H); 3,3 (т, 2H); 5,3 (с, 2H); 7,2-7,3 (м, 2H); 7,4 (м, 3H); 7,6 (м, 2H).

ПРИМЕР 12



2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропановая кислота

Стадия А: Получение этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)ацетата:

Раствор 2,6-диметилбензилового спирта (5,25 г, 38,6 ммоль) и диизопропилазодикарбоксилата (DIAD, 8,49 г, 42 ммоль) в ТГФ (30 мл) добавляют по каплям в раствор этил 3-гидроксифенилацетата (6,66 г, 37 ммоль) и трифенилфосфина (11 г, 42 ммоль) в ТГФ (100 мл). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 4 часов, разбавляют диэтиловым эфиром и промывают водой и насыщенным раствором соли. Органический слой сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 4:1) с получением указанного в заголовке соединения.

^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 1,2 (т, 3H); 2,3 (с, 6H); 3,5 (с, 2H); 4,1 (кв, 2H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 2H); 7,15-7,35 (м, 5H).

Стадия В: Получение этил 4-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропаноата:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)ацетата (стадия А, 6,35 г, 21,3 ммоль) в сухом ТГФ (100 мл) добавляют раствор бис(триметилсилил)амида лития (1,0 М в ТГФ, 31,91 мл) при -65°C в атмосфере аргона. Через 10 минут перемешивания при -65°C , быстро добавляют йодметан (15,12 г, 106,5 ммоль). Реакционную смесь нагревают до комнатной температуры в течение 6 часов. Неочищенную смесь помещают в этилацетат и промывают водой (2х). Водный слой экстрагируют еще раз этилацетатом. Объединенные органические слои промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (эфир:гексан, 1:5) с получением указанного в заголовке соединения.

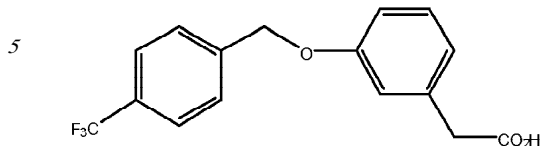
^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 1,2 (т, 3H); 1,5 (м, 3H); 2,4 (с, 6H); 3,7 (м, 1H); 4,1 (кв, 2H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 2H); 7,15-7,35 (м, 5H).

Стадия С: Получение 4-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропановой кислоты:

Раствор этил 4-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропаноата (стадия В, 1,30 г, 4,2 ммоль) в абсолютном этаноле (30 мл) обрабатывают 1N NaOH (10 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов или до расхода всех исходных материалов, концентрируют и разбавляют хлороформом и подкисляют 1M HCl для доведения pH до 3,5-4. Органический слой промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешан с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета.

^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 1,5 (м, 3H); 2,4 (с, 6H); 3,7 (м, 1H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 2H); 7,15-7,35 (м, 5H).

ПРИМЕР 13



2-(3-(4-(трифторметил)бензилокси)фенил)уксусная кислота

Стадия А: Получение этил 2-(3-(4-(трифторметил)бензилокси)фенил)ацетата:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-гидроксифенил)ацетата (7,3 г, 30,5 ммоль) в ДМФ (20 мл) добавляют карбонат калия (5,47 г, 39,6 ммоль) при комнатной температуре с последующим добавлением по каплям 4-трифторметилбензилбромида (6,04 г, 33,6 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 12 часов и помещают в этилацетат, промывают водой (2х), насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:эфир, 5:1) с получением указанного в заголовке соединения.

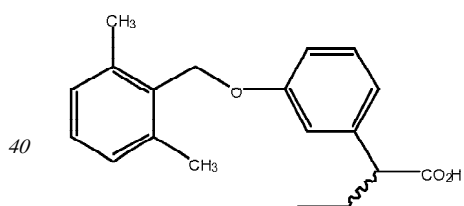
^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 1,2 (т, 3H); 3,7 (с, 2H); 4,1 (кв, 2H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 3H); 7,2 (т, 1H); 7,5-7,7 (м, 4H).

Стадия В: Получение 2-(3-(4-(трифторметил)бензилокси)фенил)уксусной кислоты:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-(4-(трифторметил)бензилокси)фенил)ацетата (стадия А, 6 г, 17,7 ммоль) в абсолютном этаноле (70 мл) добавляют 1н NaOH (36 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов или до расхода всех исходных материалов, концентрируют и разбавляют хлороформом и окисляют 1М HCl для доведения pH до 3,5-4. Органический слой промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешан с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета.

^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 3,7 (с, 2H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 3H); 7,2 (т, 1H); 7,5-7,7 (м, 4H).

ПРИМЕР 14



2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)бутановая кислота

Стадия А: Получение этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)ацетата:

Раствор 2,6-диметилбензилового спирта (5,25 г, 38,6 ммоль) и диизопропилазодикарбоксилата (DIAD, 8,49 г, 42 ммоль) в ТГФ (30 мл) добавляют по каплям в раствор этил 3-гидроксифенилацетата (6,66 г, 37 ммоль) и трифенилфосфина (11 г, 42 ммоль) в ТГФ (100 мл). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 4 часов, разбавляют эфиром и промывают водой и насыщенным раствором соли. Органический слой сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 4:1) с получением указанного в заголовке соединения.

¹H ЯМР (270 МГц, CDCl₃): 1,2 (т, 3H); 2,3 (с, 6H); 3,5 (с, 2H); 4,1 (кв, 2H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 2H); 7,15-7,35 (м, 5H).

Стадия В: Получение этил 4-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)бутаноата:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)ацетата (стадия А, 4,79 г, 16,0 ммоль) в сухом ТГФ (60 мл) по каплям добавляют раствор диизопропиламида лития (1,0 М в ТГФ, 25 мл) при -78°C в атмосфере аргона с последующим добавлением гексаметилфосфорамида (НМРА, 15 мл). Через 15 минут перемешивания при -78°C быстро добавляют йодэтан (12,53 г, 80,3 ммоль).

Реакционную смесь нагревают до комнатной температуры в течение 16 часов.

Неочищенную смесь гасят насыщенным NH₄Cl и экстрагируют эфиром (2×).

Объединенные органические слои промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (этилацетат:гексан, 1:4) с получением указанного в заголовке соединения.

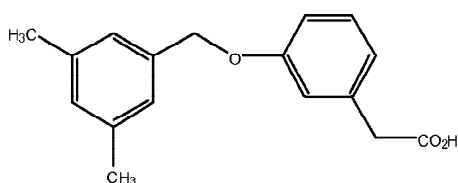
¹H ЯМР (270 МГц, CDCl₃): 1,0 (т, 3H); 1,2 (м, 3H); 1,8 (м, 1H); 2,1 (м, 1H); 2,4 (с, 6H); 3,4 (м, 1H); 4,1 (кв, 2H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 2H); 7,15-7,35 (м, 5H).

Стадия С: Получение 4-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)бутановой кислоты:

Раствор этил 4-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)бутаноата (стадия В, 3,26 г, 10 ммоль) в абсолютном этаноле (60 мл) обрабатывают 1N NaOH (20 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов или до расхода всех исходных материалов, концентрируют и разбавляют хлороформом и подкисляют 1M HCl для доведения pH до 3,5-4. Органический слой промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешан с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета.

¹H ЯМР (270 МГц, CDCl₃): 1,0 (т, 3H); 1,8 (м, 1H); 2,1 (м, 1H); 2,4 (с, 6H); 3,4 (м, 1H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 2H); 7,15-7,35 (м, 5H).

ПРИМЕР 15



2-(3-(3,5-диметилбензилокси)фенил)уксусная кислота

Стадия А: Получение этил 2-(3-(3,5-диметилбензилокси)фенил)ацетата:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-гидроксифенил)ацетата (3 г, 16,6 ммоль) в ДМФ (20 мл) добавляют карбонат калия (2,99 г, 21,6 ммоль) при комнатной температуре с последующим добавлением по каплям 3,5-диметилбензилбромида (3,30 г, 16,6 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 16 часов и помещают в этилацетат, промывают водой (2×), насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 4:1) с получением указанного в заголовке соединения.

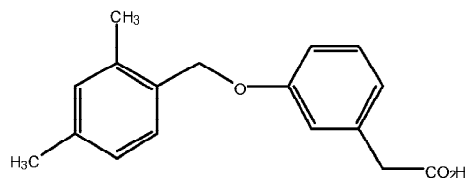
Стадия В: Получение 2-(3-(3,5-диметилбензилокси)фенил)уксусной кислоты:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-(3,5-диметилбензилокси)фенил)ацетата (стадия А, 2,38 г, 8,0 ммоль) в абсолютном этаноле (40 мл) добавляют 1N NaOH (16 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов или до расхода всех исходных материалов, концентрируют и разбавляют хлороформом и

подкисляют 1М НСl для доведения рН до 3,5-4. Органический слой промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешан с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения в виде

5 твердого вещества белого цвета.
¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 2,4 (с, 6H); 3,7 (с, 2H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 3H); 7,2 (с, 1H); 7,25-7,35 (м, 3H).

ПРИМЕР 16



15 2-(3-(2,4-диметилбензилокси)фенил)уксусная кислота

Стадия А: Получение этил 2-(3-(2,4-диметилбензилокси)фенил)ацетата:

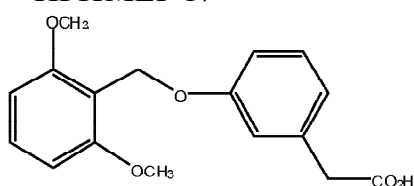
К перемешиваемому раствору этил 2-(3-гидроксифенил)ацетата (3 г, 16,6 ммоль) в ДМФ (20 мл) добавляют карбонат калия (2,99 г, 21,6 ммоль) при комнатной температуре с последующим добавлением по каплям 2,4-диметилбензилхлорида (3,11 г, 18,3 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 16 часов и помещают в этилацетат, промывают водой (2х), насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 4:1) с получением указанного в заголовке соединения.

25 Стадия В: Получение 2-(3-(2,4-диметилбензилокси)фенил)уксусной кислоты:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-(2,4-диметилбензилокси)фенил)ацетата (стадия А, 0,900 г, 3,0 ммоль) в абсолютном этаноле (25 мл) добавляют 1н NaOH (10 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов или до расхода всех исходных материалов, концентрируют и разбавляют хлороформом и подкисляют 1М НСl для доведения рН до 3,5-4. Органический слой промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешан с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета.

35 ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 2,4 (с, 6H); 3,6 (с, 2H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 3H); 7,25-7,35 (м, 4H).

ПРИМЕР 17



45 2-(3-(2,6-диметоксибензилокси)фенил)уксусная кислота

Стадия А: Получение Этил 2-(3-(2,6-диметоксибензилокси)фенил)ацетата:

Раствор 2,6-диметоксибензилового спирта (3,33 г, 19,8 ммоль) и диизопропилазодикарбоксилата (DIAD, 4,36 г, 21,6 ммоль) в ТГФ (30 мл) добавляют по каплям в раствор этил 2-(3-гидроксифенил)ацетата (4 г, 22,2 ммоль) и трифенилфосфина (5,66 г, 21,6 ммоль) в ТГФ (80 мл). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 8 часов, разбавляют эфиром и промывают водой и насыщенным раствором соли. Органический слой сушат над

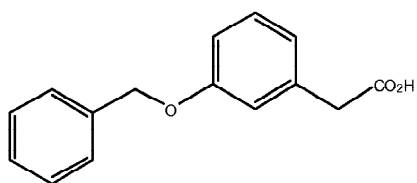
Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 4:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия В: Получение 2-(3-(2,6-диметоксибензилокси)фенил)уксусной кислоты:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-(2,6-диметоксибензилокси)фенил)ацетата (стадия А, 6 г, 18,2 ммоль) в абсолютном этаноле (100 мл) добавляют 1н NaOH (40 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов или до расхода всех исходных материалов, концентрируют и разбавляют хлороформом и подкисляют 1М HCl для доведения pH до 3,5-4. Органический слой промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешан с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 3,7 (с, 2H); 3,8 (с, 6H); 5,1 (с, 2H); 6,5 (д, 2H); 6,8-7,1 (м, 3H); 7,2 (д, 1H); 7,3 (т, 1H).

ПРИМЕР 18



2-(3-(Бензилокси)фенил)уксусная кислота

Стадия А: Получение этил 2-(3-(бензилокси)фенил)ацетата:

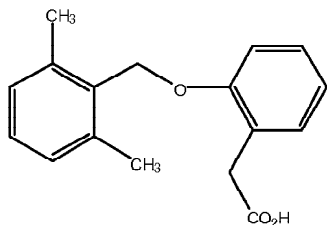
К перемешиваемому раствору этил 2-(3-гидроксифенил)ацетата (3 г, 16,6 ммоль) в ДМФ (25 мл) добавляют карбонат калия (2,99 г, 21,6 ммоль) при комнатной температуре с последующим добавлением по каплям бензилбромида (3,13 г, 18,3 ммоль). Реакционную смесь перемешивают в течение 16 часов и помещают в этилацетат, промывают водой (2×) и насыщенным раствором соли. Органический слой сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 4:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия В: Получение 2-(3-(бензилокси)фенил)уксусной кислоты:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-(бензилокси)фенил)ацетата (стадия А, 5,00 г, 18,5 ммоль) в абсолютном этаноле (100 мл) добавляют 1н NaOH (40 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов или до расхода всех исходных материалов, концентрируют и разбавляют хлороформом и подкисляют 1М HCl для доведения pH до 3,5-4. Органический слой промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешан с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 3,6 (с, 2H); 5,1 (с, 2H); 6,8 (м, 2H); 7,1 (с, 1H), 7,2 (т, 1H), 7,35-7,45 (м, 5H).

ПРИМЕР 19



2-(2-(2,6-диметилбензилокси)фенил)уксусная кислота

Стадия А: Получение этил 2-(2-гидроксифенил)ацетата:

Перемешиваемый раствор 2-(2-гидроксифенил)уксусной кислоты (10 г, 65,7 ммоль) и моногидрата п-толуолсульфоновой кислоты (1,40 г, 7,3 ммоль) в абсолютном этаноле (100 мл) кипятят с обратным холодильником в течение 4 часов или до расхода всех исходных материалов. Реакционную смесь концентрируют, разбавляют этилацетатом и промывают 1М HCl и насыщенным раствором соли. Органический слой сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 2:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия В: Получение этил 2-(2-(2,6-диметилбензилокси)фенил)ацетата:

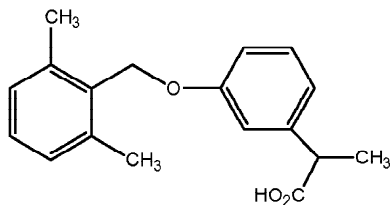
Раствор 2,6-диметилбензилового спирта (2,72 г, 19,9 ммоль) и диизопропилазодикарбоксилата (DIAD, 3,67 г, 18,2 ммоль) в ТГФ (30 мл) добавляют по каплям к раствору этил 2-(2-гидроксифенил)ацетата (3 г, 16,6 ммоль) и трифенилфосфина (4,76 г, 18,2 ммоль) в ТГФ (80 мл). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 6 часов, разбавляют эфиром и промывают водой и насыщенным раствором соли. Органический слой сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 4:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия С: Получение 2-(2-(2,6-диметилбензилокси)фенил)уксусной кислоты:

К перемешиваемому раствору этил 2-(2-(2,6-диметилбензилокси)фенил)ацетата (стадия В, 4,70 г, 15,7 ммоль) в абсолютном этаноле (75 мл) добавляют 1н NaOH (35 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов или до расхода всех исходных материалов, концентрируют и разбавляют хлороформом и подкисляют 1М HCl для доведения pH до 3,5-4. Органический слой промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешан с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества белого цвета.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 2,35 (с, 6H); 3,6 (с, 2H); 5,1 (с, 2H); 7,0 (т, 1H); 7,1 (с, 1H), 7,2-7,25 (м, 2H), 7,30-7,35 (м, 2H); 7,4 (т, 1H).

ПРИМЕР 20



2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропановая кислота

Стадия А: Получение этил 2-(3-гидроксифенил)ацетата:

Раствор 2-(3-гидроксифенил)уксусной кислоты (25 г, 164,31 ммоль) и моногидрата п-толуолсульфоновой кислоты (3,49 г, 18,3 ммоль) в абсолютном этаноле (250 мл) кипятят с обратным холодильником в течение 4 часов или до расхода всех исходных

материалов. Реакционную смесь концентрируют, разбавляют этилацетатом и промывают водой. Органический слой сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 2:1) с

^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 1,2 (т, 3H); 3,5 (с, 2H); 4,1 (кв, 2H); 6,6-7,2 (м, 4H).

Стадия В: Получение этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)ацетата:

Раствор 2,6-диметилбензилового спирта (5,25 г, 38,6 ммоль) и диизопропилазодикарбоксилата (DIAD, 8,49 г, 42 ммоль) в ТГФ (30 мл) и ДМФ (13 мл) добавляют по каплям в раствор этил 2-(3-гидроксифенил)ацетата (стадия А, 6,66 г, 37 ммоль) и трифенилфосфина (TRP, 11 г, 42 ммоль) в ТГФ (100 мл). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 4 часов, разбавляют эфиром и промывают водой. Органический слой сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 4:1) с

^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 1,2 (т, 3H); 2,4 (с, 6H); 3,5 (с, 2H); 4,1 (кв, 2H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 2H); 7,15-7,35 (м, 5H).

Стадия С: Получение этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропаноата:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)ацетата (стадия В, 4 г, 13,6 ммоль) в сухом ТГФ (30 мл) при -68°C в атмосфере сухого аргона добавляют по каплям LiHMDS (1M раствор в ТГФ, 17,45 мл, 17,4 ммоль), и полученный оранжевый раствор перемешивают при низкой температуре в течение 30 минут перед добавлением CH_3I (5,71 г, 40,26 ммоль). Реакционную смесь медленно нагревают до комнатной температуры и перемешивают в течение еще 15 часов. Реакцию гасят льдом, и продукт экстрагируют EtOAc (2×), органический слой промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:эфир, 5:1) с получением указанного в заголовке соединения.

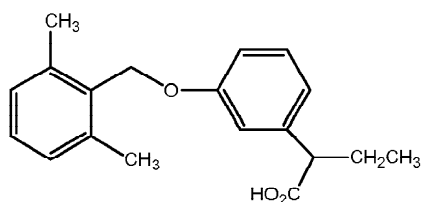
^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 1,2 (т, 3H); 1,5 (т, 3H); 2,4 (с, 6H); 3,7 (м, 1H); 4,1 (кв, 2H); 5,0 (с, 2H); 6,9 (м, 2H); 7,15-7,35 (м, 5H).

Стадия D: Получение 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропановой кислоты:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)пропаноата (стадия С, 3 г, 9,6 ммоль) в абсолютном этаноле (60 мл) добавляют 1N NaOH (20 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов, подкисляют до pH 3,5-4,0 добавлением 1N HCl и концентрируют. Остаток помещают в хлороформ и промывают 0,1N HCl, насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешан с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения.

^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 1,5 (т, 3H); 2,4 (с, 6H); 3,7 (м, 1H); 5,0 (с, 2H); 6,9 (м, 2H); 7,15-7,35 (м, 5H).

ПРИМЕР 21



2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)бутановая кислота

Стадия А: Получение этил 2-(3-гидроксифенил)ацетата:

Применяя способ из примера 20, стадия А, получают указанное в заголовке соединение.

^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 1,2 (т, 3H); 3,5 (с, 2H); 4,1 (кв, 2H); 6,6-7,2 (м, 4H).

Стадия В: Получение этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)ацетата:

Применяя способ из примера 20, стадия В, получают указанное в заголовке соединение.

^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 1,2 (т, 3H); 2,4 (с, 6H); 3,5 (с, 2H); 4,1 (кв, 2H); 5,1 (с, 2H); 6,9 (м, 2H); 7,15-7,35 (м, 5H).

Стадия С: Получение этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)бутаноата:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)ацетата (стадия В, 4,84 г, 16,2 ммоль) в сухом ТГФ (60 мл) и НМРА (15 мл) при -78°C в атмосфере сухого азота добавляют по каплям LDA (2М раствор в ТГФ, 25 мл, 48,72 ммоль), и полученный раствор оранжевого цвета перемешивают при низкой температуре в течение 30 минут перед добавлением $\text{C}_2\text{H}_5\text{I}$ (10,13 г, 64,96 ммоль).

Реакционную смесь медленно нагревают до комнатной температуры и перемешивают в течение еще 15 часов. Реакцию гасят водной лимонной кислотой, и продукт экстрагируют EtOAc (2х), органическую фазу промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 4:1) с получением указанного в заголовке соединения.

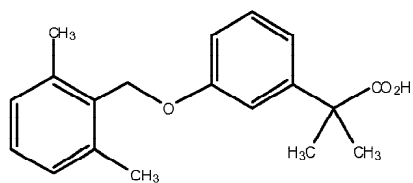
^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 0,9 (т, 3H); 1,2 (т, 3H); 1,8 (м, 1H); 2,1 (м, 1H); 2,4 (с, 6H); 3,4 (т, 1H); 4,1 (кв, 2H); 5,0 (с, 2H); 6,9 (м, 2H); 7,15-7,30 (м, 5H).

Стадия D: Получение 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)бутановой кислоты:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)бутаноата (стадия С, 3,26 г, 10,0 ммоль) в абсолютном этаноле (60 мл) добавляют 1н NaOH (20 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов, подкисляют до pH 3,5-4,0 добавлением 1н HCl и концентрируют. Остаток помещают в хлороформ и промывают 0,1н HCl, насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешан с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения.

^1H ЯМР (270 МГц, CDCl_3): 0,9 (т, 3H); 1,8 (м, 1H); 2,1 (м, 1H); 2,4 (с, 6H); 3,4 (т, 1H); 5,0 (с, 2H); 6,9 (м, 2H); 7,15-7,30 (м, 5H).

ПРИМЕР 22



2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-2-метилпропановая кислота

Стадия А: Получение 2-(3-метоксифенил)-2-метилпропаннитрила:

К перемешиваемому раствору 2-(3-метоксифенил)ацетонитрила (6,2 г, 42,1 ммоль), 40% водного гидроксида тетрабутиламмония (5,1 г, 7,8 ммоль) и 50% водного NaOH (30 г, 375 ммоль) в толуоле (30 мл) добавляют CH_3I (8 мл, 129 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 16 часов, затем добавляют CH_3I (4 мл) и реакционную смесь перемешивают в течение еще 5 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляют EtOAc и промывают водой и

насыщенным раствором соли. Органический слой сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на короткой колонке силикагеля (гексан:метиленхлорид, 2:1) с получением указанного в заголовке соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, d-ДМСО): 1,74 (с, 6H); 3,8 (с, 3H); 6,9-7,04 (м, 2H); 7,11 (т, 1H); 7,29-7,31 (м, 1H).

Стадия В: Получение 2-(3-гидроксифенил)-2-метилпропаннитрила:

К перемешиваемому раствору 2-(3-метоксифенил)-2-метилпропаннитрила (стадия А, 4,5 г, 25,7 ммоль) в метиленхлориде (30 мл) добавляют BBr_3 (1М в CH_2Cl_2 , 50 мл) при -78°C в аргоне, холодную баню заменяют ледяной баней через 30 минут, и реакционную смесь перемешивают при той же температуре в течение 2 часов и затем 30 минут при комнатной температуре. Реакционную смесь гасят добавлением льда и обрабатывают водой и насыщенным раствором соли. Органический слой сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (метиленхлорид:этилацетат, 5:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия С: Получение 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-2-метилпропаннитрила:

Раствор 2,6-диметилбензилового спирта (2,76 г, 20,3 ммоль) и диизопропилазодикарбоксилата (DIAD, 4,7 г, 23,2 ммоль) в ТГФ (20 мл) добавляют по каплям в раствор 2-(3-гидроксифенил)-2-метилпропаннитрила (стадия В, 3,2 г, 19,8 ммоль) и трифенилфосфина (5,28 г, 20,1 ммоль) в ТГФ (50 мл) при 0°C в аргоне. Реакционную смесь перемешивают при той же температуре в течение 16 часов, разбавляют эфиром и промывают водой. Органический слой сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан: этилацетат, 9:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия D: Получение 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-2-метилпропанала:

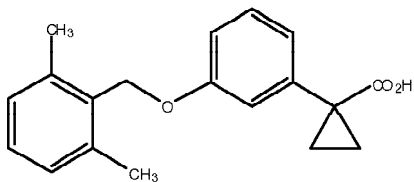
К перемешиваемому раствору 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-2-метилпропаннитрила (стадия С, 3,5 г, 12,5 ммоль) в сухом метиленхлориде (40 мл) при -78°C в атмосфере сухого аргона добавляют по каплям DIBAL-H (1М раствор в CH_2Cl_2 , 40 мл), и реакционную смесь перемешивают при той же температуре в течение 2 часов или до завершения реакции, показанного ТСХ. Реакционную смесь медленно гасят ледяной водой, и продукт экстрагируют CH_2Cl_2 (2х), органическую фазу промывают 1М HCl , насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:эфир, 9:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия Е: Получение 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-2-метилпропановой кислоты:

К перемешиваемому раствору 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)-2-метилпропанала (стадия D, 1,9 г, 6,7 ммоль) в ацетоне (40 мл) добавляют по каплям реагент Джонса (10 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов и помещают в EtOAc и промывают водой, насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешан с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, d-ДМСО): 1,46 (с, 6H); 2,33 (с, 6H); 5,0 (с, 2H); 6,92-6,98 (м, 3H); 7,07 (д, 2H); 7,15-7,18 (т, 1H); 7,27-7,30 (т, 1H).

ПРИМЕР 23



1-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)циклопропанкарбоновая кислота

Стадия А: Получение 1-(3-метоксифенил)циклопропанкарбонитрила:

К перемешиваемому раствору 2-(3-метоксифенил)ацетонитрила (6,5 г, 44,1 ммоль), 40% водного гидроксида тетрабутиламмония (4,5 мл) и 50% водного NaOH (30 мл) в толуоле (30 мл) добавляют 1,2-дибромэтан (10 мл, 116 ммоль) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 16 часов, разбавляют EtOAc и промывают водой и насыщенным раствором соли. Органический слой сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на короткой колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 9:1) с получением указанного в заголовке соединения.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 1,41-1,43 (м, 2H); 1,70-1,71 (м, 2H); 3,8 (с, 3H); 6,84-6,88 (м, 3H); 7,25 (т, 1H).

Стадия В: Получение 1-(3-гидроксифенил)циклопропанкарбонитрила

К перемешиваемому раствору 1-(3-метоксифенил)циклопропанкарбонитрила (стадия А, 6,4 г, 37 ммоль) в метиленхлориде (30 мл) добавляют BBr₃ (1М в CH₂Cl₂, 80 мл) при -78°C в атмосфере аргона, холодную баню заменяют ледяной баней через 30 минут и реакционную смесь перемешивают при той же температуре в течение 2 часов и затем 30 минут при комнатной температуре. Реакционную смесь гасят добавлением льда и обрабатывают промыванием водой и насыщенным раствором соли.

Органический слой сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (метиленхлорид:этилацетат, 5:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия С: Получение 1-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)циклопропанкарбонитрила:

Раствор 2,6-диметилбензилового спирта (2,81 г, 20,6 ммоль) и диизопропилазодикарбоксилата (DIAD, 4,69 г, 23,2 ммоль) в ТГФ (20 мл) добавляют по каплям к раствору 1-(3-гидроксифенил)циклопропанкарбонитрила (стадия В, 3,2 г, 20,1 ммоль) и трифенилфосфина (5,37 г, 20,5 ммоль) в ТГФ (50 мл) при 0°C в атмосфере аргона. Реакционную смесь перемешивают при той же температуре в течение 16 часов, разбавляют эфиром и промывают водой. Органический слой сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 9:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия D: Получение 1-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)циклопропанкарбальдегида:

К перемешиваемому раствору 1-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)циклопропанкарбонитрила (стадия С, 4,6 г, 16,6 ммоль) в сухом метиленхлориде (40 мл) при -78°C в атмосфере аргона добавляют по каплям DIBAL-H (1М раствор в CH₂Cl₂, 40 мл), и реакционную смесь перемешивают при той же температуре в течение 6 часов или до завершения реакции, показанного ТСХ. Реакционную смесь медленно гасят ледяной водой, и продукт экстрагируют CH₂Cl₂ (2х), органическую фазу промывают 1М HCl, насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на

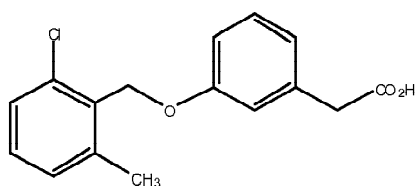
колонке с силикагелем (гексан:эфир, 9:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия Е: Получение 1-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)циклопропанкарбоновой кислоты:

К перемешиваемому раствору 1-(3-(2,6-диметилбензилокси)фенил)циклопропанкарбальдегида (стадия D, 3,5 г, 12,5 ммоль) в ацетоне (50 мл) добавляют по каплям реагент Джонса (15 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 6 часов, разбавляют в EtOAc и промывают водой, насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешан с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения.

¹H ЯМР (400 МГц, d-ДМСО): 1,12-1,15 (м, 2H); 1,40-1,43 (м, 2H); 2,32 (с, 6H); 5,0 (с, 2H); 6,90-6,96 (м, 3H); 7,05 (д, 2H); 7,13-7,17 (м, 1H); 7,20-7,24 (т, 1H).

ПРИМЕР 24



2-(3-(2-Хлор-6-метилбензилокси)фенил)уксусная кислота

Стадия А: Получение (2-хлор-6-метилфенил)метанола:

К перемешиваемому раствору 2-хлор-6-метилбензальдегида (6,11 г, 39,5 ммоль) в ТГФ(2):метаноле(3) (30 мл) порцией добавляют NaBH₄ (2,24 г, 59,28 ммоль) при 0°C в атмосфере аргона. Реакционную смесь перемешивают при той же температуре в течение 1,3 часа и затем гасят холодным насыщенным раствором NH₄Cl, экстрагируют EtOAc, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 2:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия В: Получение этил 2-(3-(2-хлор-6-метилбензилокси)фенил)ацетата:

Раствор (2-хлор-6-метилфенил)метанола (стадия А, 3 г, 19,1 ммоль) и диизопропилазодикарбоксилата (DIAD, 4,13 мл, 21 ммоль) в ТГФ (20 мл) добавляют по каплям в раствор этил 2-(3-гидроксифенил)ацетата (3,79 г, 21 ммоль) и трифенилфосфина (5,48 г, 21 ммоль) в ТГФ (30 мл) при 0°C в атмосфере аргона. Реакционную смесь перемешивают при той же температуре в течение 4 часов, разбавляют эфиром и промывают водой. Органический слой сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 2:1) с получением указанного в заголовке соединения.

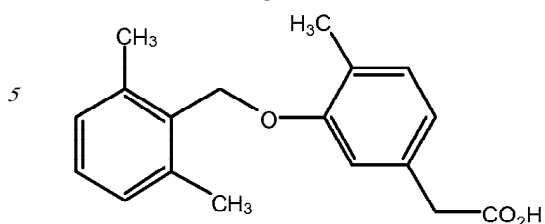
Стадия С: Получение 2-(3-(2-хлор-6-метилбензилокси)фенил)уксусной кислоты:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-(2-хлор-6-метилбензилокси)фенил)ацетата (стадия В, 4,94 г, 15,5 ммоль) в абсолютном этаноле (80 мл) добавляют 1н NaOH (40 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов, подкисляют до pH 3,5-4,0 добавлением 1н HCl и концентрируют. Остаток помещают в хлороформ и промывают 0,1н HCl, насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешан с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 2,4 (с, 3H); 3,7 (с, 2H); 5,2 (с, 2H); 6,9 (м, 3H); 7,2-7,3 (м,

3H); 7,4 (м, 1H).

ПРИМЕР 25



2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метилфенил)уксусная кислота

Стадия А: Получение 2-(3-метокси-4-метилфенил)уксусной кислоты:

К перемешиваемому раствору 2-(3-метокси-4-метилфенил)ацетонитрила (5 г, 31 ммоль) в абсолютном этаноле (25 мл) добавляют 2М NaOH (20 мл) при комнатной температуре и реакционную смесь кипятят с обратным холодильником в течение 16 часов или до расхода исходного материала. Реакционную смесь концентрируют, разбавляют хлороформом и pH доводят до 4 добавлением 1N HCl. Органический слой промывают насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют, с получением твердого вещества белого цвета. Твердое вещество промывают гексаном, фильтруют, сушат в вакууме и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5) с получением указанного в заголовке соединения.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 2,19 (с, 3H); 3,62 (с, 2H); 3,82 (с, 3H); 6,74 (м, 3H); 7,14 (д, 1H).

Стадия В: Получение этил 2-(3-метокси-4-метилфенил)ацетата:

К перемешиваемому раствору 2-(3-метокси-4-метилфенил)уксусной кислоты (стадия А, 4,64 г, 25,7 ммоль) в этаноле (100 мл) добавляют p-TsOH (0,7 г, 3,7 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере аргона и реакционную смесь кипятят с обратным холодильником в течение 12 часов или до расхода всех исходных материалов, концентрируют, разбавляют в EtOAc и промывают 0,1N HCl, насыщенным раствором соли, сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 2:1) с получением указанного в заголовке соединения.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 1,25 (т, 3H); 2,10 (с, 3H); 3,57 (с, 2H); 3,82 (с, 3H); 4,14 (кв, 2H); 6,76 (м, 3H); 7,14 (д, 1H).

Стадия С: Получение этил 2-(3-гидрокси-4-метилфенил)ацетата:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-метокси-4-метилфенил)ацетата (стадия В, 4,12 г, 19,8 ммоль) в метиленхлориде (30 мл) добавляют BBr₃ (1М в CH₂Cl₂, 25 мл) при -78°C в атмосфере аргона, холодную баню заменяют через 30 минут и реакционную смесь перемешивают при той же температуре в течение 2 часов и затем в течение 30 минут при комнатной температуре. Реакционную смесь гасят добавлением льда и обрабатывают промыванием водой и насыщенным раствором соли.

Органический слой сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 2:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия D: Получение этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метилфенил)ацетата:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-гидрокси-4-метилфенил)ацетата (стадия С, 1,84 г, 9,5 ммоль), K₂CO₃ (1,96 г, 14,2 ммоль) в ДМФ (10 мл) добавляют 2,6-диметилбензилхлорид (1,61 г, 10,4 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере аргона. Реакционную смесь перемешивают в течение 16 часов при комнатной

температуре, разбавляют этилацетатом и промывают водой (2×), и насыщенным раствором соли. Органический слой сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 4:1) с

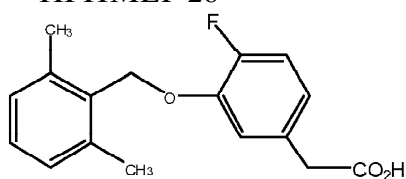
получением указанного в заголовке соединения.

Стадия Е: Получение 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метилфенил)уксусной кислоты:

К перемешиваемому раствору этил 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метилфенил)ацетата (стадия D, 1,1 г, 3,5 ммоль) в абсолютном этаноле (20 мл) добавляют 1н NaOH (7 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов, подкисляют до pH 3,5-4,0 добавлением 1н HCl и концентрируют. Остаток помещают в хлороформ и промывают 0,1н HCl, насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5, смешан с уксусной кислотой) с получением указанного в заголовке соединения.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): 2,15 (с, 3H); 2,38 (с, 6H); 3,67 (с, 2H); 5,02 (с, 2H); 6,8 (д, 1H); 6,9 (с, 1H); 7,0-7,2 (м, 4H).

ПРИМЕР 26



2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-фторфенил)уксусная кислота

Стадия А: Получение этил 3-(2,6-диметилбензилокси)-4-фторбензоата:

К перемешиваемому раствору этил 4-фтор-3-гидроксibenзоата (2,814 г, 15,3 ммоль), K_2CO_3 (1,95 г, 14,1 ммоль) в ДМФ (15 мл) добавляют 2,6-диметилбензилхлорид (2,21 г, 14,3 ммоль) при комнатной температуре в атмосфере аргона. Реакционную смесь перемешивают в течение 16 часов при комнатной температуре, разбавляют этилацетатом и промывают водой (2×), и насыщенным раствором соли. Органический слой сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 4:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия В: Получение (3-(2,6-диметилбензилокси)-4-фторфенил)метанола:

Раствор этил 3-(2,6-диметилбензилокси)-4-фторбензоата (стадия А, 4,2 г, 13,9 ммоль) в сухом ТГФ (20 мл) добавляют медленно к суспензии LiAlH_4 (0,72 г) в сухом ТГФ (20 мл) при -78°C в атмосфере аргона. Холодную баню заменяют ледяной баней, и реакционную смесь перемешивают в течение 3 часов или до завершения реакции, гасят очень медленно льдом и разбавляют этилацетатом. Органический слой промывают 0,1н HCl, насыщенным раствором соли, сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 5:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия С: Получение 2-((5-(хлорметил)-2-фторфенокси)метил)-1,3-диметилбензола:

К перемешиваемому раствору (3-(2,6-диметилбензилокси)-4-фторфенил)метанола (стадия В, 3,7 г, 14,21 ммоль), триэтиламина (5 г, 50 ммоль) в CH_2Cl_2 (50 мл) добавляют мезилхлорид (10,34 г, 90,2 ммоль) при 0°C в атмосфере аргона. Реакционную смесь перемешивают в течение 6 часов, промывают 10% Na_2CO_3 , сушат над Na_2SO_4 , фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:этилацетат, 5:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия D: Получение 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-фторфенил)ацетонитрила:

К перемешиваемому раствору 2-((5-(хлорметил)-2-фторфенокси)метил)-1,3-диметилбензола (стадия С, 4 г, 14,3 ммоль), KI (0,33 г) в ДМФ (30 мл) добавляют NaCN (1,02 г, 20,8 ммоль). Реакционную смесь нагревают при 100°C в течение 4 часов, концентрируют, разбавляют EtOAc и промывают водой (2×), сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (гексан:метиленхлорид, 1:1) с получением указанного в заголовке соединения.

Стадия Е: Получение 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-фторфенил)уксусной кислоты:

К перемешиваемому раствору 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-фторфенил)ацетонитрила (стадия D, 1,44 г, 5,34 ммоль) в этаноле (30 мл) добавляют 2н NaOH (15 мл) и реакцию смесь кипятят с обратным холодильником в течение 16 часов, охлаждают добавлением льда и подкисляют 1н HCl до pH 4, и разбавляют хлороформом. Органический слой сушат над Na₂SO₄, фильтруют, концентрируют и очищают флэш-хроматографией на колонке с силикагелем (хлороформ:метанол, 95:5) с получением указанного в заголовке соединения.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): 2,43 (с, 6H); 3,65 (с, 2H); 5,12 (с, 2H); 6,8 (м, 1H); 7,0-7,15 (м, 4H); 7,17 (м, 1H).

ПРИМЕР 27

Фармакокинетические исследование пероральной однократной дозы соединения ЕН на крысах

Протокол:

А. Плазма.

1. Самцам крыс Sprague-Dowley дают однократную пероральную дозу соединения ЕН через желудочный зонд, 100 мг/кг, и в определенные моменты времени собирают плазму.

2. Плазму крыс хранят при -80°C до дня анализа.

3. Образцы оттаивают на бане 37°C в течение 5 мин и встряхивают при максимальной скорости в течение 10 сек.

4. Плазму крыс, 0,1 мл смешивают с 0,2 мл ацетонитрила, встряхивают 1 мин, подвергают центрифугированию при 14000 об/мин, 17000 g, при 4°C в течение 25 мин.

5. Надосадочные жидкости фильтруют через 0,45 микрон, 4 мм, шприцевой фильтр с ПТФЭ мембраной (Phenomenex # AF0-3102-52), и 15 мкл впрыскивают и разделяют на колонке с обращенной фазой Luna 3 микрона, 100А поры, C8(2), 150×3 мм (Phenomenex# 00F-4248-YO, SN#259151-7) с 50 мин линейным градиентом от 40% до 69% (0,1% муравьиной кислоты, 89,9% ацетонитрила, 10% метанола) при 0,25 мл/мин, 107 бар, температуре колонки 37°C, способ 406975M1, последовательность 0226-09A, Agilent 1100 ЖХ-МС.

Все образцы тестируют в двух повторах, абсорбция 210 нм и 230 нм, записывают спектрограммы отрицательной и положительной ионизации.

В. Калибровочная кривая

Стадия 1. Плазму крыс от животных V2 и V3 ("носитель", объединенный), 0,19 мл, смешивают с 0,01 мл 20× маточного раствора соединения ЕН в метаноле с получением 500 мкМ, 250 мкМ, 125 мкМ, ..., концентраций соединения ЕН в плазме.

Например: 190 мкл плазмы + 10 мкл 10 мМ соединения ЕН в метаноле = 0,2 мл плазмы с 500 мкМ соединения ЕН.

Стадия 2. Образцы стадии 1 встряхивают в течение 10 сек с максимальной скоростью.

Стадия 3. 0,4 мл ацетонитрила добавляют во все образцы стадии 2, и все пробирки

встряхивают с максимальной скоростью в течение 1 мин.

Стадия 4. Все образцы стадии 3 центрифугируют при 14000 об/мин, 17000 g, при 4°C в течение 25 мин.

Стадия 5. Надосадочные жидкости фильтруют через 0,45 микрон, 4 мм, шприцевой
5
фильтр с ПТФЭ мембраной (Phenomenex # AF0-3102-52), и 15 мкл впрыскивают и
разделяют на колонке с обращенной фазой Luna 3 микрона, 100А поры, C8(2), 150×3
мм (Phenomenex# 00F-4248-YO, SN#259151-7) с 50 мин линейным градиентом от 40%
до 69% (0,1% муравьиной кислоты, 89,9% ацетонитрила, 10% метанола) при 0,25
10 мл/мин, 107 бар, температуре колонки 37°C, способ 406975M1, Agilent 1100 ЖХ-МС.

Все образцы тестируют в двух экземплярах, абсорбция 210 нм и 230 нм, записывают спектрограммы отрицательной и положительной ионизации.

Условиях ВЭЖХ:

15

Градиент ВЭЖХ				Таблица 7
Время мин	Растворитель С %	Растворитель D %		
0	60	40		
2	60	40	Растворитель С: 0,1% муравьиная кислота в воде	
52	31	69	Растворитель D: 0,1% муравьиная кислота, 89,9% ацетонитрил, 10% метанол	
58	31	69		
60	60	40		
75	60	40		

20

РЕЗУЛЬТАТЫ

1. Калибровочную кривую (фигура 4) строят с R² совпадением с линейностью = 0,9986.

Таблица 8

30

AGILENT ЖХ-МС			
Соединение ЕН, площадь пика при 210 нм			Соединение ЕН в плазме, концентрация
прогон 1	прогон 2	среднее	микроМ
7030	7193	7111,5	500
2022	2039	2030,5	125
583,9	686,4	635,15	31,25
249,6	205,9	227,75	7,8125
67,12	51,43	59,275	1,9531
0	0	0	0

40

45

50

2. Соединение ЕН легко определяется в плазме крыс, время удерживания и масса

подтверждается при положительном и отрицательном режимах ионизации.

(Фигура 5). "М-" = 283,2, 100%; 567,2, 73%.

"М+" = 302,4 (+H₂O) 95%; 214,4 100%; 307,2 75%; 179,2 70%. Масса формулы 284.

Таблица 9

Соединение ЕН в плазме крыс.

Средние данные концентрация-время

Время (час)	Соединение ЕН (мкМ)
0	0
0,25	349
0,5	723
2	79
4	126
6	112
8	48
24	0
AUC (0-24) :	1765 микроМ * час
Cmax :	723 микроМ

ПРИМЕР 28

Фармакокинетическое исследование пероральной однократной дозы соединения ЕН на мышах

Протокол:

А. Плазма.

1. Мышам дают однократную пероральную дозу соединения ЕН через желудочный зонд, 100 мг/кг, и в определенные моменты времени собирают плазму.

2. Плазму хранят при -80°C до дня анализа.

3. Образцы оттаивают на бане 37°C в течение 5 мин и встряхивают при максимальной скорости в течение 10 сек.

4. Плазму мышей, 0,1 мл смешивают с 0,2 мл ацетонитрила, встряхивают 1 мин, центрифугируют при 14000 об/мин, 17000 g, при 4°C в течение 25 мин.

5. Надосадочные жидкости фильтруют через 0,45 микрон, 4 мм, шприцевой фильтр с ПТФЭ мембраной (Phenomenex # AF0-3102-52), и 15 мкл впрыскивают и разделяют на колонке с обращенной фазой Luna 3 микрона, 100А поры, C8(2), 150×3 мм (Phenomenex# 00F-4248-YO, SN#259151-7) с 50 мин линейным градиентом от 40% до 69% (0,1% муравьиной кислоты, 89,9% ацетонитрила, 10% метанола) при 0,25 мл/мин, 100 бар,

температуре колонки 37°C, способ 406975M1, последовательность 0205-09A, Agilent 1100 ЖХ-МС.

Все образцы тестируют в двух повторах, абсорбция 210 нм и 230 нм, записывают спектрограммы отрицательной и положительной ионизации.

В. Калибровочная кривая

Стадия 1. Плазму животных «носитель» (объединенную), 0,19 мл, смешивают с 0,01 мл 20х маточного раствора соединения ЕН в метаноле с получением 500 мкМ, 250 мкМ, 125 мкМ, ..., концентраций соединения ЕН в плазме.

Например: 190 мкл плазмы + 10 мкл 10 мМ соединения ЕН в метаноле = 0,2 мл плазмы с 500 мкМ соединения ЕН.

Стадия 2. Образцы стадии 1 встряхивают в течение 10 сек с максимальной скоростью.

Стадия 3. 0,4 мл ацетонитрила добавляют во все образцы стадии 2, и все пробирки встряхивают с максимальной скоростью в течение 1 мин.

Стадия 4. Все образцы стадии 3 центрифугируют при 14000 об/мин, 17000 g, при 4°C в течение 25 мин.

Стадия 5. Надосадочные жидкости фильтруют через 0,45 микрон, 4 мм, шприцевой фильтр с ПТФЭ мембраной (Phenomenex # AF0-3102-52), и 15 мкл впрыскивают и разделяют на колонке с обращенной фазой Luna 3 микрона, 100А поры, C8(2), 150х3 мм (Phenomenex# 00F-4248-YO, SN#259151-7) с 50 мин линейным градиентом от 40% до 69% (0,1% муравьиной кислоты, 89,9% ацетонитрила, 10% метанола) при 0,25 мл/мин, 100 бар, температуре колонки 37°C, способ 406975M1, Agilent 1100 ЖХ-МС.

Все образцы тестируют в двух повторах, абсорбция 210 нм и 230 нм, записывают спектрограммы отрицательной и положительной ионизации.

Условиях ВЭЖХ:

Таблица 10			
Градиент ВЭЖХ			
Время мин	Растворитель С %	Растворитель D %	
0	60	40	
2	60	40	Растворитель С: 0,1% муравьиная кислота в воде
52	31	69	Растворитель D: 0,1% муравьиная кислота, 89,9% ацетонитрил, 10% метанол
58	31	69	
60	60	40	
75	60	40	

Результаты:

1. Соединение ЕН легко определяется в плазме мышей, время удерживания и масса подтверждается при положительном и отрицательном режимах ионизации. AGILENT ЖХ-МС последовательность 0205-09A. (Фигура 6).

"М-" = 283,2 100%, 567,2 47%.

"М+" = 214,0 100%, 179,2 97%, 214,4 95%, 302,4 85% (соединение Н+Н₂О=302)

Масса формулы 284, время удерживания среднее = 35 мин.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

Плазма мыши #	Время кровотечения, час	Соединение ЕН Концентрация в плазме мышей микроМ
6	0,5	430
7	0,5	342
8	0,5	523
9 1час	1	447
10 1час	1	406
11 1час	1	467
12 2час	2	178
13 2час	2	238
14 2 час	2	241
15	4	148
16	4	154
17	4	134
24	6	93
25	6	268
26	6	231
27	8	95
28	8	147
29	8	187
18	12	79
19	12	36
20	12	74

5	22	16	25
	23	16	61
	30	24	40
10	31	24	26
	32	24	0,74
	33	48	0
15	34	48	0
	35	48	0

Таблица 12			
Данные из Sigma Stat			
20	Время кровотечения, час	Соединение ЕН концентр., микроМ	Станд. ошибка
		среднее	
	0	0	0
	0,5	431,7	52
25	1	440	18
	2	219	20,5
	4	145,3	5,9
	6	197,3	53
	8	143	27
30	12	63	13,58
	16	43	18
	24	22,247	11,5
	48	0	0

Таблица 13	
35	Время (час)
	Соед. ЕН (мкМ)
	0
	0,5
	1
40	2
	4
	6
	8
	12
	16
45	24
	48
	t1/2:
50	AUC ₀₋₂₄ :

С_{max} = 440 микроМ

T_{1/2} = 8,05 час

AUC = 2588 микроМ * час

Формула изобретения

1. 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метилфенил)уксусная кислота или ее фармацевтически приемлемая соль.

2. Способ снижения концентрации мочевой кислоты в крови или увеличения выведения мочевой кислоты у млекопитающего пациента, включающий введение пациенту 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метилфенил)уксусной кислоты или ее фармацевтически приемлемой соли по п.1 в количестве, эффективном для снижения концентрации мочевой кислоты в крови или увеличения выведения мочевой кислоты у пациента.

3. Способ по п.2, где пациентом является человек.

4. Способ по п.2, где 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метилфенил)уксусную кислоту или ее соль формулируют для перорального введения.

5. Способ лечения или профилактики состояния, выбранного из группы, включающей подагру, гиперурикемию, повышенные уровни мочевой кислоты, не соответствующие уровням, обычно определяющим диагноз гиперурикемии, почечную дисфункцию, камни в почках, сердечно-сосудистое заболевание, риск развития сердечно-сосудистого заболевания, синдром распада опухоли, ухудшение познавательной способности и раннюю первичную гипертензию, включающий способ по п.2.

6. Применение биологически активного агента для производства лекарственного средства для снижения концентрации мочевой кислоты в крови или увеличения выведения мочевой кислоты у млекопитающего пациента, где агентом является 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метилфенил)уксусная кислота или ее фармацевтически приемлемая соль по п.1.

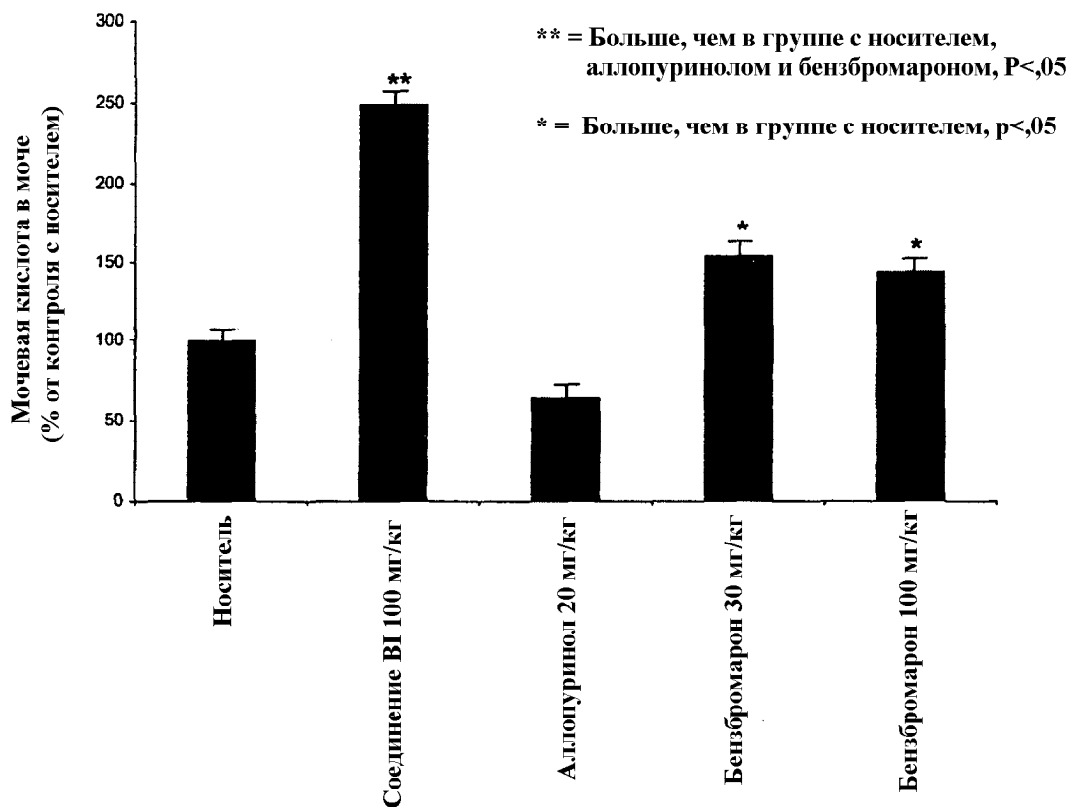
7. Применение по п.6, где лекарственное средство сформулировано для перорального введения.

8. Применение по п.6, где количество выбирают таким образом, что введение лекарственного средства млекопитающему пациенту приводит к лечению или профилактике состояния, выбранного из группы, включающей подагру, гиперурикемию, повышенные уровни мочевой кислоты, не соответствующие уровням, обычно определяющим диагноз гиперурикемии, почечную дисфункцию, камни в почках, сердечно-сосудистое заболевание, риск развития сердечно-сосудистого заболевания, синдром распада опухоли, ухудшение познавательной способности и раннюю первичную гипертензию.

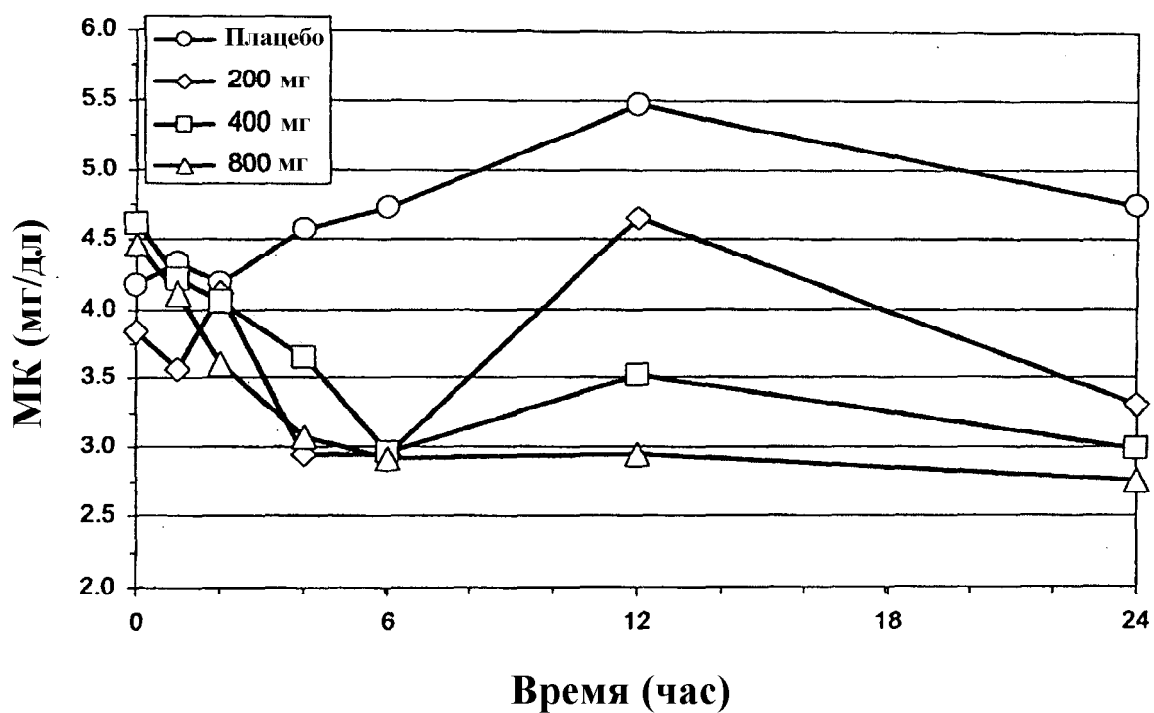
9. Фармацевтическая композиция для применения для снижения концентрации мочевой кислоты в крови или увеличения выведения мочевой кислоты у млекопитающего пациента, содержащая 2-(3-(2,6-диметилбензилокси)-4-метилфенил)уксусную кислоту или ее фармацевтически приемлемую соль по п.1.

10. Фармацевтическая композиция по п.9 для применения для лечения или профилактики состояния, выбранного из группы, включающей подагру, гиперурикемию, повышенные уровни мочевой кислоты, не соответствующие уровням, обычно определяющим диагноз гиперурикемии, почечную дисфункцию, камни в почках, сердечно-сосудистое заболевание, риск развития сердечно-сосудистого заболевания, синдром распада опухоли, ухудшение познавательной способности и раннюю первичную гипертензию.

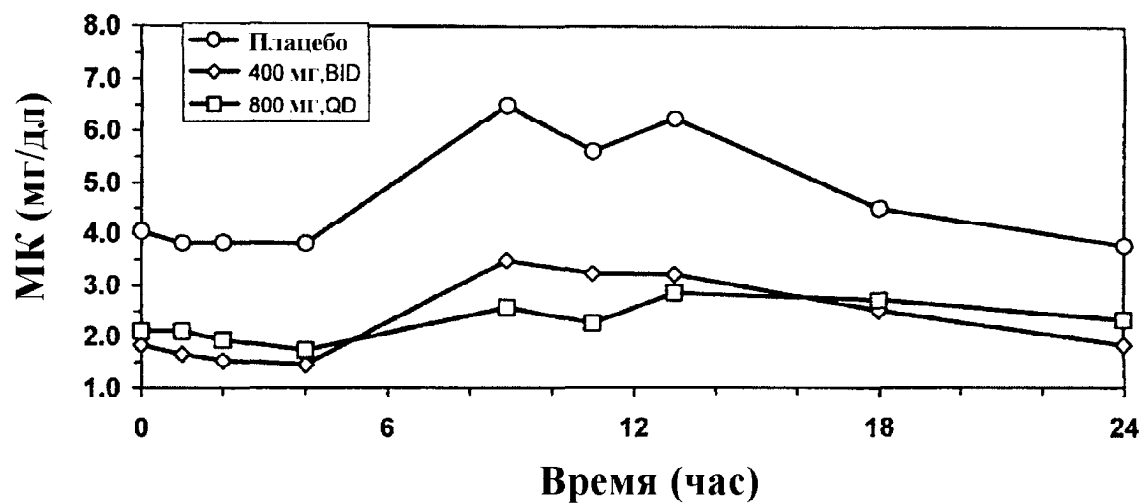
11. Фармацевтическая композиция по п.9, сформулированная для перорального введения.



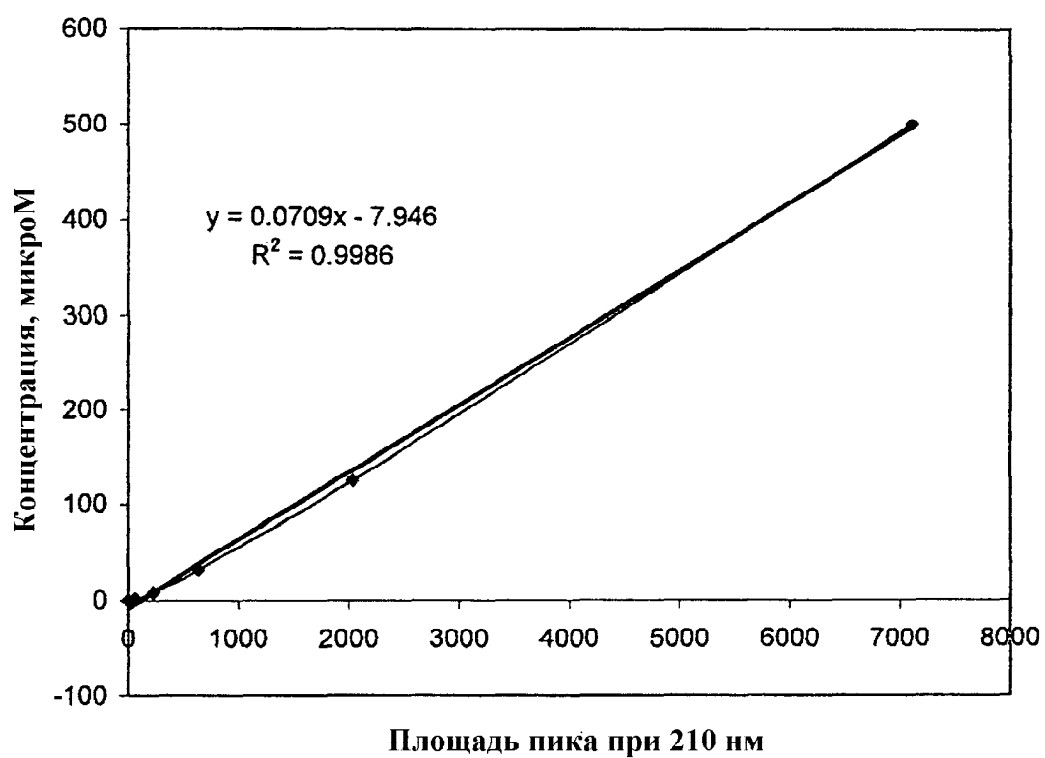
Фиг. 1



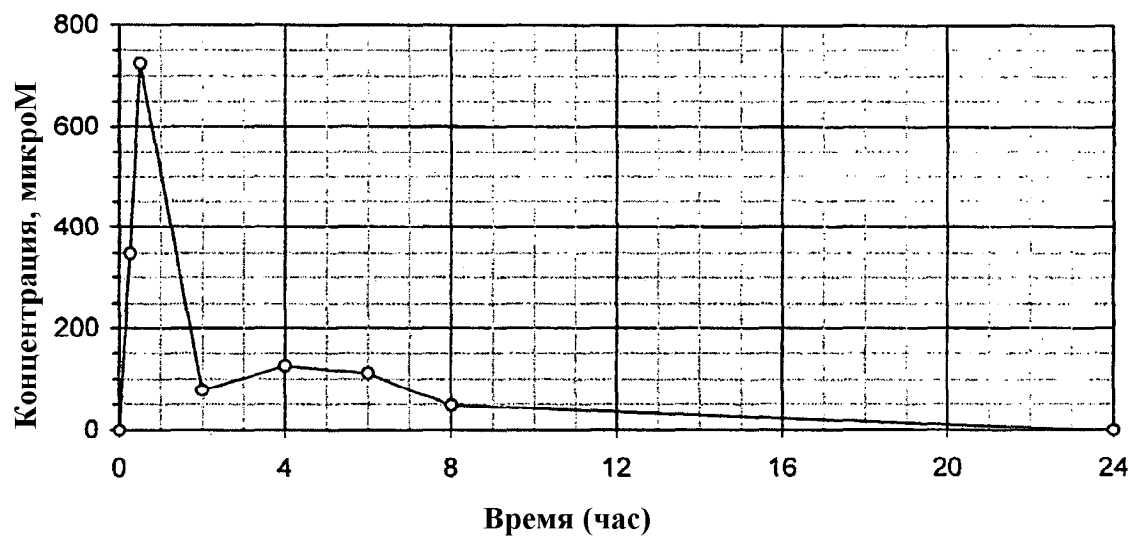
Фиг. 2



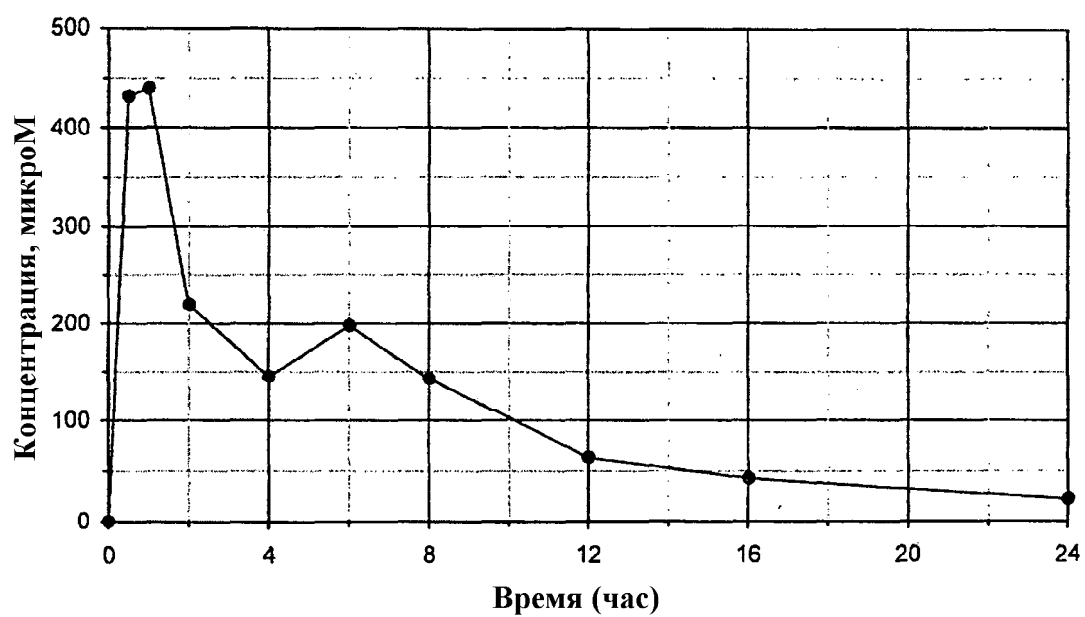
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6