



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **128723** (13) **C2**
(51) МПК**C07D 401/14** (2006.01)**A61P 1/16** (2006.01)**C07D 413/12** (2006.01)**A61K 31/422** (2006.01)**A61K 31/4439** (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНА ОРГАНІЗАЦІЯ
"УКРАЇНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
ОФІС ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ ТА ІННОВАЦІЙ"

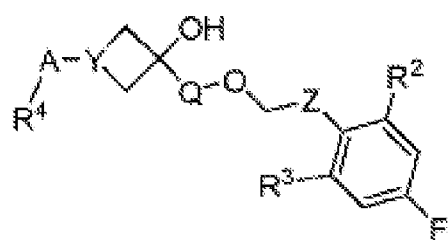
(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2020 04850	(72) Винахідник(и): Бломгрен Пітер А. (US), Керрі Кевін С. (US), Геґе Крістіан (DE), Кропф Джеффри Е. (US), Сюй Цзяньцзюнь (US)
(22) Дата подання заявки: 09.06.2017	(73) Володілець (володільці): ГІЛІАД САЙЄНСІЗ, ІНК., 333 Lakeside Drive, Foster City, CA 94404, USA (US)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 10.10.2024	(74) Представник: Шпакович Тетяна Іванівна, реєстр. №240
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 62/349,490	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: US 9139539 B2, 22.09.2015 WO 2015/138986 A1, 17.09.2015 WO 2013/037482 A1, 21.03.2013 EP 2 128 158 A1, 02.12.2009 WO 2008/025539 A1, 06.03.2008
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 13.06.2016	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: US	
(41) Публікація відомостей про заявку: 10.11.2020, Бюл.№ 21	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 09.10.2024, Бюл.№ 41	
(62) Номер та дата подання попередньої заявки, з якої виділено заявку, позначену кодом (21): а201811806, 09.06.2017	

(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ (ВАРІАНТИ)**(57) Реферат:**

Даний винахід належить до сполук (I), які зв'язуються з рецептором NR1H4 (FXR) та діють як агоністи FXR. Даний винахід також належить до застосування сполук для одержання лікарського засобу для лікування захворювань та/або станів за допомогою зв'язування зазначеного ядерного рецептору зазначеними сполуками та до способу одержання зазначених сполук.

UA 128723 C2



(I)

Дана заявка заявляє пріоритет на підставі попередньої заявки на патент США № 62/349490, поданої 13 червня 2016 року, зміст якої включено у дану заявку у всій повноті за допомогою посилання.

Перелік послідовностей, пов'язаних з даною заявкою, представлений у текстовому форматі замість паперової копії і, таким чином, включається у даний опис за допомогою посилання. Назва текстового файлу, що містить перелік послідовностей, являє собою 1165_PF_ST25.txt. Текстовий файл, створений 16 травня 2017 року, має розмір приблизно 550 байт та представляється у електронному вигляді за допомогою EFS-Web.

Даний винахід належить до сполук, які зв'язуються з рецептором NR1H4 (FXR) та діють як агоністи або модулятори FXR. Даний винахід також належить до застосування сполук для лікування та/або профілактики захворювань та/або станів за допомогою зв'язування зазначеного ядерного рецептору зазначеними сполуками.

Багатоклітинні організми залежать від складних механізмів передачі інформації між клітинами та частинами організму. Передана інформація може бути дуже складною та може приводити до зміни генетичних програм, задіяних у клітинному диференціюванні, проліферації або репродукції. Сигнали, або гормони, часто являють собою низькомолекулярні молекули, такі як пептиди, жирні кислоти або похідні холестерину.

Багато із зазначених сигналів виявляють свій вплив, по суті змінюючи транскрипцію певних генів. Однією з добре вивчених груп білків, які опосередковують клітинну відповідь на різні сигнали, є сімейство транскрипційних факторів, відомих як ядерні рецептори, які далі називаються у даному документі "NR". Члени зазначеної групи включають рецептори для стероїдних гормонів, вітаміну D, екдизону, *цис*- та *транс*-ретиноевої кислоти, гормону щитовидної залози, жовчних кислот, похідних холестерину, жирних кислот (та інших пероксисомальних проліфераторів), а також так звані орфанні рецептори, білки, які структурно схожі з іншими членами зазначеної групи, але для яких не відомі ліганди. Орфанні рецептори можуть вказувати на невідомі сигнальні шляхи у клітині або можуть бути ядерними рецепторами, які функціонують без активації лігандом. Активація транскрипції деякими із зазначених орфанних рецепторів може відбуватися за відсутності екзогенного ліганду та/або через шляхи передачі сигналу, що починаються від поверхні клітини.

У цілому, у NR були визначені три функціональні домени. Вважають, що амінокінцевий домен має деяку регуляторну функцію. За ним іде ДНК-зв'язуючий домен (який далі називають у даному документі "DBD"), який звичайно містить два елементи із цинковими пальцями та розпізнає специфічний елемент гормональної відповіді (що далі називають у даному документі "HRE") у промоторах чутливих генів. Було показано, що конкретні амінокислотні залишки у "DBD" надають специфічність зв'язування з послідовністю ДНК. Лігандзв'язуючий домен (який далі називають у даному документі "LBD") знаходиться у карбоксикінцевій ділянці відомих NR.

За відсутності гормону LBD, очевидно, перешкоджає взаємодії DBD з його HRE. Зв'язування гормону ймовірно приводить до конформаційної зміни у NR і, таким чином, усуває зазначене перешкоджання. NR без LBD конститутивно активує транскрипцію, але на низькому рівні.

Вважають, що коактиватори або активатори транскрипції є зв'язуючою ланкою між специфічними до послідовності факторами транскрипції, основним апаратом транскрипції, а також впливають на структуру хроматину клітини-мішені. Деякі білки, такі як SRC-1, ACTR та Grip1, взаємодіють із NR посилюваним лігандами чином.

Модулятори ядерних рецепторів, такі як стероїдні гормони, впливають на ріст та функціонування конкретних клітин шляхом зв'язування із внутрішньоклітинними рецепторами та утворення комплексів ядерний рецептор-ліганд. Потім комплекси ядерний рецептор-гормон взаємодіють із HRE у контрольній ділянці конкретних генів та змінюють специфічну експресію генів.

Фарнезоїдний X-рецептор альфа (що далі також часто називається у даному документі "NR1H4" у контексті рецептору людини) являє собою прототипний ядерний рецептор типу 2, який активує гени при зв'язуванні із промоторною ділянкою генів-мішеней гетеродимерним чином з ретиноїдним X-рецептором. Відповідними фізіологічними лігандами NR1H4 є жовчні кислоти. Найбільш сильним лігандом є хенодезоксихолева кислота (ХДХК), яка регулює експресію декількох генів, що беруть участь у гомеостазі жовчних кислот. Фарнезол та похідні, які разом називаються фарнезоїдами, спочатку описані для активації щурячого ортологу у високій концентрації, але вони не активують рецептор людини або миші. FXR експресується у печінці, у всьому шлунково-кишковому тракті, включаючи стравохід, шлунок, дванадцятипалу кишку, тонку кишку, товсту кишку, у яєчниках, надниркових та нирках. Крім контролювання внутрішньоклітинної експресії генів FXR, очевидно, також приймає участь у паракринній та ендокринній передачі сигналів за допомогою підвищувальної регуляції експресії цитокіну,

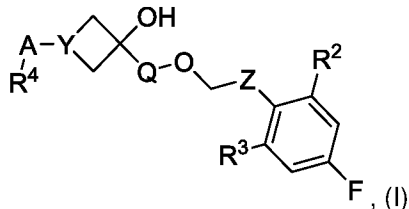
фактору росту фібробластів 15 (гризуни) або 19 (мави, люди).

Хоча відома безліч агоністів FXR, існує потреба у одержанні поліпшених агоністів FXR.

У даному винаході запропоновані сполуки, що зв'язуються з рецептором NR1H4 (FXR) та діють як агоністи або модулятори FXR. Даний винахід також належить до застосування сполук для лікування та/або профілактики захворювань та/або станів за допомогою зв'язування

зазначеного ядерного рецептору зазначеними сполуками.

У даному винаході запропоновані сполуки у відповідності з формулою (I):



де:

Q являє собою фенілен або піридилен, кожен з яких необов'язково заміщений одним або двома замісниками, незалежно вибраними з галогену, метилу, C₁₋₄-алкокси, галоген-C₁₋₄-алкокси, -CH₂F, -CHF₂ та -CF₃;

Y являє собою N або CH;

A являє собою піридилен або фенілен, кожен з яких необов'язково заміщений однією або двома групами, незалежно вибраними з галогену, C₁₋₄-алкокси, галоген-C₁₋₄-алкокси, C₁₋₄-алкілу та галоген-C₁₋₄-алкілу;

Z являє собою ізоксазол, заміщений R¹, або піразол, заміщений R¹;

R¹ являє собою C₁₋₄-алкіл або C₃₋₆-циклоалкіл, де

зазначений C₁₋₄-алкіл необов'язково заміщений 1-3 замісниками, незалежно вибраними з фтору, гідроксилу, C₁₋₃-алкокси та фтор-C₁₋₃-алкокси, та

зазначений C₃₋₆-циклоалкіл необов'язково заміщений 1-3 замісниками, незалежно вибраними з фтору, гідроксилу, C₁₋₃-алкілу, фтор-C₁₋₃-алкілу, C₁₋₃-алкокси та фтор-C₁₋₃-алкокси;

R² та R³ незалежно вибрані з водню, галогену, метокси, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -OCH₂F, -OCHF₂, -OCF₃ та метилу;

R⁴ являє собою -CO₂R⁵ або -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ являє собою водень, C₁₋₆-алкіл або галоген-C₁₋₆-алкіл; та

R⁶ являє собою водень або C₁₋₆-алкіл, де зазначений C₁₋₆-алкіл необов'язково заміщений 1-6 замісниками, незалежно вибраними з галогену, -SO₃H та -CO₂H;

або їх фармацевтично прийнятна сіль, стереоізомер, суміш стереоізомерів або таутомер.

У деяких варіантах реалізації запропоновані фармацевтичні композиції, які містять сполуку формули (I) та фармацевтично прийнятну допоміжну речовину.

У даному документі також запропоновані способи лікування пацієнтів з FXR-опосередкованим станом, які включають введення сполуки формули (I) пацієнту, який цього потребує.

Фіг. 1: вміст речовини у плазмі у прикладі 3 та прикладі порівняння 2 в залежності від рівнів FGF19 у плазмі у макак-крабоїдів.

Фіг. 2: рівні FGF19, отримані у макак-крабоїдів при збільшенні пероральних доз прикладу 3 та прикладу порівняння 2.

У наступному описі представлені наведені як приклад варіанти реалізації даної технології. Проте, слід визнати, що зазначений опис не призначений для обмеження обсягу даного винаходу та призначений для опису наведених як приклад варіантів реалізації.

Наступні слова, фрази та символи, застосовувані у даному описі, звичайно мають значення, викладені нижче, за винятком випадків, коли контекст, у якому вони застосовуються, вказує на інше.

Винахід, ілюстративно описаний у даному документі, можна підходящим чином застосовувати на практиці за відсутності будь-якого елементу або елементів, обмеження або обмежень, конкретно не розкритих у даному документі. Таким чином, наприклад, терміни "що містить", "що включає" і т.п. слід читати у широкому сенсі та без обмежень. Крім того, терміни та вирази, застосовувані у даному документі, застосовують у якості термінів опису, а не обмеження, та застосування таких термінів та виразів не має на увазі виключення будь-яких еквівалентів представлених та описаних відмітних ознак або їх фрагментів та має на увазі, що можливі різні модифікації у межах обсягу заявленого винаходу.

Штрих ("—"), який не знаходиться між двома буквами або символами, застосовують для

вказівки місця приєднання замісника. Наприклад, $-C(O)NH_2$ приєднаний через атом вуглецю. Штрих на початку або кінці хімічної групи, використовують для зручності; хімічні групи можуть бути зображені з одним або більше штрихами або без них без втрати свого звичайного значення. Хвиляста лінія, проведена через структуру, вказує місце приєднання групи. Якщо хімічно або структурно не потрібно, спрямованість не вказується та не мається на увазі порядок, у якому написана або названа хімічна група.

Приставка " C_{u-v} " вказує, що наступна група містить від u до v атомів вуглецю. Наприклад, " C_{1-6} -алкіл" вказує, що алкільна група містить від 1 до 6 атомів вуглецю.

У даному документі посилання на "приблизне" значення або параметр включає (і описує) варіанти реалізації, які спрямовані на зазначене значення або параметр, як такі. У деяких варіантах реалізації термін "приблизно" включає зазначене значення $\pm 10\%$. У інших варіантах реалізації термін "приблизно" включає зазначене значення $\pm 5\%$. У деяких інших варіантах реалізації термін "приблизно" включає зазначене значення $\pm 1\%$. Також термін "приблизно X " включає опис " X ". Крім того, форми однини включають форми множини, якщо контекст явно не вказує на інше. Таким чином, наприклад, посилання на "сполуку" включає багато таких сполук, та посилання на "дослідження" включає посилання на одне або більше досліджень та їх еквівалентів, відомих фахівцям у даній галузі техніки.

У контексті даного винаходу "алкіл" позначає насичений вуглеводневий ланцюг, який може бути прямим або розгалуженим. У контексті даного винаходу " C_{1-6} -алкіл" позначає насичений алкільний ланцюг, що містить від 1 до 6 атомів вуглецю, який може бути прямим або розгалуженим. Їх приклади включають метил, етил, пропіл, ізопропіл, *n*-бутил, ізобутил, *трет*-бутил, *n*-пентил, ізопентил, неопентил та *n*-гексил.

Термін "галогеналкіл" означає, що один або більше атомів водню у алкільному ланцюгу замінені на галоген. Необмежуючим прикладом є CF_3 .

"Циклоалкільна" група позначає насичену або частково ненасичену моно-, бі- або спіроциклічну вуглеводневу кільцеву систему.

"Алкоксигрупа" належить до $-O$ -алкілу, де алкіл є таким, як визначено у даному документі. Приклади алкоксигруп включають метокси, етокси, *n*-пропокси, ізопропокси, *n*-бутокси, *трет*-бутокси, *втор*-бутокси, *n*-пентокси, *n*-гексокси та 1,2-диметилбутокси.

"Галоген" або "галоген-" належить до атому F, Cl, Br або I.

"Гідроксил" або "гідрокси" належить до $-OH$.

"Галогеналкокси" належить до алкоксигрупи, як визначено у даному документі, де один або більше атомів водню у алкільному ланцюзі замінені на галоген.

"Фторалкіл" належить до алкільної групи, як визначено у даному документі, де один або більше атомів водню у алкільному ланцюзі замінені на атом фтору.

"Фторалкокси" належить до алкоксигрупи, як визначено у даному документі, де один або більше атомів водню у алкільному ланцюзі замінені на атом фтору.

Терміни "необов'язковий" або "необов'язково" означають, що описана далі подія або обставина може відбуватися або не відбуватися, та що опис включає випадки, коли зазначена подія або обставина відбувається, та випадки, коли не відбувається. Крім того, термін "необов'язково заміщений" належить до будь-якого одного або більше атомів водню при зазначеному атомі або групі, які можуть бути замінені або можуть бути не замінені на фрагмент, відмінний від водню.

Крім того, сполуки згідно із даним винаходом можуть бути піддані таутомерії. Коли може відбуватися таутомерія, наприклад, кето-енольна таутомерія, сполук згідно із даним винаходом або їх проліків, окремі форми, такі як, наприклад, кето- та енольна форми, а також їх суміші у будь-яких співвідношеннях, включені у обсяг даного винаходу. Те ж саме належить до стереоізомерів, таких як, наприклад, енантіомери, *цис/транс*-ізомери, конформери і т.п.

Термін "захисна група" належить до фрагменту сполуки, який маскує а

бо змінює властивості функціональної групи або властивості сполуки у цілому. Хімічні захисні групи та способи введення/зняття захисту добре відомі у даній галузі техніки. Див., наприклад, *Protective Groups in Organic Chemistry*, Theodora W. Greene, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1991. Захисні групи звичайно застосовують для маскування реакційної здатності певних функціональних груп для сприяння ефективності бажаних хімічних реакцій, наприклад, утворення або розриву хімічних зв'язків упорядкованим та запланованим чином. Термін "зняття захисту" належить до видалення захисної групи.

"Відхідна група" включає молекулярний фрагмент, який може відщеплюватися з парою електронів від ковалентного зв'язку з атомом вуглецю, що приймає участь у реакції, у процесі хімічної реакції.

Фахівцеві зрозуміло, що, якщо список альтернативних замісників включає членів, які через

вимоги до їх валентності або з інших причин не можуть бути використані для заміни конкретної групи, список слід читати з урахуванням знань фахівця, включаючи тільки тих членів списку, які підходять для заміни конкретної групи.

У деяких варіантах реалізації сполуки згідно із даним винаходом можуть бути у формі "проліків". Термін "проліки" визначається у галузі фармацевтики, як біологічно неактивна похідна лікарського засобу, яка при введенні у організм людини перетворюється у біологічно активний вихідний лікарський засіб відповідно до якого-небудь хімічного або ферментативного шляху. Приклади проліків включають етерифіковані карбонові кислоти.

У печінці людини УДФ-глюкуронозилтрансферази діють на деякі сполуки, які містять аміно-, карбамільні, тіо- (сульфгідрильні) або гідроксильні групи, для кон'югування уридиндифосфат- α -D-глюкуронової кислоти через глікозидні зв'язки або для етерифікації сполук з карбоксильними або гідроксильними групами у процесі фази II метаболізму. Сполуки відповідно до даного винаходу можуть бути глюкуронізовані, тобто кон'юговані з глюкуроновою кислотою, з одержанням глюкуронідів, зокрема, (β -D)-глюкуронідів.

Однією зі стадій утворення жовчі є кон'югування окремих жовчних кислот з амінокислотою, зокрема, гліцином або таурином. Сполуки згідно з даним винаходом можуть бути кон'юговані із гліцином або таурином у положенні, що заміщується.

Сполуки згідно із даним винаходом можуть бути у формі фармацевтично прийнятної солі. Термін "фармацевтично прийнятні солі" належить до солей, отриманих з фармацевтично прийнятних нетоксичних основ або кислот, включаючи неорганічні основи або кислоти та органічні основи або кислоти. Якщо сполуки згідно із даним винаходом містять одну або більше кислотних або основних груп, даний винахід також включає їх відповідні фармацевтично або токсикологічно прийнятні солі, зокрема, їх фармацевтично застосовувані солі. Таким чином, сполуки згідно із даним винаходом, які містять кислотні групи, можуть бути представлені із зазначеними групами та можуть бути використані відповідно до даного винаходу, наприклад, у вигляді солей лужних металів, солей лужноземельних металів або солей амонію. Більш точні приклади таких солей включають солі натрію, солі калію, солі кальцію, солі магнію або солі з аміаком або органічними амінами, такими як, наприклад, етиламін, етаноламін, триетаноламін або амінокислоти. Сполуки згідно із даним винаходом, які містять одну або більше основних груп, тобто груп, які можуть бути протоновані, можуть бути представлені та можуть бути використані відповідно до даного винаходу у формі їх солей приєднання з неорганічними або органічними кислотами. Приклади підходящих кислот включають хлористий водень, бромистий водень, фосфорну кислоту, сірчану кислоту, азотну кислоту, метансульфонову кислоту, *p*-толуолсульфонову кислоту, нафталіндисульфонові кислоти, щавлеву кислоту, оцтову кислоту, винну кислоту, молочну кислоту, саліцилову кислоту, бензойну кислоту, мурашину кислоту, пропіонову кислоту, півалеву кислоту, діетилоцтову кислоту, малонову кислоту, бурштинову кислоту, пімелінову кислоту, фумарову кислоту, малеїнову кислоту, яблучну кислоту, сульфамінову кислоту, фенілпропіонову кислоту, глюконову кислоту, аскорбінову кислоту, ізоніотинову кислоту, лимонну кислоту, адипінову кислоту та інші кислоти, відомі фахівцям у даній галузі техніки. Якщо сполуки згідно із даним винаходом одночасно містять у молекулі кислотні та основні групи, даний винахід, на додаток до згаданих сольових форм, також включає внутрішні солі або бетаїни (цвіттер-іони). Відповідні солі можуть бути отримані за звичайними способами, які відомі фахівцям у даній галузі техніки, такими як, наприклад, шляхом приведення їх у контакт із органічною або неорганічною кислотою або основою у розчиннику або диспергаторі або шляхом аніонного обміну або катіонного обміну з іншими солями. Даний винахід також включає всі солі сполук згідно із даним винаходом, які через низьку фізіологічну сумісність не є безпосередньо підходящими для застосування у фармацевтичних препаратах, але які можуть бути використані, наприклад, у якості проміжних сполук для хімічних реакцій або для одержання фармацевтично прийнятних солей.

Крім того, сполуки згідно із даним винаходом можуть бути представлені у формі сольватів, таких як сольвати, які містять у якості розчинника воду, або фармацевтично прийнятних сольватів, таких як сольвати, які містять у якості розчинника спирти, зокрема, етанол. "Сольват" утворюється при взаємодії розчинника та сполуки.

У деяких варіантах реалізації запропоновані оптичні ізомери, рацемати або інші суміші сполук, описаних у даному документі, або їх фармацевтично прийнятних солей або сумішей. При бажанні, ізомери можна розділяти за допомогою способів, відомих у даній галузі техніки, наприклад, шляхом рідинної хроматографії. У зазначених ситуаціях окремий енантіомер або діастереомер, тобто оптично активну форму, можна одержувати шляхом асиметричного синтезу або шляхом розділення. Розділення можна проводити, наприклад, звичайними способами, такими як кристалізація у присутності розділяючого агента або хроматографія,

наприклад, із застосуванням колонки для хіральної вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

"Стереізомер" належить до сполук, що складаються із однакових атомів, зв'язаних однаковими зв'язками, але, що мають різні тривимірні структури, які не є взаємозамінними. Даний винахід передбачає різні стереізомери та їх суміші та включає "енантіомери", які відносяться до двох різних стереізомерів, молекули яких являють собою несумісні дзеркальні відбиття один іншого. "Діастереомери" являють собою стереізомери, які містять щонайменше два асиметричні атоми, але при цьому не є дзеркальними відбиттями один іншого.

Сполуки, описані у даному документі, та їх фармацевтично прийнятні солі можуть містити центр асиметрії та, отже, можуть мати енантіомерні, діастереомерні та інші стереізомерні форми, які можуть бути визначені у термінах абсолютної стереохімії, як (*R*)- або (*S*)- або як (*D*)- або (*L*)- для амінокислот. Вважаються, що даний винахід включає всі такі можливі ізомери, а також їх рацемічні та оптично чисті форми. Оптично активні (+) та (-), (*R*)- та (*S*)- або (*D*)- та (*L*)- ізомери можна одержувати із застосуванням хіральних синтонів або хіральних реагентів або можна розділяти із застосуванням звичайних способів, наприклад, хроматографії та фракційної кристалізації. Звичайні способи одержання/виділення окремих енантіомерів включають хіральний синтез із підходящого оптично чистого попередника або розділення рацемату (або рацемату солі або похідної) із застосуванням, наприклад, хіральної вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Якщо сполуки, описані у даному документі, містять подвійні олефінові зв'язки або інші центри геометричної асиметрії, та, якщо не зазначене інше, мають на увазі, що сполуки включають як *E*, так і *Z* геометричні ізомери.

Композиції, запропоновані у даному документі, які містять сполуку, описану у даному документі, або фармацевтично прийнятні солі, ізомер або їх суміш, можуть включати рацемічні суміші або суміші, що містять енантіомерний надлишок одного енантіомеру, або окремі діастереомери, або діастереомерні суміші. Усі такі ізомерні форми зазначених сполук явно включені у даний документ так само, як якби кожна з ізомерних форм була перерахована конкретно та окремо.

Будь-яка форма або структура, наведена у даному документі, також призначена для представлення немічених форм, а також ізотопно-мічених форм сполук. Ізотопно-мічені сполуки мають структури, зображені формулами, наведеними у даному документі, за винятком того, що один або більше атомів замінені на атом, що має обрану атомну масу або масове число. Приклади ізотопів, які можуть бути включені у сполуки згідно із даним винаходом, включають ізотопи водню, вуглецю, азоту, кисню, фосфору, фтору та хлору, такі як, але не обмежуючись ними, ²H (дейтерій, D), ³H (третій), ¹¹C, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁸F, ³¹P, ³²P, ³⁵S, ³⁶Cl та ¹²⁵I. Різні ізотопно-мічені сполуки згідно із даним винаходом, наприклад, сполуки, у які включені радіоактивні ізотопи, такі як ³H, ¹³C та ¹⁴C. Такі ізотопно-мічені сполуки можуть підходити для застосування для метаболічних досліджень, досліджень кінетики реакцій, способів детектування та візуалізації, таких як позитронно-емісійна томографія (ПЕТ) або однофотонна емісійна комп'ютерна томографія (ОФЕКТ), включаючи дослідження розподілу лікарського засобу або субстрату у тканині, або для радіоактивного лікування пацієнтів. Ізотопно-мічені сполуки згідно із даним винаходом та їх проліки звичайно можна одержувати шляхом проведення процедур, описаних у схемах або у прикладах та способах одержання, описаних нижче, шляхом заміни неізотопно-міченого реагенту на легко доступний ізотопно-мічений реагент.

Даний винахід також включає "дейтеровані аналоги" сполук формули (I), у яких від 1 до n атомів водню, приєднаних до атому вуглецю, замінені на атоми дейтерію, де n являє собою кількість атомів водню у молекулі. Такі сполуки можуть проявляти підвищену стійкість до метаболізму і, отже, можуть підходити для збільшення періоду напіввиведення будь-якої сполуки формули I при введенні ссавцеві, наприклад, людині. Див., наприклад, Foster, "Deuterium Isotope Effects in Studies of Drug Metabolism," Trends Pharmacol. Sci. 5(12):524-527 (1984). Такі сполуки синтезують за допомогою способів, добре відомих у даній галузі техніки, наприклад, шляхом застосування вихідних матеріалів, у яких один або більше атомів водню замінені на дейтерій.

Мічені або заміщені дейтерієм терапевтичні сполуки згідно із даним винаходом можуть мати поліпшені властивості DMPK (метаболізм та фармакокінетика лікарського засобу), пов'язані з розподілом, метаболізмом та виділенням (ADME). Заміна більш важкими ізотопами, такими як дейтерій, може забезпечувати певні терапевтичні переваги, обумовлені більшою метаболічною стабільністю, наприклад, збільшення періоду напіввиведення *in vivo*, зниження вимог до дозування та/або поліпшення терапевтичного індексу. Сполука, мічена ¹⁸F, може підходити для застосування для ПЕТ або ОФЕКТ досліджень.

Концентрацію такого більш важкого ізотопу, зокрема, дейтерію, можна визначати за

допомогою коефіцієнта ізотопного збагачення. У сполуках згідно із даним винаходом будь-який атом, спеціально не позначений, як конкретний ізотоп, може являти собою будь-який стабільний ізотоп зазначеного атому. Якщо не зазначене інше, коли положення конкретно позначене, як "H" або "водень", мають на увазі, що положення містить водень у його природній ізотопній сполучі.

Відповідно, у сполуках згідно із даним винаходом будь-який атом, конкретно позначений, як дейтерій (D), являє собою дейтерій.

Крім того, у даному винаході запропоновані фармацевтичні композиції, що містять щонайменше одну сполуку згідно із даним винаходом, або її проліки, або її фармацевтично прийнятну сіль або сольват як активний інгредієнт разом з фармацевтично прийнятною речовиною-носієм.

"Фармацевтична композиція" позначає один або більше активних інгредієнтів та один або більше інертних інгредієнтів, які складають речовину-носіє, а також будь-який продукт, який прямо або побічно утворюється у результаті комбінування, комплексоутворення або агрегації будь-яких двох або більше інгредієнтів, або у результаті дисоціації одного або більше інгредієнтів, або у результаті інших типів реакцій або взаємодій одного або більше інгредієнтів. Відповідно, фармацевтичні композиції згідно із даним винаходом охоплюють будь-яку композицію, отриману шляхом змішування щонайменше однієї сполуки згідно із даним винаходом та фармацевтично прийнятною речовиною-носієм.

Список аббревіатур та акронімів

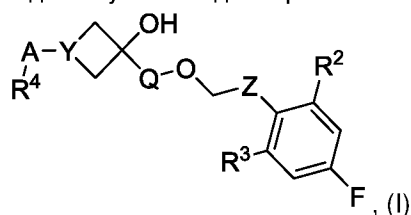
20

Абревіатура	Значення
(±)-BINAP	(±)-2,2'-Біс(дифенілфосфіно)-1,1'-бінафталін
2-Me-ТГФ	2-Метилтетрагідрофуран
АЦН або MeCN	Ацетонітрil
вод.	Водний
Bn	Бензил
BOC або Boc	<i>tert</i> -Бутилоксикарбоніл
БСА	Бичачий сироватковий альбумін
ЗСР	Збалансований сольовий розчин
calcd	Вирахувано
ДАСТ	(Діетиламіно)сірки трифторид
ДХМ	Дихлорметан
DIBAL-H	Діізобутилалюмінійгідрид
ДМФА	Диметилформамід
DMCO	Диметилсульфоксид
EA	Етилацетат
ЕДТА	Етилендіамінтетраоцтова кислота
IEP	Іонізація електророзпиленням
Et	Етил
Et ₂ O	Діетиловий ефір
EtOAc	Етилацетат
ФБС	Фетальна бичача сироватка
год.	година(и)
HATU	1-[Біс(диметиламіно)метиле]-1 <i>H</i> -1,2,3-триазоло[4,5- <i>b</i>]піридиній-3-оксиду гексафторфосфат
ВЕРХ	Високоєфективна рідинна хроматографія
ІПС	Ізопропіловий спирт
ІПТГ	Ізопропіл-β-D-1-тіогалактопіранозид
PXMC або PX/MC	Рідинна хроматографія/мас-спектрометрія
Me	Метил
MEM	Мінімальне поживне середовище
MeOH	Метанол
хвил.	Хвилина(и)
МС	Мас-спектрометрія
m/z	Співвідношення маси до заряду
НАДФ	Дигідронікотинамідаденіндинуклеотидфосфат
NMP	N-метилпіролідон
ЯМР	Спектроскопія ядерного магнітного резонансу
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Бутиллітій
об/хвил.	Обороти на хвилину

ПЕ	Петролейний ефір
КТ	Кімнатна температура
нас.	Насичений
ТБАФ	Тетрабутиламонію фторид
TBDMS	<i>трет</i> -Бутилдиметилсиліл
TBS	<i>трет</i> -Бутилдиметилсиліл
TEMPO	2,2,6,6-Тетраметилпіперидин-1-оксил
ТФК	Трифтороцтова кислота
ТГФ	Тетрагідрофуран
TMS	Триметилсиліл
НВЕРХ	Надвисокоєфективна рідинна хроматографія

Сполуки

У даному винаході запропоновані сполуки у відповідності з формулою (I):



5

де:

Q являє собою фенілен або піридилен, кожен з яких необов'язково заміщений одним або двома замісниками, незалежно вибраними з галогену, метилу, C₁₋₄-алкокси, галоген-C₁₋₄-алкокси, -CH₂F, -CHF₂ та -CF₃;

10 Y являє собою N або CH;

A являє собою піридилен або фенілен, кожен з яких необов'язково заміщений однією або двома групами, незалежно вибраними з галогену, C₁₋₄-алкокси, галоген-C₁₋₄-алкокси, C₁₋₄-алкілу та галоген-C₁₋₄-алкілу;

Z являє собою ізоксазол, заміщений R¹, або піразол, заміщений R¹;

15 R¹ являє собою C₁₋₄-алкіл або C₃₋₆-циклоалкіл, де

зазначений C₁₋₄-алкіл необов'язково заміщений 1-3 замісниками, незалежно вибраними з фтору, гідроксилу, C₁₋₃-алкокси та фтор-C₁₋₃-алкокси, та

зазначений C₃₋₆-циклоалкіл необов'язково заміщений 1-3 замісниками, незалежно вибраними з фтору, гідроксилу, C₁₋₃-алкілу, фтор-C₁₋₃-алкілу, C₁₋₃-алкокси та фтор-C₁₋₃-алкокси;

20 R² та R³ незалежно вибрані з водню, галогену, метокси, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -OCH₂F, -OCHF₂, -OCF₃ та метилу;

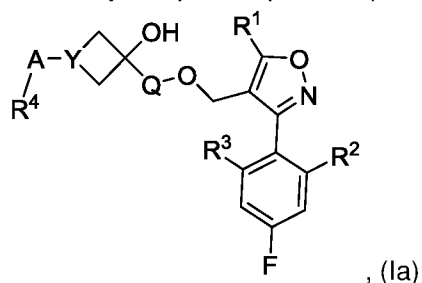
R⁴ являє собою -CO₂R⁵ або -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ являє собою водень, C₁₋₆-алкіл або галоген-C₁₋₆-алкіл; та

25 R⁶ являє собою водень або C₁₋₆-алкіл, де зазначений C₁₋₆-алкіл необов'язково заміщений 1-6 замісниками, незалежно вибраними з галогену, -SO₃H та -CO₂H;

або їх фармацевтично прийнятна сіль, стереоізомер, суміш стереоізомерів або таутомер.

У одному з варіантів реалізації запропоновані сполуки формули (Ia):



30

де:

Q являє собою фенілен або піридилен, кожен з яких необов'язково заміщений одним або двома замісниками, незалежно вибраними з галогену, метилу, C₁₋₄-алкокси, галоген-C₁₋₄-алкокси, -CH₂F, -CHF₂ та -CF₃;

Y являє собою N або CH;

35 A являє собою піридилен або фенілен, кожен з яких необов'язково заміщений однією або

двома групами, незалежно вибраними з галогену, C₁₋₄-алкокси, галоген-C₁₋₄-алкокси, C₁₋₄-алкілу та галоген-C₁₋₄-алкілу;

R¹ являє собою C₁₋₄-алкіл або C₃₋₆-циклоалкіл, де

зазначений C₁₋₄-алкіл необов'язково заміщений 1-3 замісниками, незалежно вибраними з фтору, гідроксилу, C₁₋₃-алкокси та фтор-C₁₋₃-алкокси, та

зазначений C₃₋₆-циклоалкіл необов'язково заміщений 1-3 замісниками, незалежно вибраними з фтору, гідроксилу, C₁₋₃-алкілу, фтор-C₁₋₃-алкілу, C₁₋₃-алкокси та фтор-C₁₋₃-алкокси;

R² та R³ незалежно вибрані з водню, галогену, метокси, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -OCH₂F, -OCHF₂, -OCF₃ та метилу;

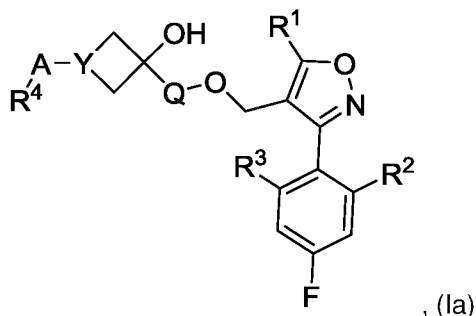
R⁴ являє собою -CO₂R⁵ або -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ являє собою водень, C₁₋₆-алкіл або галоген-C₁₋₆-алкіл;

R⁶ являє собою водень або C₁₋₆-алкіл, де зазначений C₁₋₆-алкіл необов'язково заміщений 1-6 замісниками, незалежно вибраними з галогену, -SO₃H та -CO₂H;

або їх фармацевтично прийнятна сіль, стереоізомер, суміш стереоізомерів або таутомер.

У одному з варіантів реалізації запропоновані сполуки формули (Ia):



де:

Q являє собою фенілен, необов'язково заміщений одним або двома галогенами;

Y являє собою N або CH;

A являє собою піридилен, необов'язково заміщений однією або двома групами, незалежно вибраними з галогену та C₁₋₄-алкокси;

R¹ являє собою C₁₋₄-алкіл або C₃₋₆-циклоалкіл;

R² та R³ незалежно вибрані з водню та галогену;

R⁴ являє собою -CO₂R⁵ або -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ являє собою водень; та

R⁶ являє собою C₁₋₂-алкіл, необов'язково заміщений -CO₂H або -SO₃H;

або їх фармацевтично прийнятна сіль, стереоізомер, суміш стереоізомерів або таутомер.

У одному з варіантів реалізації Q являє собою фенілен або піридилен, кожен з яких необов'язково заміщений одним або двома замісниками, незалежно вибраними з галогену, метилу, -CHF₂ та -CF₃. У деяких варіантах реалізації Q являє собою фенілен, необов'язково заміщений одним або двома замісниками, незалежно вибраними з галогену, метилу та -CF₃. У деяких варіантах реалізації Q являє собою піридилен, необов'язково заміщений одним або двома замісниками, незалежно вибраними з галогену, метилу та -CF₃.

У одному з варіантів реалізації Q являє собою фенілен, необов'язково заміщений одним або двома галогенами. У деяких варіантах реалізації Q являє собою піридилен, необов'язково заміщений одним або двома галогенами. У деяких варіантах реалізації Q являє собою фенілен, необов'язково заміщений одним або двома атомами хлору. У деяких варіантах реалізації Q являє собою піридилен, необов'язково заміщений одним або двома атомами хлору.

У одному з варіантів реалізації Q являє собою фенілен, заміщений одним атомом хлору. У деяких варіантах реалізації Q являє собою піридилен, заміщений одним атомом хлору.

У одному з варіантів реалізації R¹ являє собою C₁₋₄-алкіл. У деяких варіантах реалізації R¹ являє собою C₃₋₆-циклоалкіл. У деяких варіантах реалізації R¹ являє собою циклопропіл або метил. У деяких варіантах реалізації R¹ являє собою циклопропіл.

У одному з варіантів реалізації обидва з R² та R³ не є атомами водню. У деяких варіантах реалізації R² та R³ незалежно вибрані з водню, галогену, метокси, -OCHF₂, -OCF₃ та метилу. У деяких варіантах реалізації R² та R³ незалежно вибрані з галогену, метокси, -OCHF₂, -OCF₃ та метилу.

У одному з варіантів реалізації R² та R³ являють собою галоген. У деяких варіантах реалізації R² та R³ являють собою хлор.

У одному з варіантів реалізації один з R² та R³ являє собою галоген, а інший являє собою

водень. У одному з варіантів реалізації один з R^2 та R^3 являє собою хлор, а інший являє собою водень. У деяких варіантах реалізації один з R^2 та R^3 являє собою фтор, а інший являє собою водень.

У одному з варіантів реалізації Y являє собою N . У деяких варіантах реалізації Y являє собою CH .

У одному з варіантів реалізації A являє собою піридилен, необов'язково заміщений одним або двома галогенами. У деяких варіантах реалізації A являє собою піридилен, необов'язково заміщений одним або двома C_{1-4} -алкокси.

У одному з варіантів реалізації A являє собою піридилен, заміщений одним атомом фтору. У деяких варіантах реалізації A являє собою піридилен, заміщений одним метокси. У одному з варіантів реалізації A являє собою незаміщений піридилен.

У одному з варіантів реалізації A являє собою фенілен, необов'язково заміщений одним або двома галогенами. У одному з варіантів реалізації A являє собою фенілен, необов'язково заміщений одним або двома C_{1-4} -алкокси.

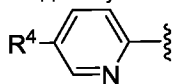
У одному з варіантів реалізації A являє собою фенілен, заміщений одним атомом фтору. У одному з варіантів реалізації A являє собою фенілен, заміщений одним метокси. У одному з варіантів реалізації A являє собою незаміщений фенілен.

У одному з варіантів реалізації R^4 являє собою $-CO_2R^5$, та R^5 являє собою водень. У одному з варіантів реалізації R^4 являє собою $-CO_2R^5$, та R^5 являє собою C_{1-6} -алкіл або галоген- C_{1-6} -алкіл.

У одному з варіантів реалізації R^4 являє собою $-C(O)NR^5R^6$, R^5 являє собою C_{1-6} -алкіл або галоген- C_{1-6} -алкіл, та R^6 являє собою C_{1-2} -алкіл, де зазначений C_{1-2} -алкіл заміщений $-SO_3H$ або $-CO_2H$.

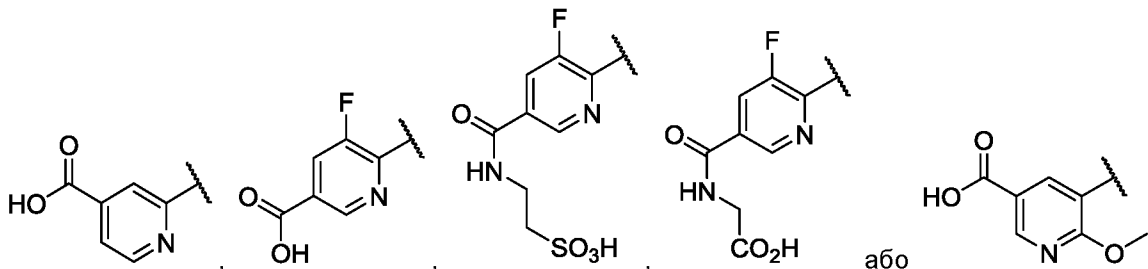
У одному з варіантів реалізації R^4 являє собою $-C(O)NR^5R^6$, R^5 являє собою водень, та R^6 являє собою C_{1-2} -алкіл, де зазначений C_{1-2} -алкіл заміщений $-SO_3H$ або $-CO_2H$.

У одному з варіантів реалізації R^4 - A являє собою:

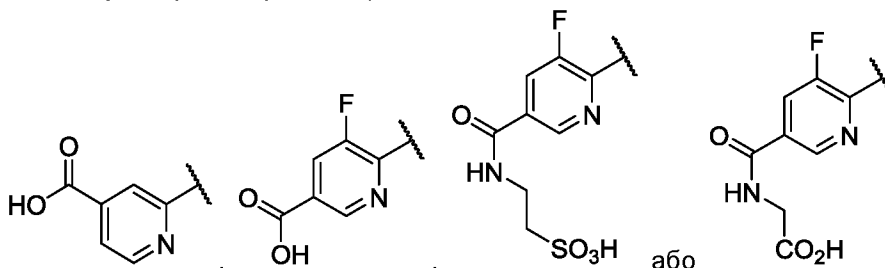


, де піридилен необов'язково заміщений однією або двома групами, незалежно вибраними з галогену, C_{1-4} -алкокси, галоген- C_{1-4} -алкокси, C_{1-4} -алкілу та галоген- C_{1-4} -алкілу.

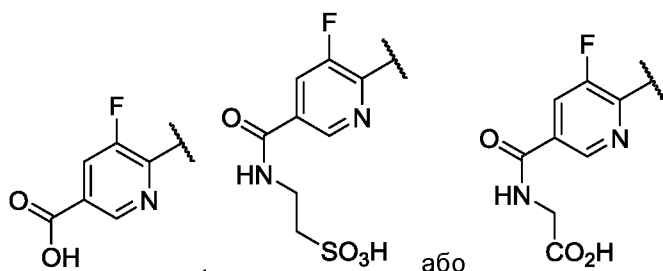
У одному з варіантів реалізації R^4 - A являє собою:



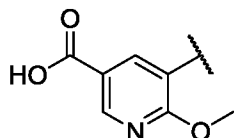
У одному з варіантів реалізації R^4 - A являє собою:



У одному з варіантів реалізації R^4 - A являє собою:

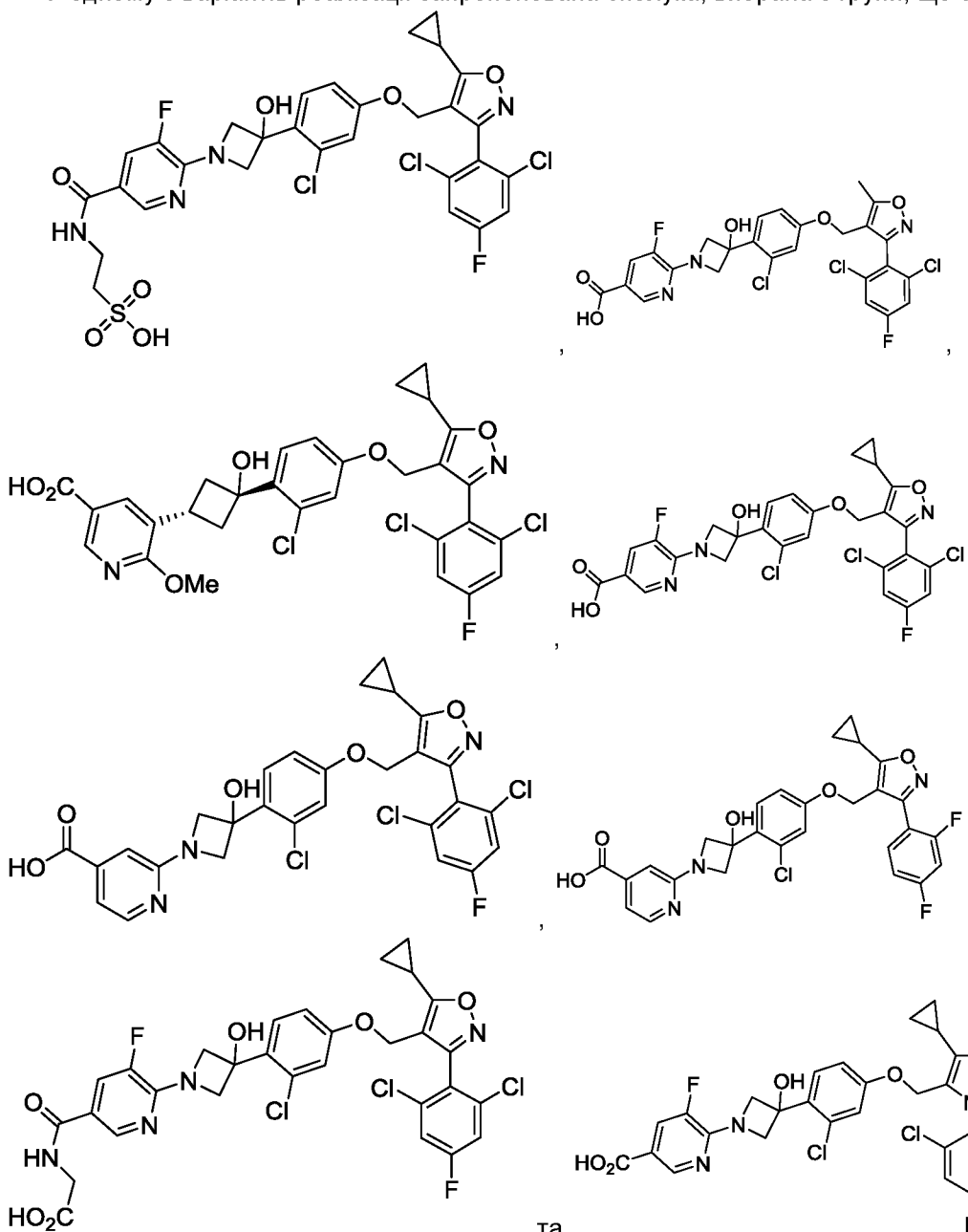


У одному з варіантів реалізації R⁴-А являє собою



У одному з варіантів реалізації запропонована сполука, вибрана з групи, що складається з:

5



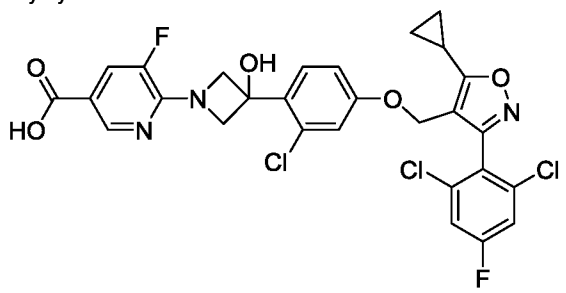
та

або її фармацевтично прийнятна сіль, стереоізомер, суміш стереоізомерів або таутомер.

10

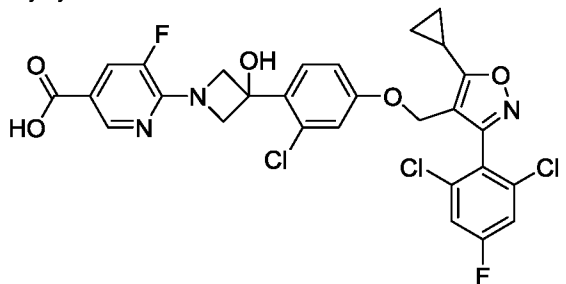
У одному з варіантів реалізації даного винаходу запропонована сполука, що має наступну

формулу:



або її фармацевтично прийнятна сіль.

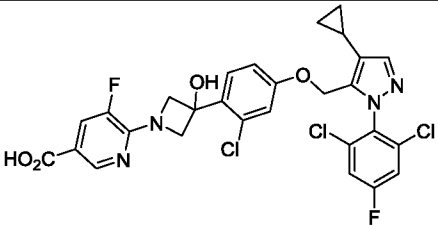
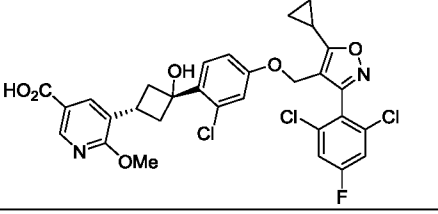
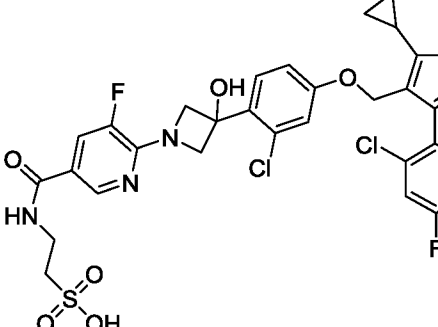
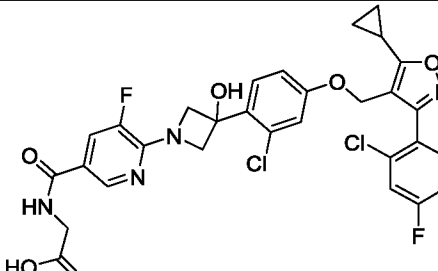
У одному з варіантів реалізації даного винаходу запропонована сполука, що має наступну формулу:



Хімічні назви кожної із зазначених сполук представлені нижче у таблиці 1.

Таблиця 1

Приклад	Структура	Назва за ІЮПАК
1		2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,4-дифторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)ізонікотинава кислота
2		2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)ізонікотинава кислота
3		6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинава кислота
4		6-(3-(2-хлор-4-((3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-5-метилізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинава кислота

5		6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропіл-1-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-1H-піразол-5-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинава кислота
6		5-((1S,3S)-3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксициклобутил)-6-метоксинікотинава кислота
7		2-(6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинамідометил)-сульфонова кислота
8		(6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинамідометил)-гліцин

Фармацевтичні композиції та способи введення

У даному винаході також запропоновані фармацевтичні композиції, що містять щонайменше одну сполуку згідно із даним винаходом або її проліки, фармацевтично прийнятну сіль або сольват як активний інгредієнт разом з фармацевтично прийнятною речовиною-носієм.

Фармацевтична композиція згідно із даним винаходом може додатково містити одну або більше інших сполук як активні інгредієнти, такі як проліки або інші модулятори ядерних рецепторів.

Композиції підходять для перорального, ректального, місцевого, парентерального (включаючи підшкірне, внутрішньом'язове та внутрішньовенне), очного (офтальмологічного), легеневого (носова або ротова інгаляція) або назального введення, хоча найбільш підходящий спосіб у будь-якому конкретному випадку залежить від природи та важкості станів, що підлягають лікуванню, та від природи активного інгредієнта. Вони можуть бути зручно представлені у стандартній лікарській формі та отримані за допомогою будь-якого зі способів, добре відомих у галузі фармацевтики.

При практичному застосуванні сполуки згідно із даним винаходом можна комбінувати як активний інгредієнт у однорідній суміші з фармацевтичною речовиною-носієм у відповідності зі стандартними способами одержання фармацевтичних препаратів. Речовина-носіє може мати різні форми залежно від форми препарату, бажаної для введення, наприклад, перорального або парентерального (включаючи внутрішньовенне). При одержанні композицій для пероральної лікарської форми можна використовувати будь-які звичайні фармацевтичні середовища, такі як, наприклад, вода, гліколі, масла, спирти, ароматизатори, консерванти, забарвлюючі агенти і т.п., у випадку рідких препаратів для перорального застосування, таких як, наприклад, суспензії, еліксири та розчини; або речовини-носії, такі як крохмалі, цукри, мікрокристалічна целюлоза, розріджувачі, гранулюючі агенти, змащувальні речовини,

зв'язувальні речовини, розпушувачі і т.п., у випадку твердих препаратів для перорального застосування, таких як, наприклад, порошки, тверді та м'які капсули та таблетки, причому тверді препарати для перорального застосування є більш кращими у порівнянні з рідкими препаратами.

Через легкість їх введення таблетки та капсули являють собою найбільш вигідну стандартну лікарську форму для перорального застосування, при цьому у зазначеному випадку застосовують тверді фармацевтичні речовини-носії. При бажанні, таблетки можна покривати за допомогою стандартних водних або неводних способів. Такі композиції та препарати повинні містити щонайменше 0,1 відсотку активної сполуки. Звичайно, процентний вміст активної сполуки у зазначених композиціях може варіюватися та може зручним чином становити від приблизно 2 відсотків до приблизно 60 відсотків від маси лікарської форми. Кількість активної сполуки у таких терапевтично застосованих композиціях є таким, що вона забезпечує одержання ефективного дозування. Активні сполуки також можна вводити інтраназально, наприклад, у вигляді крапель рідини або спрею.

Таблетки, пігулки, капсули і т.п. також можуть містити зв'язувальну речовину, таку як трагакантова камедь, аравійська камедь, кукурудзяний крохмаль або желатин; допоміжні речовини, такі як дикальційфосфат; розпушувач, такий як кукурудзяний крохмаль, картопляний крохмаль, альгінова кислота; змащувальну речовину, таку як стеарат магнію; та підсолоджувач, такий як сахароза, лактоза або сахарин. Якщо стандартна лікарська форма являє собою капсулу, на додаток до зазначених вище типів вона може містити рідку речовину-носію, таку як жирне масло.

Різні інші матеріали можуть бути присутніми у вигляді покриттів або для модифікації фізичної форми стандартної лікарської форми. Наприклад, таблетки можна покривати шелаком, цукром або ними обома. Сироп або еліксир на додаток до активного інгредієнта може містити сахарозу як підсолоджувач, метил- та пропілпарабенм як консерванти, барвник та ароматизатор, такий як вишневий або апельсиновий ароматизатор.

Оскільки сполуки згідно із даним винаходом в основному являють собою карбонові кислоти або подібні їх аніонні ізостери, та оскільки сольові форми іонних сполук можуть суттєво впливати на біодоступність, сполуки згідно із даним винаходом також можна застосовувати у вигляді солей з різними протикатіонами для одержання перорально доступної сполуки. Такі фармацевтично прийнятні катіони можуть являти собою, крім інших, моно- або бівалентні іони, такі як катіони амонію, лужних металів, натрію або калію, або лужноземельних металів, магнію або кальцію, деяких фармацевтично прийнятних амінів, таких як тріс(гідроксиметил)амінометан, етилендіамін, діетиламін, піперазин та інші, або деяких катіоногенних амінокислот, таких як лізін або аргінін.

Сполуки згідно із даним винаходом також можна вводити парентерально. Розчини або суспензії зазначених активних сполук можна одержувати у воді підходящим чином, змішаній з поверхнево-активною речовиною, такою як гідроксипропілцелюлоза. Дисперсії також можна готувати у гліцерині, рідких поліетиленгліколях та їх сумішах у маслах. У звичайних умовах зберігання та застосування зазначені препарати містять консервант для запобігання росту мікроорганізмів.

Фармацевтичні форми, що підходять для ін'єкційного застосування, включають стерильні водні розчини або дисперсії та стерильні порошки для приготування стерильних ін'єкційних розчинів або дисперсій для негайного приймання. У всіх випадках форма повинна бути стерильною та повинна бути досить рідкою, щоб її можна було легко вводити шприцом. Вона повинна бути стабільною в умовах виробництва та зберігання та повинна бути захищена від забруднення мікроорганізмами, такими як бактерії та грибки. Речовина-носію може являти собою розчинник або дисперсійне середовище, що містить, наприклад, воду, етанол, багатоатомний спирт (наприклад, гліцерин, пропіленгліколь та рідкий поліетиленгліколь), їх підходящі суміші та рослинні олії.

Будь-який підходящий спосіб введення можна застосовувати для забезпечення ссавця, зокрема, людину, ефективною дозою сполуки згідно із даним винаходом. Наприклад, можна використовувати пероральний, ректальний, місцевий, парентеральний, очний, легеневий, назальний і т.п. способи. Лікарські форми включають таблетки, пастилки, дисперсії, суспензії, розчини, капсули, креми, мазі, аерозолі і т.п. У деяких варіантах реалізації сполуки згідно із даним винаходом вводять перорально.

Набори

У даному винаході також запропоновані набори, які включають сполуку згідно із даним винаходом або її фармацевтично прийнятну сіль, таутомер, стереоізомер, суміш стереоізомерів, проліки або дейтерований аналог та підходяще упакування. У одному з

варіантів реалізації набір додатково включає інструкції із застосування. У одному з аспектів набір включає сполуку згідно із даним винаходом або її фармацевтично прийнятну сіль, таутомер, стереоізомер, суміш стереоізомерів, проліки або дейтерований аналог, та етикетку, та/або інструкції із застосування сполук для лікування показань, включаючи захворювання або стани, описані у даному документі.

У даному винаході запропоновані вироби, які містять сполуку, описану у даному документі, або її фармацевтично прийнятну сіль, таутомер, стереоізомер, суміш стереоізомерів, проліки або дейтерований аналог у підходящій ємності. Ємність може являти собою флакон, баночку, ампулу, попередньо заповнений шприц та пакет для внутрішньовенного вливання.

Способи лікування та застосування

"Лікування" або "виліковування" являє собою підхід для одержання корисних або бажаних результатів, включаючи клінічні результати. Корисні або бажані клінічні результати можуть включати одне або більше із наступних: а) інгібування захворювання або стану (наприклад, ослаблення одного або більше симптомів, що виникають у результаті захворювання або стану, та/або зниження ступеня розвитку захворювання або стану); б) уповільнення або припинення розвитку одного або більше клінічних симптомів, пов'язаних із захворюванням або станом (наприклад, стабілізацію захворювання або стану, запобігання або затримку погіршення або прогресування захворювання або стану та/або запобігання або затримку поширення (наприклад, метастазування) захворювання або стану); та/або с) полегшення стану, тобто викликання регресії клінічних симптомів (наприклад, поліпшення стану захворювання, забезпечення часткової або повної ремісії захворювання або стану, посилення ефекту іншого лікарського засобу, затримку прогресування захворювання, підвищення якості життя та/або продовження виживання).

"Профілактика" або "запобігання" позначає будь-яке лікування захворювання або стану, який приводить до того, що клінічні симптоми захворювання або стану не розвиваються. У деяких варіантах реалізації сполуки можна вводити суб'єктові (включаючи людину), який знаходиться у групі ризику або має сімейну історію захворювання або стану.

"Суб'єкт належить до тварини, такої як ссавець (включаючи людину), яка була або буде об'єктом лікування, спостереження або експерименту. Способи, описані у даному документі, можуть підходити для застосування для терапії людини та/або у ветеринарних застосуваннях. У деяких варіантах реалізації суб'єкт являє собою ссавця. У одному з варіантів реалізації суб'єкт являє собою людину.

Термін "терапевтично ефективна кількість" або "ефективна кількість" сполуки, описаної у даному документі, або її фармацевтично прийнятної солі, таутомеру, стереоізомеру, суміші стереоізомерів, проліків або дейтерованого аналогу позначає кількість, достатню для забезпечення лікування при введенні суб'єктові із забезпеченням терапевтичного ефекту, такого як поліпшення симптомів або уповільнення прогресування захворювання. Наприклад, терапевтично ефективна кількість може являти собою кількість, достатню для ослаблення симптому захворювання або стану, чутливого до інгібування активності Cot. Терапевтично ефективна кількість може варіюватися залежно від суб'єкта та захворювання або стану, що підлягають лікуванню, маси тіла та віку суб'єкта, важкості захворювання або стану та способу введення, які легко можуть бути визначені фахівцем у даній галузі техніки.

Даний винахід також належить до застосування зазначених сполук для лікування та/або профілактики захворювань та/або станів шляхом зв'язування зазначеного ядерного рецептору зазначеними сполуками. Крім того, даний винахід належить до застосування зазначених сполук для одержання лікарського засобу для лікування та/або профілактики захворювань та/або станів шляхом зв'язування зазначеного ядерного рецептору зазначеними сполуками.

Також у даному документі запропоновані способи лікування пацієнта з FXR-опосередкованим станом, що включають введення сполуки формули (I), або її фармацевтично прийнятної солі, або фармацевтичної композиції, що містить сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль.

У деяких варіантах реалізації сполука формули (I), або її фармацевтично прийнятна сіль, або фармацевтична композиція, що містить сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль, запропоновані для застосування для лікування FXR-опосередкованого стану.

У деяких варіантах реалізації сполука формули (I), або її фармацевтично прийнятна сіль, або фармацевтична композиція, що містить сполуку формули (I) або її фармацевтично прийнятну сіль, запропоновані для одержання лікарського засобу для лікування FXR-опосередкованого стану.

У деяких варіантах реалізації FXR-опосередкований стан являє собою:

хронічний внутрішньопечінковий або деякі форми позапечінкового холестатичного стану;

фіброз печінки;
 обструктивний запальний розлад печінки;
 хронічний запальний розлад печінки;
 цироз печінки;
 5 стеатоз печінки або зв'язаний з ним синдром;
 холестатичні або фіброзні ефекти, які пов'язані з цирозом, викликаним алкоголем, або з вірусними формами гепатиту;
 печінкову недостатність або ішемію печінки після обширної резекції печінки;
 стеатогепатит, асоційований з хіміотерапією (CASH);
 10 гостру печінкову недостатність; або
 запальне захворювання кишечника.
 У деяких варіантах реалізації FXR-опосередкований стан являє собою:
 розлад ліпідного та ліпопротеїнового обміну;
 діабет I типу;
 15 діабет II типу;
 клінічні ускладнення діабетів I типу та II типу, вибрані з групи, яка складається з діабетичної нефропатії, діабетичної невропатії, діабетичної ретинопатії та інших спостережуваних ефектів тривалого діабету, що клінічно проявляються;
 неалкогольну жирову хворобу печінки (НЖХП);
 20 неалкогольний стеатогепатит (НАСГ);
 ожиріння;
 метаболічний синдром, вибраний з групи, яка складається з комбінованих станів дисліпідемії, діабету та аномально високого індексу маси тіла;
 гострий інфаркт міокарда;
 25 гострий інсульт; або
 тромбоз, який виникає, як кінцева стадія хронічного обструктивного атеросклерозу.
 У деяких варіантах реалізації FXR-опосередкований стан являє собою:
 незлоякісний гіперпроліферативний розлад; та
 злоякісний гіперпроліферативний розлад, вибраний з групи, яка складається з
 30 гепатоцелюлярної карциноми, аденоми товстої кишки та поліпозу;
 аденокарциному товстої кишки;
 рак молочної залози;
 аденокарциному підшлункової залози;
 стравохід Барретта; або
 35 інші форми пухлинних захворювань шлунково-кишкового тракту та печінки.
 У деяких варіантах реалізації FXR-опосередкований стан являє собою неалкогольний стеатогепатит (НАСГ).
 У деяких варіантах реалізації даний винахід належить до застосування сполук відповідно до формули (I) для одержання лікарського засобу для профілактики та/або лікування хронічного
 40 внутрішньопечінкового або деяких форм позапечінкових холестатичних станів, фіброзу печінки, гострих внутрішньопечінкових холестатичних станів, обструктивних або хронічних запальних розладів, які виникають через неправильний склад жовчі, шлунково-кишкових станів зі зниженим засвоєнням жиру, що надходить із їжею, та жиророзчинних вітамінів, що надходять із їжею, запальних захворювань кишечника, розладів ліпідного та ліпопротеїнового обміну, діабету
 45 II типу та клінічних ускладнень діабетів I типу та II типу, станів та захворювань, які виникають у результаті хронічної жирової та фіброзної дегенерації органів внаслідок змушеного накопичення ліпідів та, зокрема, тригліцеридів та наступної активації профібротичних шляхів, ожиріння та метаболічного синдрому (комбінованих станів дисліпідемії, діабету та аномально високого індексу маси тіла), гострого інфаркту міокарда, гострого інсульту, тромбоз, який виникає, як
 50 кінцева стадія хронічного обструктивного атеросклерозу, персистентних інфекцій внутрішньоклітинними бактеріями або паразитичними найпростішими, незлоякісних гіперпроліферативних розладів, злоякісних гіперпроліферативних розладів, зокрема, аденокарциноми товстої кишки та гепатоцелюлярної карциноми, стеатозу печінки або пов'язаних з ним синдромів, печінкової недостатності або порушення функцій печінки у
 55 результаті хронічних захворювань печінки або хірургічної резекції печінки, інфекції гепатиту В, інфекції гепатиту С та/або холестатичних або фіброзних ефектів, які пов'язані із цирозом, викликаним алкоголем, або з вірусними формами гепатиту.
 Лікарські засоби, зазначені у даному документі, можна одержувати за звичайними способами, включаючи комбінування сполуки відповідно до даного винаходу та фармацевтично
 60 прийнятної речовини-носія.

Вважають, що FXR є ядерним рецептором жовчної кислоти. Таким чином, він модулює як синтез жовчних кислот у печінці, так і їх рециркуляцію у кишечнику (шляхом регулювання білків, що зв'язують жовчні кислоти). Крім того, крім фізіології жовчних кислот FXR, очевидно, бере участь у регуляції множини різних фізіологічних процесів, які мають відношення до етіології та лікування різних захворювань, таких як холестеринові жовчні камені, метаболічні розлади, такі як діабет II типу, дисліпідемія або ожиріння, хронічні запальні захворювання, такі як запальні захворювання кишечника або хронічні внутрішньопечінкові форми холестази, та багато інших захворювань.

FXR регулює складний паттерн генів відповіді у печінці та у шлунково-кишковому тракті. Продукти генів впливають на різні фізіологічні процеси. Першою регуляторною мережею, яка була проаналізована у ході функціонального аналізу FXR, була регуляція синтезу жовчних кислот. У той час, як LXR індують ключовий фермент перетворення холестерину у жовчні кислоти, Сур7A1, за допомогою індукування регуляторного ядерного рецептору LXR-1, FXR репресує індукування Сур7A1 за допомогою підвищувальної регуляції мРНК, що кодує SHP, інший ядерний рецептор, який є домінуючим репресивним у порівнянні з LXR-1. Оскільки FXR зв'язує кінцеві продукти зазначеного шляху, первинні жовчні кислоти, такі як холева кислота (ХК) або ХДХК, це можна розглядати як приклад інгібування за принципом зворотного зв'язку на рівні експресії генів. Паралельно з репресією синтезу жовчних кислот за допомогою SHP FXR індукує ряд так званих ABC-транспортів (для АТФ-зв'язуючої касети), які відповідають за експорт токсичних жовчних кислот із цитозолу гепатоцитів у каналіці, невеликі відгалуження жовчних проток, у яких утворюється жовч. Зазначена гепатопротекторна функція FXR вперше стала очевидна при аналізі мишей з виключеним FXR, у якому була продемонстрована недостатня або надлишкова експресія декількох ABC-транспортів у печінці. Подальший докладний аналіз показав, що основний насос експорту солей жовчних кислот, BSEP або ABCB11 (а також ключовий фермент, який опосередковує перенос ліпідів від ліпопротеїнів до фосфоліпідів, PLTP) та два ключові транспортери мембрани каналця для фосфоліпідів, MRP-2 (ABCC4) та MDR-3 (ABCB4), є прямими мішенями для ліганд-спрямованої активації транскрипції за допомогою FXR.

Той факт, що FXR, очевидно, є основним метаболічним сенсором та регулятором для синтезу, експорту та рециркуляції жовчних кислот, має на увазі використання лігандів FXR для індукування потоку жовчі та зміни композиції жовчних кислот у бік більш гідрофільної сполуки. З розробкою першого синтетичного ліганду FXR GW4064 у якості фармакологічно активної сполуки та напівсинтетичного штучного ліганду жовчної кислоти 6-альфа-етил-ХДХК стало можливим проаналізувати вплив суперстимуляції FXR сильними агоністами. Було показано, що обидва ліганди індують потік жовчі у тварин з лігованими жовчними протоками. Крім того, на додаток до жовчогінних ефектів також можуть спостерігатися гепатопротекторні ефекти. Зазначений гепатопротекторний ефект був додатково звужений до антифібротичного ефекту, який є результатом репресії тканинних інгібіторів матричних металопротеїназ, TIMP-1 та 2, індукування матричної металопротеїнази 2, що розщеплює відкладення колагену, у зірчастих клітинах печінки та наступного зменшення рівня мРНК альфа-колагену та мРНК трансформуючого ростового фактору бета (ТРФ-бета), обидва з яких є профібротичними факторами, під дією агоністів FXR. Крім того, антихолестатична активність була продемонстрована на моделях тварин з лігованими жовчними протоками, а також на моделях тварин з індукованим естрогенами холестазом.

Генетичні дослідження демонструють, що при спадкових формах холестази (прогресуючий сімейний внутрішньопечінковий холестаз = PCBX, I–IV типів) будь-яка ядерна локалізація FXR знижується внаслідок мутації у гені FIC1 (при PCBX I типу, що також називається хворобою Байлера) (F. Chen *et al.*, Gastroenterology 2004, 126, 756; L. Alvarez *et al.*, Hum. Mol. Genet. 2004, 13, 2451) або рівні гену-мішені FXR, що кодує насос експорту фосфоліпідів MDR-3, знижені (при PCBX III типу). Об'єднані разом, вони утворюють зростаючу базу доказів того, що сполуки, які зв'язують FXR, будуть демонструвати істотну клінічну цінність у програмі лікування хронічних холестатичних станів, таких як первинний біліарний цироз (ПБЦ) або первинний склерозуючий холангіт (ПСХ).

Сильний вплив, який активація FXR робить на метаболізм та екскрецію жовчних кислот, має значення не тільки для холестатичних синдромів, але навіть більш безпосередньо для терапії проти утворення жовчних каменів. Холестеринові жовчні камені утворюються через низьку розчинність холестерину, який активно відкачується з клітини печінки у порожнині каналців. Відносний процентний вміст трьох основних компонентів, жовчних кислот, фосфоліпідів та вільного холестерину, визначає утворення змішаних міцел і, отже, уявну розчинність вільного холестерину у жовчі. Поліморфізм FXR згідно з даними картування локусів кількісних ознак є

одним з факторів, що сприяють жовчнокам'яній хворобі. Із застосуванням синтетичної FXR фармакологічно активної сполуки GW4064 можна продемонструвати, що активація FXR приводить до поліпшення індексу насичення холестерином (CSI) та безпосередньо до припинення утворення жовчних каменів у мишей C57L, схильних до жовчних каменів, тоді як лікування лікарськими засобами не виявляє впливу на утворення жовчних каменів у мишей з виключеним FXR.

Зазначені результати визначають FXR, як гарну мішень для розробки низькомолекулярних агоністів, які можна застосовувати для запобігання утворенню холестеринових жовчних каменів або для запобігання повторного утворенню жовчних каменів після хірургічного видалення або ударно-хвильової літотрипсії.

Таким чином, у одному з варіантів реалізації згідно із даним винаходом сполука відповідно до формули (I) та фармацевтичні композиції, що містять зазначену сполуку, застосовують для профілактики та/або лікування обструктивних або хронічних запальних розладів, які виникають через неправильний склад жовчі, таких як холелітіаз, також відомий як холестеринові жовчні камені.

Крім своїх сильних гепатопротекторних та жовчогінних, а також антифіброзних ефектів, які FXR демонструє при стимульованій невеликими молекулами активації у печінці, FXR, очевидно, відіграє роль у захисті кишечника від неопластичної трансформації та від розвитку поліпів та їх переходу у аденокарциному у кишечнику. Аналогічно ситуації у кишечнику, відсутність FXR приводить до сильного збільшення утворення гепатоцелюлярної карциноми (ГЦК), найбільш вираженої форми раку печінки. Тоді як функціональний FXR запобігає утворенню аденокарциноми товстої кишки та гепатоцелюлярної карциноми, активація FXR викликає регенерацію печінки після гепатектомії.

Комбіновані гепатопротекторні, протипухлинні та регенеруючі ефекти печінки, пов'язані з активацією FXR, можна терапевтично використовувати при застосуванні агоністів FXR для лікування важких захворювань печінки. У одному з варіантів реалізації сполуки відповідно до даного винаходу та фармацевтичні композиції, що містять зазначені сполуки, застосовують для лікування захворювань печінки, таких як ГЦК, стимуляції відростання печінки та ослаблення побічних ефектів, пов'язаних з великою резекцією печінки, цирозом печінки, незалежно від етіології, та запобігання або лікування ішемії печінки у ході трансплантації печінки або великої хірургії печінки.

З моменту відкриття першого синтетичного агоністу FXR та його введення гризунам стало очевидно, що FXR є ключовим регулятором тригліцеридів сироватки. За останні шість років була опублікована ціла низка доказів того, що активація FXR синтетичними агоністами приводить до значного зниження рівня тригліцеридів у сироватці, головним чином у вигляді зниження ЛПДНГ, але також і до зниження загального холестерину у сироватці.

Але зниження рівня тригліцеридів у сироватці не є відособленим ефектом. Лікування мишей лінії db/db або ob/ob синтетичним агоністом FXR GW4064 приводить до значного та комбінованого зниження рівнів тригліцеридів у сироватці, загального холестерину, вільних жирних кислот, кетонових тіл, таких як бутират 3-OH Butyrate. Більше того, активація FXR пов'язана із внутрішньоклітинним сигнальним шляхом інсуліну у гепатоцитах, що приводить до зниження вироблення глюкози у результаті глюконеогенезу у печінці, але що супроводжується збільшенням глікогену у печінці. Лікування за допомогою FXR впливає на чутливість до інсуліну, а також толерантність до глюкози. Також нещодавно спостерігали вплив на зниження маси тіла у мишей, яких перегодовували раціоном з високим вмістом ліпідів. Зазначений ефект втрати маси може бути результатом опосередкованого FXR індукування FGF19, фактору росту фібробластів, який, як відомо, приводить до втрати маси та формування атлетичного фенотипу. Був продемонстрований вплив агоніста FXR на зниження маси тіла.

Взяті разом, зазначені фармакологічні ефекти агоністів FXR можна застосовувати різними терапевтичними способами: вважають, що зв'язуючі FXR сполуки є гарними кандидатами для лікування діабету II типу завдяки їх сенсibiliзуючому ефекту до інсуліну, глікогеногенним та гіполіпідемічним ефектам.

У одному з варіантів реалізації сполуки відповідно до даного винаходу та фармацевтичні композиції, що містять зазначені сполуки, застосовують для профілактики та/або лікування діабету II типу, який може бути подоланий шляхом FXR-опосередкованої підвищувальної регуляції системної чутливості до інсуліну та внутрішньоклітинної передачі інсулінових сигналів у печінці, підвищенням периферичним засвоєнням та метаболізацією глюкози, підвищенням накопиченням глікогену у печінці, зниженням надходження глюкози у сироватку у результаті глюконеогенезу у печінці.

У іншому варіанті реалізації зазначені сполуки та фармацевтичні композиції застосовують

для профілактики та/або лікування хронічних внутрішньопечінкових станів, таких як ПБЦ, ПСХ, прогресуючого сімейного холестази (ПСВХ), цирозу, викликаного алкоголем, та пов'язаного з ним холестази, та деяких форм позапечінкового холестази або фіброзу печінки.

Даний винахід також належить до сполуки формули (I) або фармацевтичної композиції, що містить зазначену сполуку, для профілактики та/або лікування шлунково-кишкових станів зі знизеним засвоєнням жиру, що надходить із їжею, та жиророзчинних вітамінів, що надходять із їжею, які можуть бути подолані шляхом збільшення рівнів жовчних кислот та фосфоліпідів у кишечнику.

У іншому варіанті реалізації зазначену сполуку або фармацевтичну композицію застосовують для запобігання та/або лікування захворювання, вибраного із групи, що складається з розладів ліпідного та ліпопротеїнового обміну, таких як гіперхолестеринемія, гіпертригліцеридемія та атеросклероз, у якості стану, що клінічно проявляється, який може бути поліпшений шляхом сприятливого впливу FXR на зниження загального холестерину у плазмі, зниження рівня тригліцеридів у сироватці, збільшення перетворення холестерину печінки у жовчні кислоти та збільшення кліренсу та метаболічного перетворення ЛПДНГ та інших ліпопротеїнів у печінці.

У ще одному варіанті реалізації зазначену сполуку або фармацевтичну композицію застосовують для профілактики та/або лікування захворювань, при яких комбіновані ефекти зниження рівнів ліпідів, антихолестатичних та антифіброзних ефектів лікарських засобів спрямованого на FXR дії можна застосовувати для лікування стеатозу печінки та пов'язаних з ним синдромів, таких як неалкогольний стеатогепатит (НАСГ), або для лікування холестатичних та фіброзних ефектів, які пов'язані із цирозом, викликаним алкоголем, або вірусними формами гепатиту.

Також було показано, що у поєднанні з гіполіпідемічними ефектами втрата функціонального FXR приводить до посиленого атеросклерозу у мишей з виключеним ApoE. Отже, агоністи FXR можуть мати клінічну цінність у якості антиатеросклеротичних та кардіопротекторних лікарських засобів. Понижувальна регуляція ендотеліну-1 у клітинах гладкої мускулатури судин також може сприяти таким корисним терапевтичним ефектам.

Даний винахід також належить до сполуки відповідно до формули (I) або фармацевтичної композиції, що містить зазначену сполуку, для профілактичного та посттравматичного лікування серцево-судинного розладу, такого як гострий інфаркт міокарда, гострий інсульт або тромбоз, який виникає як кінцева стадія хронічного обструктивного атеросклерозу.

Крім контролювання утворення поліпів кишечника та товстої кишки FXR, очевидно, експресується у тканинах та клітинних лініях раку молочної залози, але не у здоровій тканині молочної залози та, очевидно, взаємодіє з естрогеновим рецептором у клітинах ER-позитивного раку молочної залози.

Це дозволяє розглядати FXR також у якості потенційної мішені для лікування проліферативних захворювань, особливо метастазуючих форм раку, які експресують чутливу до невеликих молекул форму FXR.

У іншому варіанті реалізації зазначені сполуки та фармацевтичні композиції застосовують для профілактики та/або лікування злоякісних гіперпроліферативних розладів, таких як різні форми раку, зокрема, деякі форми раку молочної залози, печінки або товстої кишки, при яких втручання за допомогою ліганду FXR робить сприятливий вплив.

Нарешті, FXR, очевидно, також бере участь у контролі антибактеріального захисту у кишечнику, хоча точний механізм не представлений. Проте, на основі опублікованих даних можна зробити висновок про те, що лікування агоністами FXR може виявляти сприятливий вплив у терапії запальних захворювань кишечника (IBD), зокрема, тих форм, при яких уражена верхня (клубова) частина кишечника (наприклад, хвороба Крона клубової кишки), оскільки вона, очевидно, є місцем дії FXR-опосередкованого контролю над ростом бактерій. При IBD десенсибілізація адаптивної імунної відповіді якимось чином порушується у кишковій імунній системі. Надлишковий бактеріальний ріст може бути причиною виникнення хронічної запальної відповіді. Отже, пригнічення росту бактерій за допомогою FXR-опосередкованих механізмів може бути ключовим механізмом запобігання гострих запальних станів.

Таким чином, даний винахід також належить до сполуки відповідно до формули (I) або фармацевтичної композиції, що містить зазначену сполуку, для запобігання та/або лікування захворювання, пов'язаного із запальним захворюванням кишечника, таким як хвороба Крона або виразковий коліт. Вважають, що FXR-опосередковане відновлення бар'єрної функції кишечника та зниження некоменсального бактеріального навантаження сприяють зниженню впливу бактеріальних антигенів на імунну систему кишечника і, отже, можуть знижувати запальні відповіді.

Даний винахід також належить до сполуки або фармацевтичної композиції для профілактики та/або лікування ожиріння та пов'язаних з ним розладів, таких як метаболічний синдром (комбіновані стани дисліпідемії, діабету та аномально високого індексу маси тіла), які можуть бути подолані шляхом FXR-опосередкованого зниження рівнів тригліцеридів у сироватці, глюкози у крові, та підвищеної чутливості до інсуліну, та FXR-опосередкованої втрати маси.

У іншому варіанті реалізації сполуки або фармацевтичної композиції згідно із даним винаходом підходять для застосування для запобігання та/або лікування клінічних ускладнень діабету I типу та II типу. Приклади таких ускладнень включають діабетичну нефропатію, діабетичну ретинопатію, діабетичні невропатії або оклюзійну хворобу периферичних артерій (ОХПА). Інші клінічні ускладнення діабетів також охоплюються даним винаходом.

Крім того, стани та захворювання, які виникають у результаті хронічної жирової та фіброзної дегенерації органів внаслідок змушеного накопичення ліпідів та, зокрема, тригліцеридів та наступної активації профібротичних шляхів, також можна запобігати та/або лікувати шляхом введення сполук або фармацевтичної композиції згідно із даним винаходом. Такі стани та захворювання включають НАСГ та хронічні холестатичні стани у печінці, гломерулосклероз та діабетичну нефропатію у нирках, дегенерацію макули та діабетичну ретинопатію у очах та нейродегенеративні захворювання, такі як хвороба Альцгеймера, у мозку, або діабетичні невропатії у периферичній нервовій системі.

Дозування

Ефективне дозування застосовуваного активного інгредієнту може варіюватися залежно від конкретної використовуваної сполуки, способу введення, стану, що підлягає лікуванню, та важкості стану, що підлягає лікуванню. Таке дозування може бути легко визначене фахівцем у даній галузі техніки.

При лікуванні або запобіганні FXR-опосередкованих станів, для яких зазначені сполуки згідно із даним винаходом, звичайно задовільні результати одержують при введенні сполук згідно із даним винаходом у добовому дозуванні від приблизно 0,1 міліграма до приблизно 1000 міліграмів на кілограм маси тіла тварини. У деяких варіантах реалізації сполуки згідно із даним винаходом представлено у вигляді однієї добової дози, або у вигляді розділених доз для приймання від двох до шести разів на день, або у формі уповільненого вивільнення. Для більшості великих ссавців загальне добове дозування становить від приблизно 1 міліграма до приблизно 1000 міліграмів або від приблизно 1 міліграма до приблизно 50 міліграмів. У випадку дорослої людини вагою 70 кг загальна добова доза звичайно становить від приблизно 7 міліграмів до приблизно 350 міліграмів. Зазначений режим дозування можна коректувати для забезпечення оптимальної терапевтичної відповіді. У деяких варіантах реалізації загальне добове дозування становить від приблизно 1 міліграма до приблизно 900 міліграмів, від приблизно 10 міліграмів до приблизно 800 міліграмів, від приблизно 20 міліграмів до приблизно 700 міліграмів, від приблизно 30 міліграмів до приблизно 600 міліграмів, від приблизно 40 міліграмів до приблизно 550 міліграмів або від приблизно 50 міліграмів до приблизно 400 міліграмів.

Сполуки згідно з даною заявкою або їх композиції можна вводити один, два, три або чотири рази на день із застосуванням будь-якого підходящого способу, описаного вище. Крім того, введення або лікування сполуками можна продовжувати протягом декількох днів; наприклад, звичайне лікування продовжують протягом щонайменше 7 днів, 14 днів або 28 днів для одного циклу лікування. Цикли лікування добре відомі у хіміотерапії раку та часто чергуються з періодами відпочинку, що становлять приблизно від 1 до 28 днів, звичайно приблизно 7 днів або приблизно 14 днів між циклами. У інших варіантах реалізації цикли лікування також можуть бути безперервними.

У конкретному варіанті реалізації способи, запропоновані у даному документі, включають введення суб'єктові початкової добової дози приблизно від 1 до 800 мг сполуки, описаної у даному документі, та збільшення дози зі зростаннями до моменту досягнення клінічної ефективності. Для збільшення дози можна використовувати прирости, що становлять приблизно 5, 10, 25, 50 або 100 мг. Дозування можна збільшувати щодня, через день, два рази на тиждень або один раз на тиждень.

Комбіновані терапії

У деяких варіантах реалізації сполуку, описану у даному винаході, вводять у комбінації з одним або більше додатковими терапевтичними агентами для лікування або запобігання захворювання або стану, описаного у даному винаході. У деяких варіантах реалізації один або більше додаткових терапевтичних агентів являють собою інгібітор а(n) АСЕ, інгібітор ацетил-КоА-карбоксилази, агоніст аденозинових рецепторів А3, агоніст рецепторів адипонектину, інгібітор протеїнкінази АКТ, АМФ-активовані протеїнкінази (АМФК), агоніст рецепторів аміліну,

антагоніст рецепторів ангіотензину II AT-1, інгібітори аутоаксину, біоактивний ліпід, агоніст кальцитоніну, інгібітор каспази, стимулятор каспази-3, інгібітор катепсину, інгібітор кавеоліну 1, антагоніст хемокінів CCR2, антагоніст хемокінів CCR3, антагоніст хемокінів CCR5, стимулятор хлоридного каналу, інгібітор CNR1, інгібітор цикліну D1, інгібітор цитохрому P450 7A1, інгібітор DGAT1/2, інгібітор дипептидилпептидази IV, модулятор ендосіаліну, інгібітор ліганду еотаксину, модулятор білків позаклітинного матриксу, агоніст фарнезоїдного X-рецептору, інгібітори синтаз жирних кислот, агоніст рецептору FGF1, ліганди фактору росту фібробластів (FGF15, FGF19, FGF21), інгібітор галектину-3, агоніст глюкагонового рецептору, агоніст глюкагоноподібного пептиду 1, агоніст зв'язаного з G-білками рецептору жовчних кислот 1, модулятор Hedgehog (Hh), інгібітор протеази NS3 вірусу гепатиту С, модулятор ядерного фактору гепатоцитів 4-альфа (HNF4A), модулятор фактору росту гепатоцитів, інгібітор ГМГ-КоА-редуктази, агоніст ІЛ-10, антагоніст ІЛ-17, інгібітор натрій-залежного котранспортеру жовчних кислот у клубовій кишці, посилювач чутливості до інсуліну, модулятор інтегрину, інгібітор асоційованої з рецептором інтерлейкіну-1 кінази 4 (IRAK4), інгібітор тирозинкінази Jak2, стимулятор Клото-бета, інгібітор 5-ліпоксигенази, інгібітор ліпопротеїнілази, печінковий рецептор X, стимулятор гену LPL, антагоніст рецептору лізофосфатидату-1, інгібітор гомологу 2 лізилоксидази, інгібітор матриксних металопротеїназ (MMP), інгібітор протеїнкінази MEKK-5, інгібітор мембранної аміноксидази, що містить мідь (VAP-1), інгібітор метіонінамінопептидази-2, модулятор метил-СpG-зв'язуючого білку 2, інгібітор мікроРНК-21 (miR-21), мітохондріальний роз'єднувальний білок, стимулятор основного білку мієліну, інгібітор білку 3, що містить домени NACHT, LRR та PYD (NLRP3), стимулятор НАД-залежної деацетилази сиртуїн, інгібітор НАДФ-оксидази (NOX), агоніст рецептору нікотинової кислоти 1, стимулятор пуринового рецептору P2Y13, інгібітор PDE 3, інгібітор PDE 4, інгібітор PDE 5, модулятор бета-рецептору PDGF, інгібітор фосфоліпази C, агоніст PPAR-альфа, агоніст PPAR-дельта, агоніст PPAR-гамма, модулятор PPAR-гамма, антагоніст активованого протеазою рецептору-2, модулятор протеїнкінази, інгібітор Rho-асоційованої протеїнкінази, інгібітор натрій-глюкозного транспортеру-2, інгібітор транскрипційних факторів SREBP, інгібітор STAT-1, інгібітор стеароїл-КоА-десатурази-1, стимулятор супресора цитокінових сигналів-1, стимулятор супресора цитокінових сигналів-3, трансформуючий ростовий фактор-β (ТРФ-β), кіназу 1, яка активується трансформуючим ростовим фактором-β (TAK1), агоніст бета-рецепторів тиреоїдних гормонів, антагоніст TLR-4, інгібітор трансклямінази, модулятор тирозинкіназних рецепторів, модулятор GPCR, модулятор ядерного гормонального рецептору, модулятори WNT або модулятор YAP/TAZ.

Необмежуючі приклади одного або більше додаткових терапевтичних агентів включають:

інгібітори ACE, такі як еналаприл;

інгібітори ацетил-КоА-карбоксилази (ACC), такі як DRM-01, гемкабен, PF-05175157 та QLT-091382;

агоністи аденозинових рецепторів, такі як CF-102, CF-101, CF-502 та CGS21680;

агоністи рецепторів адипонектину, такі як ADP-355;

агоністи рецепторів аміліну/кальцитоніну, такі як KBP-042;

стимулятори АМФ-активованих протеїнкіназ, такі як O-304;

антагоністи рецепторів ангіотензину II AT-1, такі як ірбесартан;

інгібітори аутоаксину, такі як PAT-505, PAT-048, GLPG-1690, X-165, PF-8380 та AM-063;

біоактивні ліпіди, такі як DS-102;

інгібітори каннабіноїдних рецепторів 1 типу (CNR1), такі як намацизумаб та GWP-42004;

інгібітори каспази, такі як емрикасан;

інгібітори Рап-катепсину В, такі як VBY-376;

інгібітори Рап-катепсину, такі як VBY-825;

антагоністи хемокінів CCR2/CCR5, такі як ценікривірок;

антагоністи хемокінів CCR2, такі як пропагерманіум;

антагоністи хемокінів CCR3, такі як бертиліумаб;

стимулятори хлоридного каналу, такі як кобіпростон;

інгібітори дигліцерид-ацилтрансферази 2 (DGAT2), такі як IONIS-DGAT2Rx;

інгібітори дипептидилпептидази IV, такі як лінагліптин;

інгібітори ліганду еотаксину, такі як бертиліумаб;

модулятори білків позаклітинного матриксу, такі як CNX-024;

агоністи фарнезоїдного X-рецептору (FXR), такі як AGN-242266, AKN-083, EDP-305, GNF-5120, LJM-452, LMB-763, обетихолева кислота, Px-102, Px-103, M790, M780, M450, M480, PX20606, EYP-001 та INT-2228;

агоністи фарнезоїдного X-рецептору (FXR)/зв'язаного з G-білками рецептору жовчних кислот 1 (TGR5), такі як INT-767;

інгібітори синтаз жирних кислот, такі як TVB-2640;
інгібітори фактору росту фібробластів 19 (rhFGF19)/цитохрома P450 (CYP) 7A1, такі як NGM-282;
ліганд фактору росту фібробластів 21 (FGF21), такий як BMS-986171, BMS-986036;
5 агоністи фактору росту фібробластів 21 (FGF21)/глюкагоноподібного пептиду 1 (GLP-1), такі як YH-25723;
інгібітори галектину-3, такі як GR-MD-02;
агоністи глюкагоноподібного пептиду 1 (GLP1R), такі як AC-3174, піраглутид, семаглутид;
агоністи зв'язаного з G-білками рецептору жовчних кислот 1 (TGR5), такі як RDX-009, INT-10 777;
інгібітори білку теплового шоку 47 (HSP47), такі як ND-L02-s0201;
інгібітори ГМГ-КоА-редуктази, такі як аторвастатин, флувастатин, пітавастатин, правастатин, розувастатин та симвастатин;
агоністи ІЛ-10, такі як пегілодекакін;
15 інгібітори натрій-залежного котранспортеру жовчних кислот у клубовій кишці, такі як A-4250, воліксибату кацію етанолату гідрат (SHP-262) та GSK2330672;
посилювачі чутливості до інсуліну, такі як KBP-042, MSDC-0602K, Px-102, RG-125 (AZD4076) та VVP-100X;
агоніст Клото-бета (KLB)-FGF1с, такий як NGM-313;
20 інгібітори 5-ліпоксигенази, такі як типелукаст (MN-001);
інгібітори ліпопротеїніпази, такі як CAT-2003;
стимулятори гену LPL, такі як аліпоген типарвовек;
модулятори печінкового рецептору X (LXR), такі як PX-L603, PX-L493, BMS-852927, T-0901317, GW-3965 та SR-9238;
25 антагоністи рецептору лізофосфатидату-1, такі як BMT-053011, UD-009. AR-479, ITMN-10534, BMS-986020 та KI-16198;
інгібітори гомологу 2 лізілоксидази, такі як симтузумаб;
інгібітори семікарбазид-чутливої аміноксидази/білку судинної адгезії-1 (SSAO/VAP-1), такі як PXS-4728A;
30 інгібітори метіонінамінопептидази-2, такі як ZGN-839;
модулятори метил-СрG-зв'язуючого білку 2, такі як меркаптамін;
мітохондріальні розділюючі білки, такі як 2,4-динітрофенол;
стимулятори основного білку мієліну, такі як олезоксим;
інгібітори НАДФ-оксидази 1/4, такі як GKT-831;
35 агоністи рецептору нікотинової кислоти 1, такі як ARI-3037MO;
інгібітори білку 3, що містить домени NACHT, LRR та PYD (NLRP3), такі як KDDF-201406-03 та NBC-6;
модулятори ядерних рецепторів, такі як DUR-928;
стимулятори пуринорецептору P2Y13, такі як CER-209;
40 інгібітори PDE 3/4, такі як типелукаст (MN-001);
інгібітори PDE 5, такі як силденафіл;
модулятори бета-рецептору PDGF, такі як BOT-191, BOT-509;
агоністи PPAR, такі як елафібранор (GFT-505), MBX-8025, R-енантіомер дейтерованого піоглітазону, піоглітазону, DRX-065, сароглітазар та IVA-337;
45 антагоністи активуємого протеазою рецептору-2, такі як PZ-235;
модулятори протеїнкінази, такі як CNX-014;
інгібітори Rho-асоційованої протеїнкінази (ROCK), такі як KD-025;
інгібітори натрій-глюкозного транспортеру-2 (SGLT2), такі як іпрагліфлозин, ремогліфлозину етабонат, ертугліфлозин, дапагліфлозин та сотагліфлозин;
50 інгібітори транскрипційних факторів SREBP, такі як CAT-2003 та MDV-4463;
інгібітори стеароїл-КоА-десатурази-1, такі як арамхол;
агоністи бета-рецепторів тиреоїдних гормонів, такі як MGL-3196, MGL-3745, VK-2809;
антагоністи TLR-4, такі як JKB-121;
модулятори тирозинкіназних рецепторів, такі як CNX-025;
55 модулятор GPCR, такі як CNX-023; та
модулятори ядерного гормонального рецептору, такі як Px-102.
У деяких конкретних варіантах реалізації один або більше додаткових терапевтичних агентів вибрані з A-4250, AC-3174, ацетилсаліцилової кислоти, AK-20, аліпоген типарвовек, арамхолу, ARI-3037MO, ASP-8232, бертиліумабу, безводного бетаїну, BI-1467335, BMS-986036, BMS-986171, BMT-053011, BOT-191, BTT-1023, CAT-2003, ценікривіроку, CER-209, CF-102,

CGS21680, CNX-014, CNX-023, CNX-024, CNX-025, кобіпростону, колесевеламу, дапагліфлозину, R-енантіомеру дейтерованого піоглітазону, 2,4-динітрофенолу, DRX-065, DS-102, DUR-928, EDP-305, елафібранору (GFT-505), емрикасану, еналаприлу, ертугліфлозину, евогліптину, F-351, GKT-831, GNF-5120, GR-MD-02, гідрохлоротіазиду, етилового ефіру ейкозапентаєнової кислоти, IMM-124-E, INT-767, IONIS-DGAT2Rx, іпрагліфлозину, ірбесартану, пропагерманіуму, IVA-337, JKB-121, KB-GE-001, KBP-042, KD-025, M790, M780, M450, метформіну, силденафілу, LC-280126, лінагліптину, ліраглутиду, LJN-452, LMB-763, MBX-8025, MDV-4463, меркаптаміну, MGL-3196, MGL-3745, MSDC-0602K, намацизумабу, NC-101, ND-L02-s0201, NGM-282, NGM-313, NGM-386, NGM-395, нор-урсодезоксихолевої кислоти, O-304, обетихолевої кислоти, 25HC3S, олезоксиму, PAT-505, PAT-048, пегілодекакіну, піоглітазону, пірфенідону, PRI-724, PX20606, Px-102, PX-L603, PX-L493, PXS-4728A, PZ-235, RDX-009, ремогліфлозину етабонат, RG-125 (AZD4076), сароглітазару, семаглутиду, симтузумабу, солітроміцину, сотагліфлозину, статинів (аторвастатину, флувастатину, пітавастатину, правастатину, розувастатину, симвастатину), TCM-606F, TEV-45478, типелукасту (MN-001), TLY-012, TRX-318, TVB-2640, UD-009, урсодезоксихолевої кислоти, VBY-376, VBY-825, VK-2809, вісмодегібу, воліксибату калію етанолату гідрату (SHP-626), VVP-100X, WAV-301, WNT-974 та ZGN-839.

ПРИКЛАДИ

Наступні приклади включені для демонстрації конкретних варіантів реалізації згідно із даним винаходом. Фахівцям у даній галузі техніки зрозуміло, що способи, представлені у наступних прикладах, являють собою способи, які добре функціонують у практичній реалізації даного винаходу і, таким чином, можуть розглядатися як такі, що становлять конкретні способи його практичного застосування. Проте, фахівцям у даній галузі техніки зрозуміло, що у контексті даного винаходу у конкретних представлених варіантах реалізації може бути зроблено багато змін з одержанням такого ж або аналогічного результату без відступу від сутності та обсягу даного винаходу.

Сполуки згідно із даним винаходом можна одержувати у відповідності зі способами, представленими у наступних схемах та прикладах, із застосуванням відповідних матеріалів, та вони додатково проілюстровані наступними конкретними прикладами. Крім того, шляхом застосування способів, описаних у даному документі, у комбінації зі звичайними навичками фахівця у даній галузі техніки можна легко одержувати додаткові сполуки згідно із даним винаходом, заявлені у даному документі. Проте, сполуки, проілюстровані у прикладах, не повинні розглядатися як утворюючі єдиний приклад сполук, охоплюваних даним винаходом. Приклади додатково докладно ілюструють одержання сполук згідно із даним винаходом. Фахівцям у даній галузі техніки зрозуміло, що для одержання зазначених сполук можна використовувати відомі варіанти умов та процесів наступних способів одержання. Для синтезу сполук, які являють собою варіанти реалізації, описані у даному винаході, перевірка структури сполуки, яка повинна бути синтезована, дозволяє визначати характеристики кожної групи замісника. Характеристики кінцевого продукту, як правило, однозначно визначають характеристики необхідних вихідних матеріалів у межах простої перевірки з урахуванням прикладів, наведених у даному документі. Сполуки згідно із даним винаходом звичайно виділяють у формі їх фармацевтично прийнятних солей, таких як солі, описані вище. У цілому, сполуки, описані у даному документі, звичайно є стабільними та їх виділяють при кімнатній температурі та тиску.

Основи, що не містять аміногруп, які відповідають виділенням солям, можна одержувати шляхом нейтралізації підходящою основою, такою як водні розчини гідрокарбонату натрію, карбонату натрію, гідроксиду натрію та гідроксиду калію, та екстракції вивільненої основи, що не містить аміногруп, у органічний розчинник з наступним випарюванням. Виділену у такий спосіб основу, що не містить аміногруп, можна додатково перетворювати у іншу фармацевтично прийнятну сіль шляхом розчинення у органічному розчиннику з наступним додаванням відповідної кислоти та наступним випарюванням, осадженням або кристалізацією. Кислоти, що не містять карбоксильних груп, які відповідають виділенням солям, можна одержувати шляхом нейтралізації підходящою кислотою, такою як водні розчини хлористоводневої кислоти, гідросульфату натрію, дигідрофосфату натрію, та екстракції вивільненої кислоти, що не містить карбоксильних груп, у органічний розчинник з наступним випарюванням. Виділену у такий спосіб кислоту, що не містить карбоксильних груп, можна додатково перетворювати у іншу фармацевтично прийнятну сіль шляхом розчинення у органічному розчиннику з наступним додаванням відповідної основи та наступним випарюванням, осадженням або кристалізацією.

Нижче проілюстроване одержання сполук згідно із даним винаходом. Якщо на схемах не зазначене інше, змінні мають те ж значення, що описане вище. Представлені нижче приклади

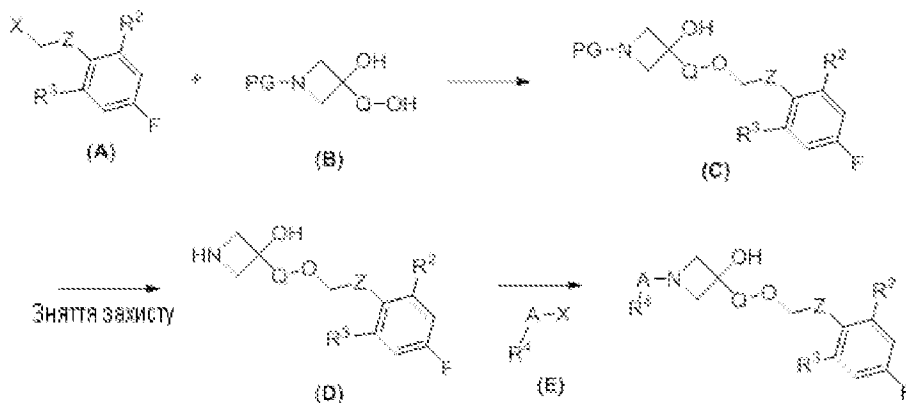
призначені для ілюстрації конкретних варіантів реалізації даного винаходу. Підходящі вихідні матеріали, структурні елементи та реагенти, застосовувані у синтезі, як описано нижче, є комерційно доступними, наприклад, у Sigma-Aldrich або Acros Organics, або можуть бути отримані за допомогою звичайних способів, описаних у літературі, наприклад, у "March's

5

Загальна схема синтезу

10

Сполуки формули (I), де Y являє собою N, можна одержувати у відповідності з наступної загальною схемою синтезу.



15

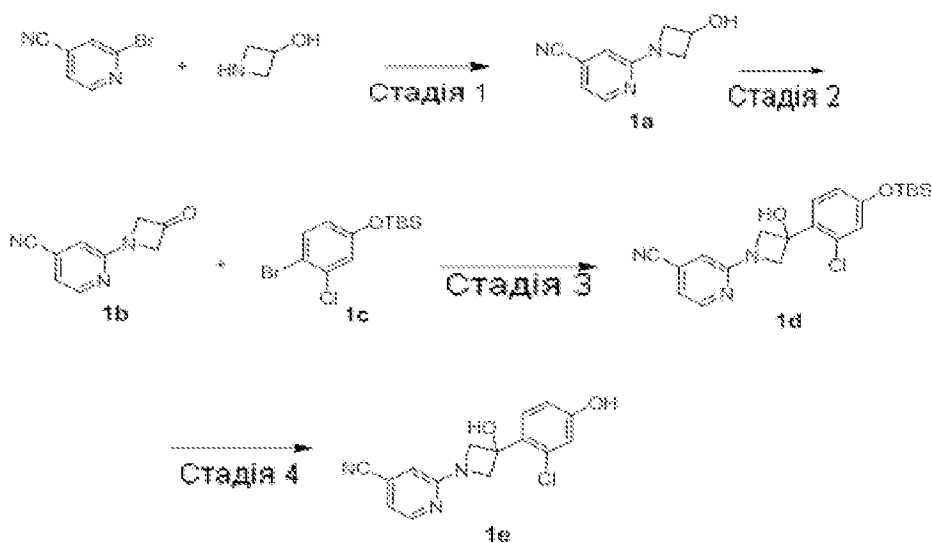
У представленій вище загальній схемі синтезу X являє собою відхідну групу, PG являє собою захисну групу, та інші змінні є такими, як описано у даному документі. Сполуку формули (C) можна одержувати шляхом взаємодії сполуки формули (A) зі сполукою формули (B) у присутності основи з одержанням сполуки формули (C). Сполуку формули (D) одержують зі сполуки формули (C) при відповідних умовах зняття захисту. Сполуку формули (D) можна поєднувати зі сполукою формули (E) у присутності основи з одержанням сполуки формули (I).

20

Підходящі сполуки структур (A) та (B) можна одержувати відповідно до конкретних способів, описаних у наступних прикладах, або за допомогою способів, відомих у даній галузі техніки. У деяких варіантах реалізації X являє собою галоген-. У деяких варіантах реалізації PG являє собою BOC.

25

Загальний синтез 1



Стадія 1: 2-(3-гідроксіазетидин-1-іл)ізонікотинонітрил (1a)

30

Карбонат калію (4,6 г, 33 ммоль) додавали до 2-хлор-4-піридинкарбонітрилу (2,0 г, 14,4 ммоль) та 3-гідроксіазетидингідрохлориду (1,7 г, 16 ммоль) у NMP (12 мл) при кімнатній

температурі та суміш нагрівали до 80°C впродовж 2 год. у герметичній пробірці. Суміш охолоджували до кімнатної температури, обробляли H₂O та екстрагували EtOAc. Органічні шари промивали сольовим розчином, сушили з Na₂SO₄ та концентрували. У результаті очищення шляхом хроматографії (на 24 г колонці з силікагелем ISCO) із застосуванням градієнту 1:1 гексан/EtOAc – 100% EtOAc одержували 2-(3-гідроксіязетидин-1-іл)ізонікотинонітрил (1a).

Стадія 2: 2-(3-оксоазетидин-1-іл)ізонікотинонітрил (1b)

N-метилморфолін (1,9 г, 16 ммоль), а потім тетрапропіламонію перрутнат (190 мг, 0,5 ммоль) додавали до 2-(3-гідроксіязетидин-1-іл)ізонікотинонітрилу (1,9 г, 10,7 ммоль) у CH₂Cl₂ (200 мл) із застосуванням молекулярних сит (1 г, активований порошок, 4 Å) при кімнатній температурі. Після 20 хвилин інтенсивного перемішування суміш фільтрували через шар целіту та концентрували. У результаті очищення шляхом хроматографії (на 24 г колонці з силікагелем ISCO) із застосуванням градієнта 100% гексан – 1:3 гексан/EtOAc одержували 2-(3-оксоазетидин-1-іл)ізонікотинонітрил (1b).

Одержання 1с: (4-бром-3-хлорфенокси)(*трет*-бутил)диметилсилан (1с)

До розчину 4-бром-3-хлорфенолу (250 г, 1,21 моль) та TBSCl (272 г, 1,81 моль) у ДМФА (2,0 л) додавали імідазол (164 г, 2,41 моль). Потім реакційну суміш перемішували при 30°C впродовж 12 год. Реакційну суміш занурювали у H₂O (3 л) та два рази екстрагували EtOAc (2 л). Об'єднані органічні шари промивали H₂O (1 л) та сольовим розчином (1 л), сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. У результаті очищення шляхом хроматографії на силікагелі з елюванням петролейним ефіром одержували (4-бром-3-хлорфенокси)(*трет*-бутил)диметилсилан (1с).

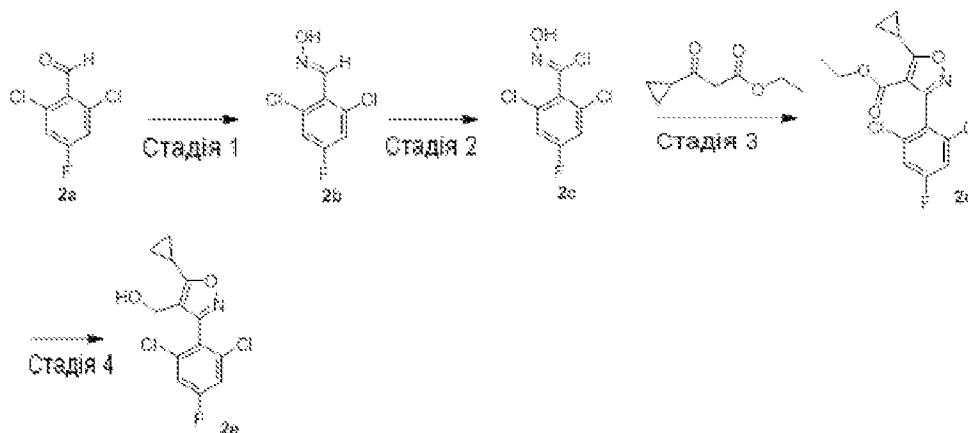
Стадія 3: 2-(3-(4-((*трет*-бутилдиметилсиліл)окси)-2-хлорфеніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)ізонікотинонітрил (1d)

Комплекс хлориду ізопропілмагнію та хлориду літію (1,3 мл, 1,7 ммоль, 1,5 М розчин у ТГФ) краплями додавали до (4-бром-3-хлорфенокси)(*трет*-бутил)диметилсилану (1с, 370 мг, 1,15 ммоль) у ТГФ (0,9 мл) при кімнатній температурі. Через 3 год. реакційну суміш охолоджували до 0°C та обробляли однією порцією 2-(3-оксоазетидин-1-іл)ізонікотинонітрилу (199 мг, 1,15 ммоль) у вигляді твердої речовини. Через 1 год. реакцію гасили H₂O та EtOAc. Органічний шар промивали сольовим розчином, сушили з Na₂SO₄ та концентрували. У результаті очищення шляхом хроматографії (на 4 г колонці з силікагелем ISCO) із застосуванням градієнта 100% гексан – 1:3 гексан/EtOAc одержували 2-(3-(4-((*трет*-бутилдиметилсиліл)окси)-2-хлорфеніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)ізонікотинонітрил (1d).

Стадія 4: 2-(3-(2-хлор-4-гідроксифеніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)ізонікотинонітрил (1e)

До розчину 2-(3-(4-((*трет*-бутилдиметилсиліл)окси)-2-хлорфеніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)ізонікотинонітрилу (1d) (180 мг, 0,43 ммоль) у 2-Ме-ТГФ (4 мл) додавали 1 М розчин ТБАФ у ТГФ (0,6 мл, 0,59 ммоль) при кімнатній температурі. Через 30 хвилин реакцію гасили водою, суміш екстрагували EtOAc. Органічну фазу промивали сольовим розчином (10 мл), сушили з Na₂SO₄ та концентрували з одержанням 2-(3-(2-хлор-4-гідроксифеніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)ізонікотинонітрилу (1e), який застосовували без додаткового очищення.

Загальний синтез 2



Стадія 1: 2,6-дихлор-4-фторбензальдегіду оксим (2b)

Суспензію 2,6-дихлор-4-фторбензальдегіду (6,0 г, 31,2 ммоль), NH₂OH·HCl (4,3 г, 62,4 ммоль), Na₂CO₃ (8,3 г, 78,7 ммоль) у суміші етанол-вода (50 мл, 5:1) перемішували при

кімнатній температурі впродовж 3 год. Реакційну суміш конденсували під вакуумом та залишок обробляли водою, а потім екстрагували етилацетатом. Етилацетатний шар промивали сольовим розчином, сушили над Na_2SO_4 та концентрували з одержанням 2,6-дихлор-4-фторбензальдегіду оксиму (2b).

5 Стадія 2: 2,6-дихлор-4-фтор-N-гідроксибензімідоїлу хлорид (2c)

До розчину 2,6-дихлор-4-фторбензальдегіду оксиму (2b, 5,5 г, 26,7 ммоль) у ДМФА (10 мл) додавали N-хлорсукцинімід (4,3 г, 32,0 ммоль). Реакційну суміш перемішували при КТ впродовж 1 год. Реакцію гасили H_2O та суміш екстрагували EtOAc . Об'єднані органічні шари промивали сольовим розчином, сушили над безводним Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували з одержанням 2,6-дихлор-4-фтор-N-гідроксибензімідоїлу хлориду (2c), який застосовували на наступній стадії без додаткового очищення.

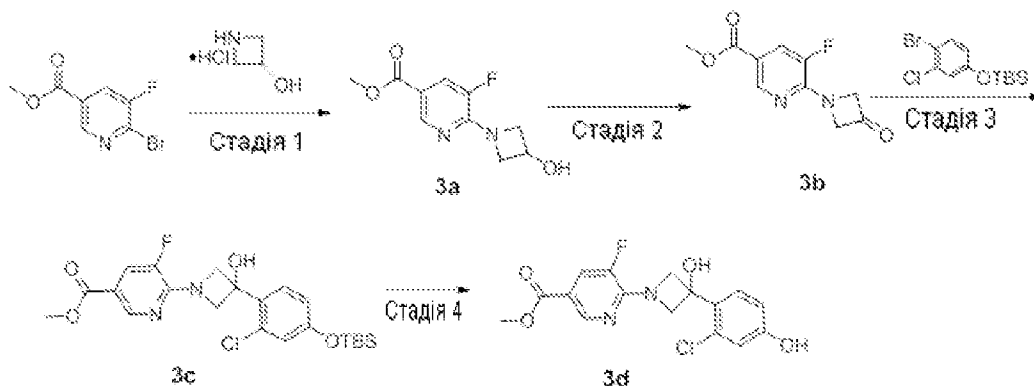
Стадія 3: етил-5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-карбоксилат (2d)

До розчину складного етилового ефіру 3-циклопропіл-3-оксопропіонової кислоти (5,0 г, 32,0 ммоль) у 30 мл ТГФ додавали Et_3N (10,8 г, 107,2 ммоль). Реакційну суміш перемішували при КТ впродовж 30 хвил., а потім краплями додавали реакційну суміш з попередньої стадії (2,6-дихлор-4-фтор-N-гідроксибензімідоїлу хлорид (2c)). Отриману суміш перемішували впродовж 2 год. при КТ. Розчинник видаляли та залишок розподіляли між 100 мл води та 50 мл EtOAc . Органічний шар промивали сольовим розчином, сушили, фільтрували, концентрували та очищали на колонці з силікагелем (ПЕ/ЕА = 10/1) з одержанням етил-5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-карбоксилату (2d).

Стадія 4: (5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метанол (2e)

До розчину етил-5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-карбоксилату (2d, 3,4 г, 9,3 ммоль) у ТГФ (30 мл) краплями додавали LiAlH_4 (11,1 мл, 11,1 ммоль, 1 М розчин у гексані) при 0°C . Реакційну суміш перемішували впродовж 30 хвил. Додавали 1,0 мл води, а потім додавали 2,0 г 10% розчину NaOH , 3,0 мл води. Суміш фільтрували та концентрували. Неочищений продукт очищали на колонці з силікагелем (ПЕ/ЕА = 2/1) з одержанням (5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метанолу (2e). РХМС (ІЕР): m/z 302,0 ($\text{M}+1$)⁺. ^1H -ЯМР (500 МГц, CDCl_3): δ 7,22-7,20 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 4,42-4,41 (d, J = 6,0 Гц, 2H), 2,19-2,16 (m, 1H), 1,41-1,39 (m, 1H), 1,29-1,26 (m, 2H), 1,16-1,13 (m, 2H).

30 Загальний синтез 3



Стадія 1: метил-5-фтор-6-(3-гідроксіязетидин-1-іл)нікотинат (3a)

35 Суміш азетидин-3-олу гідрохлориду (2,8 г, 26 ммоль), метил-6-бром-5-фторнікотинату (5,0 г, 21 ммоль) та карбонату калію (7,4 г, 53 ммоль) у ДМФА (100 мл) гріли при 65°C впродовж 19 годин. Суміш очищали шляхом флеш-хроматографії (силікагель) з одержанням цільового продукту. РХМС-ІЕР⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ вираховано для $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{FN}_2\text{O}_3$: 227,1; встановлено: 227,0.

Стадія 2: метил-5-фтор-6-(3-оксоазетидин-1-іл)нікотинат (3b)

40 Розчин метил-5-фтор-6-(3-гідроксіязетидин-1-іл)нікотинату (4,7 г, 21 ммоль) у дихлорметані (270 мл) обробляли періодинамом Десса-Мартіна (9,7 г, 23 ммоль). Після 6 годин перемішування при кімнатній температурі додавали додаткову порцію періодинама Десса-Мартіна (1,5 г) та суміш залишали перемішуватися впродовж ночі при кімнатній температурі. Після перемішування впродовж ночі суміш обробляли водним розчином тіосульфату натрію та насиченим водним розчином гідрокарбонату натрію. Водну фазу три рази екстрагували дихлорметаном. Об'єднані екстракти сушили над безводним сульфатом магнію, фільтрували, концентрували досуха при зниженому тиску. Залишок два рази очищали шляхом флеш-хроматографії (силікагель) з одержанням цільового матеріалу. РХМС-ІЕР⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$ вираховано для $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{FN}_2\text{O}_4$: 243,1; встановлено: 243,0.

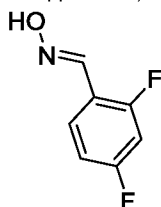
Стадія 3: метил-6-(3-(4-((*трет*-бутилдиметилсиліл)окси)-2-хлорфеніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинат (3с)

Розчин (4-бром-3-хлорфенокси)(*трет*-бутил)диметилсилану (4,5 г, 14 ммоль) у 2-метилтетрагідрофурані (14 мл) обробляли розчином хлорид ізопропілмагнію/хлорид літію (Aldrich, 1,3 М, 11 мл, 15 ммоль) шляхом додавання краплинами через шприц. Отриману суміш перемішували впродовж приблизно однієї години, а потім охолоджували на водяній бані з льодом. Порціями додавали метил-5-фтор-6-(3-оксазетидин-1-іл)нікотинат (2,0 г, 8,9 ммоль) впродовж 2 годин. Суміш витримували впродовж ночі при кімнатній температурі. Реакцію гасили 10% водним розчином лимонної кислоти. Водну фазу три рази екстрагували етилацетатом. Об'єднані органічні шари один раз промивали насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили над безводним сульфатом магнію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску з одержанням неочищеного цільового продукту, який застосовували без додаткового очищення. РХМС-ІЕР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вираховано для C₂₂H₂₉ClFN₂O₄Si: 467,2; встановлено: 467,1.

Стадія 4: метил-6-(3-(2-хлор-4-гідроксифеніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинат (3d) Неочищений метил-6-(3-(4-((*трет*-бутилдиметилсиліл)окси)-2-хлорфеніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинат (приблизно 10 ммоль) розчиняли у тетрагідрофурані (70 мл) та обробляли розчином фториду тетра-*n*-бутиламонію (Aldrich, 1,0 М розчин у ТГФ, 18 мл, 18 ммоль). Суміш витримували при кімнатній температурі до завершення реакції, що визначають шляхом РХ/МС, а потім очищали шляхом флеш-хроматографії (силікагель) з одержанням проміжної сполуки 3d. РХМС-ІЕР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вираховано для C₁₆H₁₅ClFN₂O₄: 353,1; встановлено: 353,0.

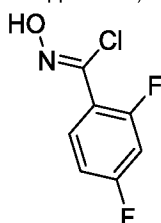
Приклад 1: 5-((4-бром-3-хлорфенокси)метил)-4-циклопропіл-1-(2,6-дихлорфеніл)-1Н-піразол

Стадія 1: 2,4-дифторбензальдегіду оксим



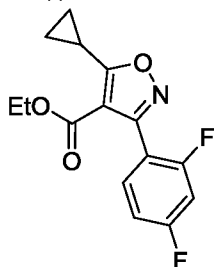
Зазначену сполуку одержували у відповідності зі способом, описаним у загальному синтезі 2, стадія 1, починаючи з 2,4-дифторбензальдегіду (10 г, 70 ммоль).

Стадія 2: 2,4-дифтор-N-гідроксибензімідоїлу хлорид



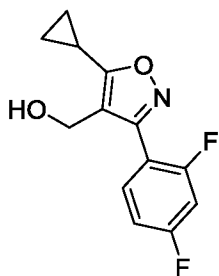
Зазначену сполуку одержували у відповідності зі способом, описаним у загальному синтезі 2, стадія 2, починаючи з 2,4-дифторбензальдегіду оксиму (9 г, 57 ммоль).

Стадія 3: етил-5-циклопропіл-3-(2,4-дифторфеніл)ізоксазол-4-карбоксилат



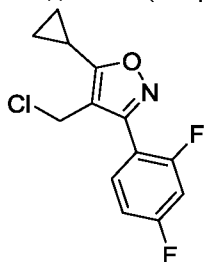
Зазначену сполуку одержували у відповідності зі способом, описаним у загальному синтезі 2, стадія 3, починаючи з 2,4-дифтор-N-гідроксибензімідоїлу хлориду (11 г, 57 ммоль).

Стадія 4: (5-циклопропіл-3-(2,4-дифторфеніл)ізоксазол-4-іл)метанол



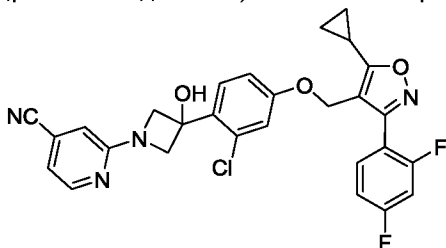
Зазначену сполуку одержували у відповідності зі способом, описаним у загальному синтезі 2, стадія 4, починаючи з етил-5-циклопропіл-3-(2,4-дифторфеніл)ізоксазол-4-карбоксилату (2,2 г, 8 ммоль).

5 Стадія 5: 4-(хлорметил)-5-циклопропіл-3-(2,4-дифторфеніл)ізоксазол



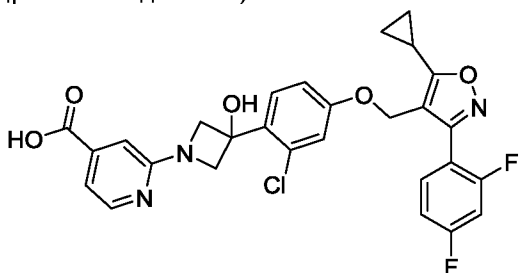
10 До розчину (5-циклопропіл-3-(2,4-дифторфеніл)ізоксазол-4-іл)метанолу (113 мг, 0,45 ммоль) у CH_2Cl_2 (2,3 мл) додавали тіонілхлорид (164 мкл, 2,3 ммоль) при 0°C . Суміш нагрівали до температури зворотної конденсації впродовж 15 хвил. та охолоджували до кімнатної температури. Суміш концентрували у вакуумі. Додавали ще CH_2Cl_2 (5 мл) та суміш знову концентрували. Зазначений процес повторювали у третій раз для видалення надлишку тіонілхлориду. Неочищений залишок застосовували на наступній стадії без додаткового очищення.

15 Стадія 6: 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,4-дифторфеніл)ізоксазол-4-іл)-метокси)-феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)ізонікотинонітрил



20 4-(Хлорметил)-5-циклопропіл-3-(2,4-дифторфеніл)ізоксазол (113 мг, 0,45 ммоль), 2-(3-(2-хлор-4-гідроксифеніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)ізонікотинонітрил (проміжна сполука 1e) (149 мг, 0,5 ммоль) та K_2CO_3 (124 мг, 0,9 ммоль) об'єднували у безводному ДМФА (2,3 мл) при кімнатній температурі. Суміш нагрівали до 65°C у атмосфері азоту. Через 2 год. розчин охолоджували до кімнатної температури, реакцію гасили H_2O та суміш екстрагували EtOAc . Об'єднані органічні шари промивали сольовим розчином, сушили над безводним Na_2SO_4 , фільтрували та концентрували. У результаті очищення шляхом хроматографії: ISCO (12 г колонка з силікагелем) із застосуванням градієнта $100\% \text{CH}_2\text{Cl}_2 - 3:1 \text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{попередньо змішаний розчин}$ 25 $60:35:5 \text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{Et}_2\text{O}:\text{MeOH}$ одержували титульну сполуку.

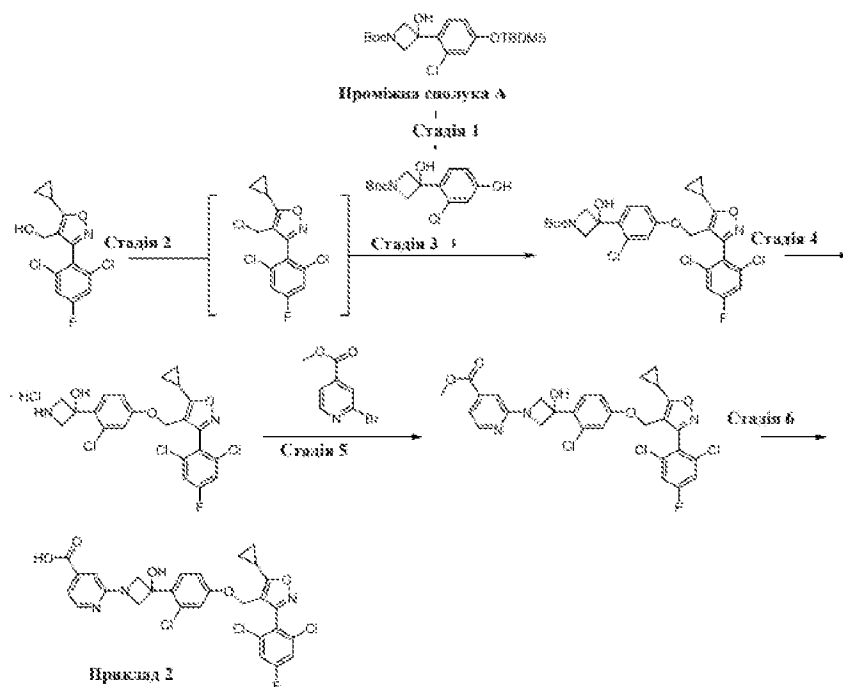
Стадія 7: 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,4-дифторфеніл)ізоксазол-4-іл)-метокси)-феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)ізонікотинова кислота (приклад 1)



10 М водний розчин гідроксиду натрію (0,67 мл) додавали до 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-

3-(2,4-дифторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)ізонікотинонітрилу (210 мг, 0,39 ммоль) у етанолі (2 мл) та H₂O (2 мл) при кімнатній температурі та суміш гріли при 60°C впродовж 90 хвилин у герметичній пробірці. Суміш охолоджували до кімнатної температури та регулювали pH до приблизно 5 із застосуванням 1 М розчину HCl, у результаті чого з розчину випадав осад. Розчин фільтрували та тверду речовину промивали Et₂O та сушили у вакуумі з одержанням 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,4-дифторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)ізонікотинової кислоти (приклад 1). ¹H-ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) ¹H-ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 13,41 (s, 1H), 8,19 (dd, J = 5,2, 0,8 Гц, 1H), 7,59 (td, J = 8,5, 6,5 Гц, 1H), 7,49 – 7,34 (m, 2H), 7,28 – 7,15 (m, 1H), 7,05 – 6,96 (m, 2H), 6,88 – 6,74 (m, 2H), 6,20 (s, 1H), 5,00 (s, 2H), 4,47 (d, J = 9,3 Гц, 2H), 4,18 (d, J = 9,2 Гц, 2H), 2,40 (tt, J = 8,3, 5,3 Гц, 1H), 1,20 – 1,00 (m, 4H). МС (ІЕР⁺) (m/z) 554,0 (M + H).

Приклад 2: 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)ізонікотинова кислота



Одержання проміжної сполуки А:

До розчину (4-бром-3-хлорфенокси)(*трет*-бутил)диметилсилану (1с, 60 г, 187 ммоль) у ТГФ (500 мл) краплинами додавали *n*-BuLi (2,5 М, 75 мл) при -78°C у атмосфері N₂. Реакційну суміш перемішували при -78°C впродовж 1 год. Потім до суміші краплинами додавали розчин *трет*-бутил 3-оксазетидин-1-карбоксилату (27 г, 155 ммоль) у ТГФ (500 мл) при -78°C. Потім реакційну суміш перемішували при 20°C впродовж 3 год. Реакційну суміш занурювали у H₂O (1 л) та три рази екстрагували EtOAc (2 л). Об'єднані органічні шари промивали водою (1 л), сушили над Na₂SO₄, фільтрували та концентрували у вакуумі. Неочищений продукт очищали шляхом хроматографії на силікагелі, елюючи сумішшю 10:1 петролейний ефір:EtOAc, з одержанням 3-(4-((*трет*-бутилдиметил-силіл)окси)-2-хлорфеніл)азетидин-3-олу (проміжна сполука А).

Стадія 1: *трет*-бутил-3-(2-хлор-4-гідроксифеніл)-3-гідроксіазетидин-1-карбоксилат

До розчину *трет*-бутил-3-(4-((*трет*-бутилдиметилсиліл)окси)-2-хлорфеніл)-3-гідроксіазетидин-1-карбоксилату (проміжна сполука А, 1,27 г, 3,07 ммоль) у ТГФ (50,0 мл) при -10°C краплинами додавали 1 М розчин ТБАФ у ТГФ (3,68 мл, 3,68 ммоль). Реакційну суміш перемішували впродовж 2 годин та концентрували з одержанням *трет*-бутил-3-(2-хлор-4-гідроксифеніл)-3-гідроксіазетидин-1-карбоксилату, який застосовували без додаткового очищення.

Стадія 2: 4-(хлорметил)-5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол

Розчин (5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метанолу (2е); 845 мг, 2,80 ммоль) у ДХМ (28,0 мл) охолоджували до 0°C. Додавали тіонілхлорид (1,02 мл, 14,0 ммоль) та розчин гріли при 45°C впродовж 1 години. Реакційну суміш концентрували досуха та

застосовували на наступній стадії без очищення.

Стадія 3: *трет*-бутил-3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-карбоксилат

Розчин *трет*-бутил-3-(2-хлор-4-гідроксифеніл)-3-гідроксіазетидин-1-карбоксилату (922 мг, 3,07 ммоль) у ДМФА (28,0 мл) додавали до неочищеного 4-(хлорметил)-5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазолу, а потім додавали карбонат калію (773 мг, 5,60 ммоль). Суміш гріли при 60°C впродовж 8 годин. Реакційну суміш концентрували, розводили водою та екстрагували EtOAc (3х). Об'єднані органічні шари промивали водою та сольовим розчином, сушили над MgSO₄, фільтрували та концентрували. Неочищений продукт очищали шляхом хроматографії на силікагелі (ДХМ/Et₂O/MeOH) з одержанням *трет*-бутил-3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-карбоксилату. РХМС-ІЕР⁺ (*m/z*): [(M+H)-BOC]⁺ вираховано: 483,04; встановлено: 483,04.

Стадія 4: 3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)-метокси)феніл)азетидин-3-ол

До розчину *трет*-бутил 3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-карбоксилату (1,52 г, 2,60 ммоль) у ДХМ (130 мл) додавали 4 N HCl у 1,4-діоксані (26,0 мл, 104 ммоль). Цей розчин перемішували при кімнатній температурі впродовж 2,5 годин та концентрували досуха з одержанням 3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)азетидин-3-олу у вигляді гідрохлоридної солі, який застосовували без додаткового очищення. РХМС-ІЕР⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ вираховано: 483,04; встановлено: 483,03.

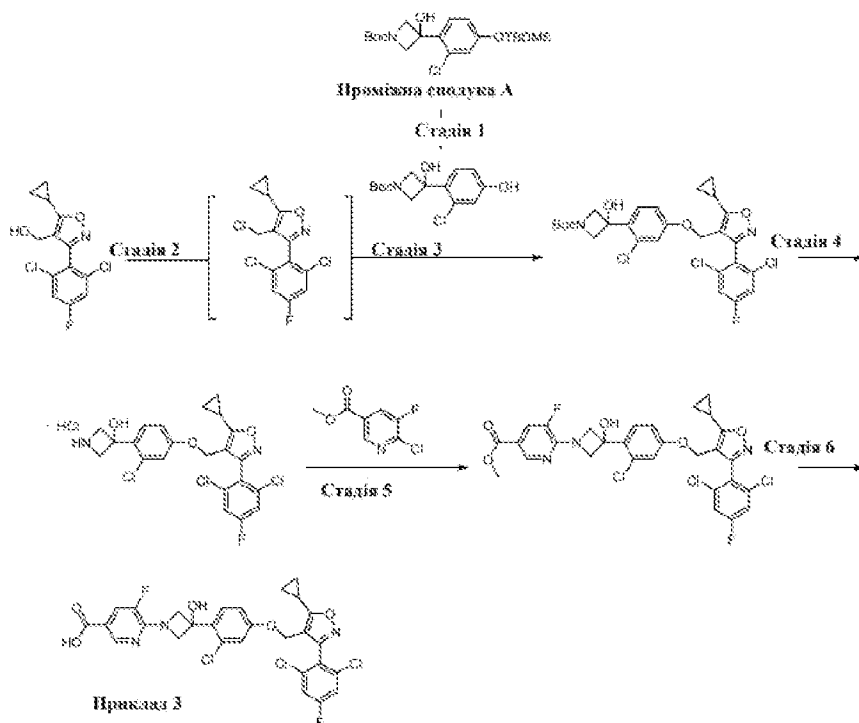
Стадія 5: метил-2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)ізонікотинат

Суміш метил-2-бромпіридин-4-карбоксилату (0,466 г, 2,16 ммоль), 3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)азетидин-3-олу у вигляді гідрохлоридної солі (1,02 г, 1,96 ммоль), карбонату цезію (2,56 г, 7,85 ммоль), (±)-BINAP (0,244 г, 0,392 ммоль), тримеру ацетату паладію (88,0 мг, 0,131 ммоль) та 1,4-діоксану (40,0 мл) гріли при 85°C впродовж 18 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, фільтрували через целіт та очищали шляхом хроматографії на силікагелі (ацетон/гексан) з одержанням метил-2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)ізонікотинату. РХМС-ІЕР⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ вираховано: 618,08; встановлено: 618,20.

Стадія 6: 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)ізонікотинова кислота (приклад 2)

До розчину 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)ізонікотинату (617 мг, 0,997 ммоль) у суміші ТГФ/вода (1:1, 10 мл) додавали моногідрат гідроксиду літію (83,6 мг, 1,99 ммоль). Розчин перемішували впродовж 90 хвилин, концентрували для видалення ТГФ та розводили водою. При перемішуванні додавали оцтову кислоту (0,23 мл, 3,99 ммоль), у результаті чого тверді речовини випадали у осад. Тверді речовини відфільтровували, промивали водою, ІПС та ефіром та сушили під вакуумом з одержанням 2-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)ізонікотинової кислоти (приклад 2). РХМС-ІЕР⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ вираховано: 604,06; встановлено: 604,15. ¹H-ЯМР (300 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 13,47 (шир. s, 1H), 8,18 (dd, *J* = 5,3, 0,8 Гц, 1H), 7,69 (d, *J* = 8,5 Гц, 2H), 7,37 (d, *J* = 8,7 Гц, 1H), 7,02 (dd, *J* = 5,3, 1,4 Гц, 1H), 6,93 (d, *J* = 2,6 Гц, 1H), 6,86 (шир. s, 1H), 6,75 (dd, *J* = 8,6, 2,6 Гц, 1H), 6,20 (s, 1H), 4,91 (s, 2H), 4,49 (d, *J* = 9,3 Гц, 2H), 4,19 (d, *J* = 9,3 Гц, 2H), 2,46 – 2,37 (m, 1H), 1,23 – 1,04 (m, 4H).

Приклад 3: 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинова кислота



Стадії 1-4 були такими ж, як описано у синтезі з прикладу 2.

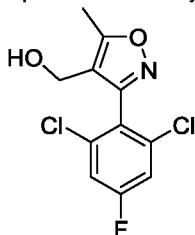
Стадія 5: метил-6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)-5-фторнікотинат

Суміш метил-6-хлор-5-фторпіридину (235 мг, 1,24 ммоль), 3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)азетидин-3-олу у вигляді гідрохлоридної солі (495 мг, 0,952 ммоль) та карбонату калію (1,05 г, 7,61 ммоль) у ДМФА (30,0 мл) гріли при 60°C впродовж 1 години. Реакційну суміш концентрували, розводили водою та екстрагували EtOAc (3х). Об'єднані органічні шари промивали сольовим розчином, сушили над MgSO₄, фільтрували та концентрували. Неочищену суміш очищали шляхом хроматографії на силікагелі (ДХМ/Et₂O/MeOH) з одержанням метил-6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)-5-фторнікотинату. РХМС-ІЕР⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ вираховано: 636,07; встановлено: 635,96.

Стадія 6: 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)-5-фторнікотинова кислота (приклад 3)

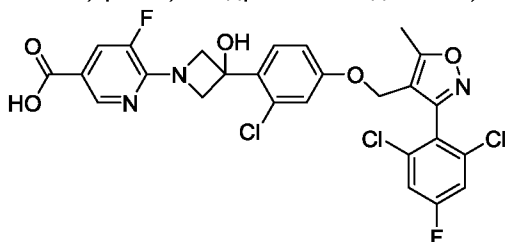
До розчину метил-6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)-5-фторнікотинату (364 мг, 0,571 ммоль) у суміші ТГФ/вода (1:1, 20,0 мл) додавали моногідрат гідроксиду літію (41,3 мг, 0,984 ммоль). Розчин перемішували впродовж 18 годин, концентрували для видалення ТГФ та розводили водою (10,0 мл). Регулювали рН до 3 із застосуванням 1 н. розчину HCl. Тверді речовини відфільтровували, промивали водою, розчиняли у суміші АЦН/вода та ліофілізували з одержанням 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)-5-фторнікотинової кислоти (приклад 3). РХМС-ІЕР⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ вираховано: 622,05; встановлено: 622,12. ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,84 (шир. s, 1H), 8,44 (t, J = 1,7 Гц, 1H), 7,79 – 7,63 (m, 3H), 7,39 (d, J = 8,7 Гц, 1H), 6,95 (d, J = 2,5 Гц, 1H), 6,77 (dd, J = 8,6, 2,6 Гц, 1H), 6,28 (s, 1H), 4,93 (s, 2H), 4,70 (d, J = 9,8 Гц, 2H), 4,34 (d, J = 9,5 Гц, 2H), 2,50-2,43 (m, 1H), 1,22 – 1,08 (m, 4H).

Проміжна сполука 4: (3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-5-метилізоксазол-4-іл)метанол



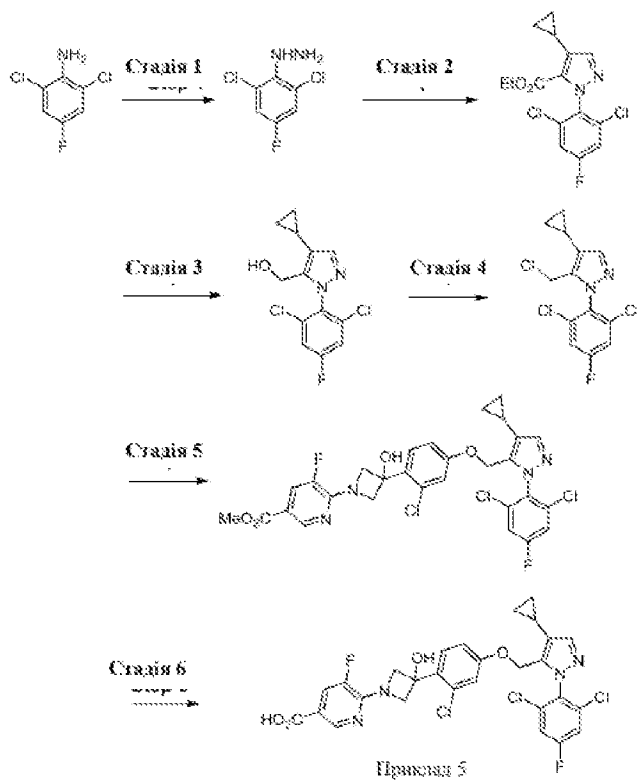
У відповідності з загальним синтезом 2, починаючи з 2,6-дихлор-4-фторбензальдегіду на стадії 1, та із застосуванням етилового ефіру оцтової кислоти на стадії 3 одержували (3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-5-метилізоксазол-4-іл)метанол (проміжна сполука 4). РХМС-ІЕР⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ вираховано: 276,00; встановлено: 276,05.

5 Приклад 4: одержання 6-(3-(2-хлор-4-((3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-5-метилізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинової кислоти



10 У відповідності з загальним способом, описаним для прикладу 3, із застосуванням проміжної сполуки 4 одержували 6-(3-(2-хлор-4-((3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-5-метилізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинінову кислоту. РХМС-ІЕР⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ вираховано: 596,04; встановлено: 596,12. ¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 12,82 (шир. s, 1H), 8,44 (t, *J* = 1,6 Гц, 1H), 7,74 – 7,66 (m, 3H), 7,39 (d, *J* = 8,7 Гц, 1H), 6,90 (d, *J* = 2,6 Гц, 1H), 6,75 (dd, *J* = 8,7, 2,6 Гц, 1H), 6,26 (s, 1H), 4,87 (s, 2H), 4,69 (d, *J* = 9,8 Гц, 2H), 4,34 (d, *J* = 9,8 Гц, 2H), 2,57 (s, 3H).

15 Приклад 5: 6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропіл-1-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-1Н-піразол-5-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинінова кислота



20 Стадія 1: (2,6-дихлор-4-фторфеніл)гідразину гідрохлорид

До охолодженого до -5°C розчину (внутрішня температура, баня рідкий лід/ацетон) 2,6-дихлор-4-фтораніліну (3,0 г, 17 ммоль) у 37% хлористоводневій кислоті (30 мл) та трифтороцтовій кислоті (20 мл) краплями додавали водний розчин нітриту натрію (1,4 г, 20 ммоль, 6 мл води). Реакційну суміш перемішували впродовж 90 хвилин, а потім впродовж 15 хвилин додавали розчин дигідрату хлориду олова (5,6 г, 25 ммоль) у 37% хлористоводневій кислоті (16 мл), підтримуючи внутрішню температуру ≤ 2°C. Суміш перемішували впродовж ночі при кімнатній температурі. Суміш фільтрували та зібрану тверду речовину промивали ізопропіловим спиртом та сушили за допомогою побутового вакуумного насоса з одержанням титильної сполуки. РХМС-ІЕР⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ вираховано для C₆H₆Cl₂FN₂: 195,0; встановлено:

194,9.

Стадія 2: етил-4-циклопропіл-1-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-1Н-піразол-5-карбоксилат

N,N-Диметилформаміду диметилацеталь (2,7 мл, 20 ммоль) додавали до етил-3-циклопропіл-2-оксопропаноату (Synnovator, 1,6 г, 10 ммоль) та суміш перемішували впродовж 5 ночі при кімнатній температурі. Потім суміш концентрували досуха при зниженому тиску. До залишку додавали надлишкову кількість етанолу (40 мл), (2,6-дихлор-4-фторфеніл)гідазину гідрохлорид (2,6 г, 11 ммоль) та 37% хлористоводневу кислоту (150 мкл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі впродовж чотирьох годин, а потім впродовж 2 днів при температурі зворотної конденсації. Охолоджену суміш очищали шляхом флеш-хроматографії 10 (силікагель) з одержанням титульної сполуки. РХМС-ІЕР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вираховано для C₁₅H₁₄Cl₂FN₂O₂: 343,0; встановлено: 343,1.

Стадія 3: (4-циклопропіл-1-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-1Н-піразол-5-іл)метанол

Розчин етил-4-циклопропіл-1-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-1Н-піразол-5-карбоксилату (1,5 г, 4,4 ммоль) у тетрагідрофурані (50 мл) охолоджували до температури від -12 до -10°C. Краплинами 15 додавали розчин алюмогідриду літію (Aldrich, 2 М розчин у тетрагідрофурані, 2,6 мл, 5,2 ммоль). Суміш перемішували впродовж 35 хвилин. Реакцію гасили (процедура Фізера) та суміш очищали шляхом флеш-хроматографії (силікагель) з одержанням титульної сполуки. РХМС-ІЕР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вираховано для C₁₃H₁₂Cl₂FN₂O: 301,0; встановлено: 301,1.

Стадія 4: 5-(хлорметил)-4-циклопропіл-1-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-1Н-піразол

Тіонілхлорид (110 мкл, 1,5 ммоль) додавали до розчину (4-циклопропіл-1-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-1Н-піразол-5-іл)метанолу (0,15 г, 0,51 ммоль) у дихлорметані (2,5 мл). Суміш гріли при 60°C впродовж 40 хвилин, а потім концентрували при зниженому тиску з одержанням 20 неочищеного цільового продукту, який застосовували без додаткового очищення. РХМС-ІЕР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вираховано для C₁₃H₁₁Cl₃FN₂: 319,0; встановлено: 319,1.

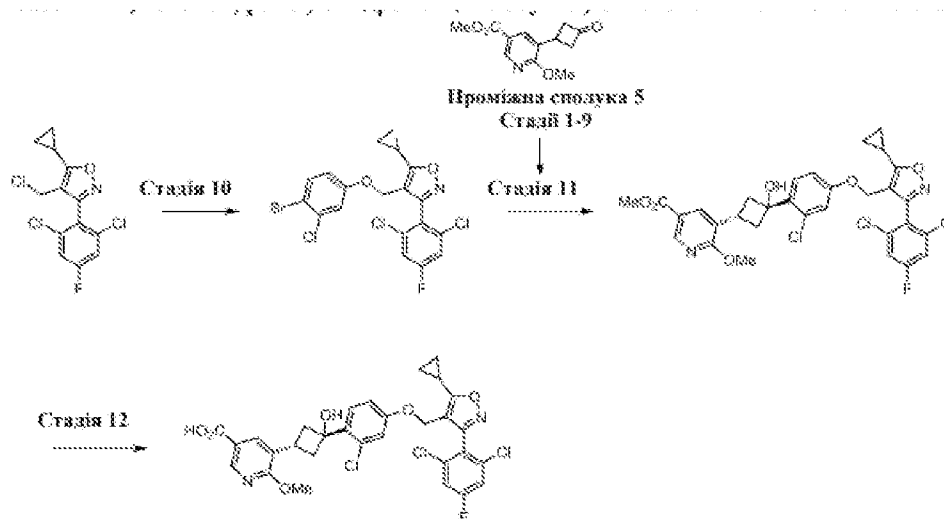
Стадія 5: метил-6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропіл-1-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-1Н-піразол-5-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинат

Розчин 4-(хлорметил)-5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазолу (0,16 г, 0,51 ммоль) у ДМФА (3 мл) обробляли метил-6-(3-(2-хлор-4-гідроксифеніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинатом (0,20 г, 0,56 ммоль), йодидом натрію (0,13 г, 0,86 ммоль) та карбонатом 30 калію (0,14 г, 1,0 ммоль). Суміш гріли при 65°C впродовж ночі, а потім очищали шляхом флеш-хроматографії (силікагель) з одержанням цільового матеріалу. РХМС-ІЕР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вираховано для C₂₉H₂₄Cl₃F₂N₄O₄: 635,1; встановлено: 635,2.

Стадія 6: 6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропіл-1-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-1Н-піразол-5-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинова кислота (приклад 5)

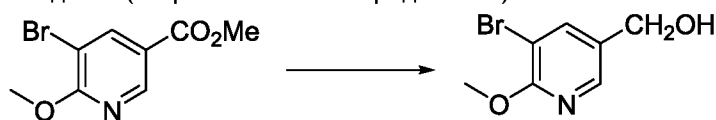
Суміш метил-6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропіл-1-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-1Н-піразол-5-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинату (0,35 г, 0,39 ммоль) та моногідрату 35 гідроксиду літію (49 мг, 1,2 ммоль) розчиняли у 1:1 водному розчині тетрагідрофурану (6 мл) та суміш перемішували при кімнатній температурі. Після завершення реакції суміш підкисляли льодяною оцтовою кислотою та концентрували. Залишок очищали шляхом флеш-хроматографії 40 (силікагель) з одержанням 6-(3-(2-хлор-4-((4-циклопропіл-1-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-1Н-піразол-5-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотинової кислоти (приклад 5). РХМС-ІЕР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вираховано для C₂₈H₂₂Cl₃F₂N₄O₄: 621,1; встановлено: 621,2. ¹Н-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,85 (s, 1H), 8,44 (t, J = 1,6 Гц, 1H), 7,76 (d, J = 8,3 Гц, 2H), 7,70 (dd, J = 12,7, 1,7 Гц, 1H), 7,49 (s, 1H), 7,40 (d, J = 8,7 Гц, 1H), 7,00 (d, J = 2,6 Гц, 1H), 6,80 (dd, J = 8,7, 2,6 Гц, 1H), 6,28 (s, 1H), 5,01 (s, 2H), 4,69 (d, J = 9,8 Гц, 2H), 4,34 (d, J = 9,6 Гц, 2H), 1,89 (tt, J = 8,4, 5,1 Гц, 1H), 0,93 (m, 2H), 0,65 (m, 2H).

Приклад 6: 5-((1S,3S)-3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксициклобутил)-6-метоксинікотинова кислота



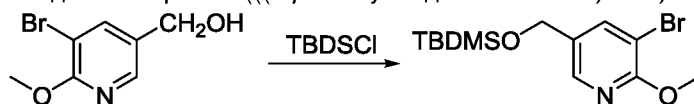
Одержання проміжної сполуки 5

Стадія 1: (5-бром-6-метоксипіридин-3-іл)метанол



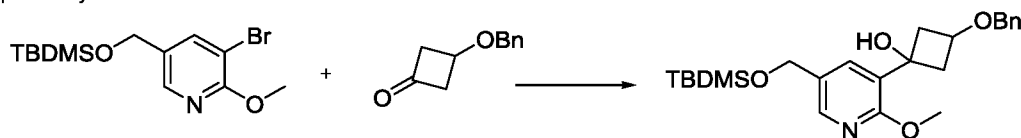
До розчину метил-5-бром-6-метоксинікотинату (52,8 г, 215,0 ммоль) у ТГФ (500 мл) додавали DIBAL-H (1,0 М розчин у толуолі) (344 мл, 344 ммоль) при -20°C . Потім суміш перемішували при КТ впродовж 2 год. Реакцію гасили нас. розчином NH_4Cl та суміш розводили етилацетатом. Органічну частину промивали сольовим розчином, сушили над безводним сульфатом натрію, фільтрували, концентрували при зниженому тиску та очищали шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (ПЕ/ЕтОАс = 4/1) з одержанням титильної сполуки.

Стадія 2: 3-бром-5-(((*трет*-бутилдиметилсиліл)окси)метил)-2-метоксипіридин



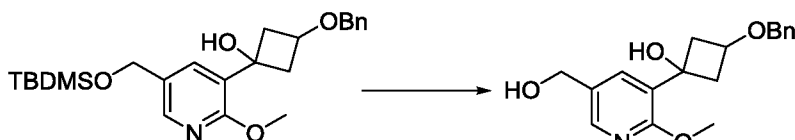
До розчину (5-бром-6-метоксипіридин-3-іл)метанолу (42,2 г, 194 ммоль) та *трет*-бутилдиметилсилілхлориду (35,0 г, 232 ммоль) у CH_2Cl_2 (500 мл) додавали імідазол (19,8 г, 291 ммоль). Суміш перемішували при КТ впродовж 8 год. Реакцію гасили водою та суміш розводили етилацетатом. Органічну частину промивали сольовим розчином, сушили над безводним сульфатом натрію, фільтрували, концентрували при зниженому тиску та очищали шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (ПЕ/ЕтОАс = 10/1) з одержанням титильної сполуки.

Стадія 3: 3-(бензилокси)-1-(5-(((*трет*-бутилдиметилсиліл)окси)метил)-2-метокси-піридин-3-іл)циклобутан-1-ол



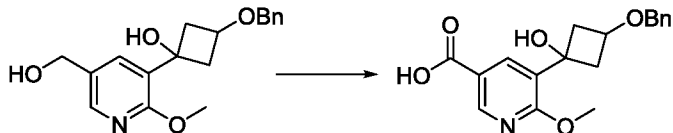
3-Бром-5-(((*трет*-бутилдиметилсиліл)окси)метил)-2-метоксипіридин (61,2 г, 184 ммоль) розчиняли у абсолютваному ТГФ (500 мл) у атмосфері аргону, краплинами додавали 1,6 М розчин *n*-бутиллітію (138 мл, 221 ммоль) у ТГФ при -78°C . Суміш перемішували впродовж 30 хвил. при тій же температурі. Потім додавали розчин 3-(бензилокси)циклобутан-1-ону (35,7 г, 202 ммоль) у ТГФ (100 мл) при -78°C , а потім суміш перемішували при вказаній температурі впродовж 30 хвил. Потім додавали насичений водний розчин хлориду амонію та суміш екстрагували етилацетатом. Органічну фазу промивали водою та насиченим розчином хлориду натрію, сушили над сульфатом магнію та фільтрували. Після видалення розчинника на роторному випарнику залишок очищали шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (ПЕ/ЕтОАс = 2/1) з одержанням титильної сполуки.

Стадія 4: 3-(бензилокси)-1-(5-(гідроксиметил)-2-метоксипіридин-3-іл)циклобутан-1-ол



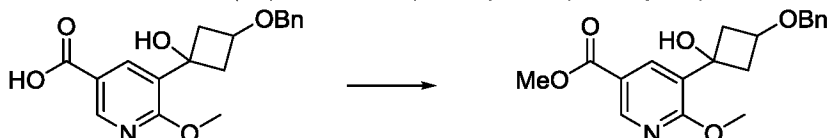
До розчину 3-(бензилокси)-1-(5-(((*трет*-бутилдиметилсиліл)окси)метил)-2-метоксипіридин-3-іл)циклобутан-1-олу (31,6 г, 73,6 ммоль) у ТГФ (300 мл) додавали ТБАФ (88 мл, 1 моль/л). Суміш перемішували при КТ впродовж 6 годин, а потім занурювали у воду та екстрагували етилацетатом. Органічну фазу промивали водою та насиченим розчином хлориду натрію, сушили над сульфатом магнію та фільтрували. Органічну фазу концентрували з одержанням титильної сполуки.

Стадія 5: 5-(3-(бензилокси)-1-гідроксициклобутил)-6-метоксинікотинова кислота



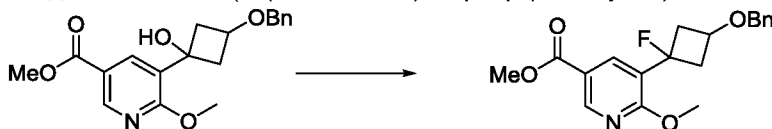
До розчину 3-(бензилокси)-1-(5-(гідроксиметил)-2-метоксипіридин-3-іл)циклобутан-1-олу (23,2 г, 73,6 ммоль) у MeCN (300 мл) та H₂O (100 мл) додавали йодбензол діацетат (64,4 г, 200 ммоль) та TEMPO (7,86 г, 50 ммоль) та розчин перемішували при кімнатній температурі впродовж 2 год.. Реакцію гасили нас. розчином бікарбонату натрію та суміш розводили етилацетатом. Органічну частину промивали сольовим розчином, сушили над безводним сульфатом натрію, фільтрували; органічну фазу концентрували з одержанням титильної сполуки.

Стадія 6: метил-5-(3-(бензилокси)-1-гідроксициклобутил)-6-метоксинікотинат



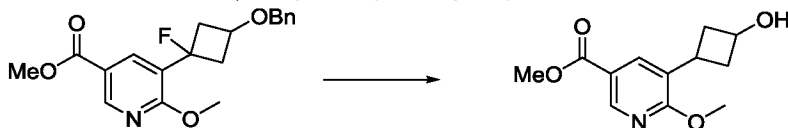
До розчину 5-(3-(бензилокси)-1-гідроксициклобутил)-6-метоксинікотинової кислоти (17,5 г, неочищеної) у суміші ТГФ/MeOH (200/50 мл) додавали TMSN₂CH₃ (50 мл, 20 моль/л) при 0°C. Суміш перемішували при кімнатній температурі впродовж 3 годин, а потім занурювали у воду та екстрагували етилацетатом. Органічну фазу промивали водою та насиченим розчином хлориду натрію, сушили над сульфатом магнію та фільтрували. Фільтрат концентрували при зниженому тиску та очищали шляхом флеш-хроматографії на силікагелі (ПЕ/ЕА = 10:1) з одержанням титильної сполуки.

Стадія 7: метил-5-(3-(бензилокси)-1-фторциклобутил)-6-метоксинікотинат



До охолодженого розчину метил-5-(3-(бензилокси)-1-гідроксициклобутил)-6-метоксинікотинату (15,2 г, 44,3 ммоль) у ДХМ (200 мл) краплями через шприц додавали ДАСТ (8,0 мл) при -78°C. Після перемішування впродовж 5 хвилин при -78°C реакційну суміш залишали нагріватися до -20°C та перемішували впродовж 75 хвилин, а потім реакцію гасили H₂O (100 мл), суміш розводили EtOAc та фази розділяли. Органічну фазу промивали нас. вод. розчином NaHCO₃ та сольовим розчином, а потім сушили над MgSO₄, фільтрували та концентрували. Неочищений продукт очищали шляхом хроматографії (ПЕ:EtOAc = 4:1) з одержанням титильної сполуки.

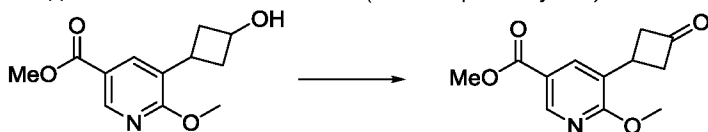
Стадія 8: метил-5-(3-гідроксициклобутил)-6-метоксинікотинат



До розчину метил-5-(3-(бензилокси)-1-фторциклобутил)-6-метоксинікотинату (12,7 г, 3,68 ммоль) у MeOH (200 мл) та мурашиній кислоті (10 мл) додавали каталізатор Pd чернь (3,0 г). Реакційну суміш енергійно перемішували у атмосфері N₂. Через приблизно 1,5 год. додавали ще каталізатору Pd чернь (1,5 г) та реакційну суміш перемішували впродовж ночі. Реакційну суміш фільтрували та концентрували. Залишок розчиняли у EtOAc та промивали нас. розчином

Na₂CO₃. Органічну фазу сушили над MgSO₄, фільтрували та концентрували до маслянистого залишку. Залишок очищали шляхом хроматографії (MeOH:CH₂Cl₂ = 1:20) з одержанням титильної сполуки.

Стадія 9: метил-6-метокси-5-(3-оксоциклобутил)нікотинат (проміжна сполука 5)



До розчину метил-5-(3-гідроксициклобутил)-6-метоксинікотинату (4,0 г, 16,9 ммоль) у MeCN (100 мл) та H₂O (30 мл) додавали йодбензол діацетат (16,1 г, 50 ммоль) та TEMPO (2,92 г, 18,6 ммоль) та розчин перемішували при кімнатній температурі впродовж 2 год.. Реакцію гасили нас. розчином Na₂CO₃, а потім суміш розводили етилацетатом. Органічну частину промивали сольовим розчином, сушили над безводним сульфатом натрію та фільтрували, органічну фазу концентрували та очищали шляхом хроматографії (ПЕ:ЕА = 5:1) з одержанням проміжної сполуки 5.

Стадія 10: 4-((4-бром-3-хлорфенокси)метил)-5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол

Розчин неочищеного 4-(хлорметил)-5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-ізоксазолу (отриманого, як описано у прикладі 2, стадія 2; 0,42 г, 1,3 ммоль) у N,N-диметилформаміді (ДМФА, 6 мл) обробляли 4-бром-3-хлорфенолом (0,27 г, 1,3 ммоль), йодидом натрію (0,34 г, 2,2 ммоль) та карбонатом калію (0,37 г, 2,6 ммоль). Суміш гріли при 60°C впродовж 35 хвилин, а потім охолоджували та очищали шляхом флеш-хроматографії (силікагель) з одержанням цільового матеріалу. РХМС-ІЕР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вираховано для C₁₉H₁₃BrCl₃FNO₂: 491,9; встановлено: 492,0.

Стадія 11: метил-5-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксициклобутил)-6-метоксинікотинат

У атмосфері аргону розчин 4-((4-бром-3-хлорфенокси)метил)-5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазолу (0,83 г, 1,7 ммоль) у 2-метилтетрагідрофурані (2 мл) обробляли розчином хлорид ізопропілмагнію/хлорид літію (Aldrich, 1,3 М розчин у тетрагідрофурані, 1,3 мл, 1,7 ммоль) шляхом додавання краплинами через шприц. Через чотири години додавали додатковий об'єм розчину хлорид ізопропілмагнію/хлорид літію (1,3 мл). У окремій посудині у атмосфері аргону розчин метил-6-метокси-5-(3-оксоциклобутил)нікотинату (проміжна сполука 5, 0,21 г, 0,90 ммоль) у тетрагідрофурані (5 мл) обробляли розчином хлорид лантану (III)/2 частини хлориду літію (Aldrich, 0,6 М розчин у тетрагідрофурані, 1,5 мл, 0,9 ммоль). Зазначену суміш перемішували впродовж однієї години при кімнатній температурі, а потім охолоджували на -8°C бані рідкий лід/ацетон. Зазначений вище розчин Грін'яра краплинами через шприц додавали до розчину кетону. Реакційну суміш перемішували впродовж ночі у атмосфері аргону. Реакцію гасили насиченим водним розчином хлориду амонію. Водну фазу три рази екстрагували етилацетатом. Об'єднані органічні шари один раз промивали насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили над безводним сульфатом магнію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску. Неочищений залишок очищали шляхом флеш-хроматографії (силікагель) з одержанням титильної сполуки. РХМС-ІЕР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вираховано для C₃₁H₂₇Cl₃FN₂O₆: 647,1; встановлено: 647,1.

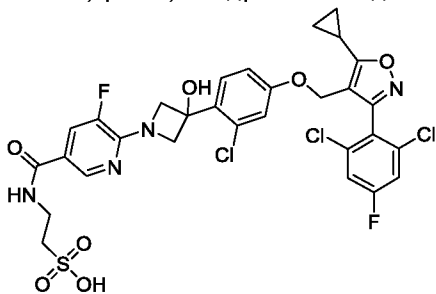
Стадія 12: 5-((1S,3S)-3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксициклобутил)-6-метоксинікотинова кислота (приклад 6)

Суміш метил-5-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксициклобутил)-6-метоксинікотинату (0,26 г, 0,40 ммоль) та моногідрату гідроксиду літію (33 мг, 0,79 ммоль) розчиняли у 1:1 водному розчині тетрагідрофурану (10 мл) та суміш перемішували впродовж ночі при кімнатній температурі. Леткі сполуки переважно видаляли при зниженому тиску. Водну суміш розводили водою та краплинами додавали 10% водний розчин хлористоводневої кислоти. Отриману суміш три рази екстрагували етилацетатом. Об'єднані органічні шари промивали насиченим водним розчином хлориду натрію (з невеликою кількістю доданої хлористоводневої кислоти). Об'єднані органічні шари сушили над безводним сульфатом магнію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску. Залишок очищали спочатку шляхом флеш-хроматографії (силікагель), а потім шляхом препаративної ВЕРХ (ацетонітрил/вода, ТФК). Об'єднані фракції, зібрані шляхом ВЕРХ, нейтралізували насиченим водним розчином гідрокарбонату натрію, насиченим хлоридом натрію, та три рази екстрагували етилацетатом. Об'єднані органічні шари сушили над безводним сульфатом магнію, фільтрували та концентрували. Залишок розчиняли у етилацетаті, обробляли безводним сульфатом магнію, фільтрували та концентрували. Залишок

знову розчиняли у етилацетаті та фільтрували через шар целіту, діатомової землі. Фільтрат концентрували з одержанням 5-((1*S*,3*S*)-3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксициклобутил)-6-метоксинікотинової кислоти (приклад 6). РХМС-ІЕР⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ вираховано для C₃₀H₂₅Cl₃FN₂O₆: 633,1; встановлено: 633,1.

¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 13,00 (шир. s, 1H), 8,58 (d, J = 2,2 Гц, 1H), 8,13 (dd, J = 2,3, 0,8 Гц, 1H), 7,72 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 7,51 (d, J = 8,7 Гц, 1H), 6,94 (d, J = 2,6 Гц, 1H), 6,79 (dd, J = 8,7, 2,6 Гц, 1H), 4,94 (s, 2H), 3,90 (s, 3H), 3,15 – 3,03 (m, 2H), 2,91 (p, J = 8,8 Гц, 1H), 2,49 – 2,41 (m, 1H), 2,41 – 2,30 (m, 2H), 1,21 – 1,09 (m, 4H).

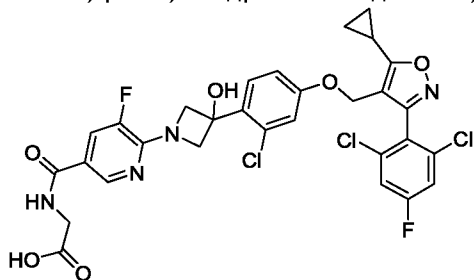
Приклад 7: 2-(6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)-5-фторнікотинамідо)етан-1-сульфонова кислота



Розчин

6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)-5-фторнікотинової кислоти (приклад 3, 0,11 г, 0,18 ммоль) у ДМФА (4 мл) обробляли НАТУ (1-[біс(диметиламіно)метиле́н]-1*H*-1,2,3-триазоло[4,5-*b*]піридиній-3-оксиду гексафторфосфат, 0,10 г, 0,27 ммоль), а потім таурином (34 мг, 0,27 ммоль) та *N,N*-діізопропілетиламіном (90 мкл, 0,54 ммоль). Суміш перемішували впродовж ночі при кімнатній температурі, а потім очищали шляхом препаративної ВЕРХ (вода/ацетонітрил/ТФК). Об'єднані фракції обробляли розчином гідроксиду амонію та концентрували з одержанням 2-(6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)-5-фторнікотинамідо)етан-1-сульфонової кислоти (приклад 7) у вигляді амонійної солі. РХМС-ІЕР⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ вираховано для C₃₀H₂₆Cl₃F₂N₄O₇S: 729,1; встановлено: 729,2. ¹H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,34 (m, 2H), 7,73 – 7,61 (m, 3H), 7,37 (d, J = 8,6 Гц, 1H), 7,29 – 6,95 (m, 4H), 6,92 (d, J = 2,5 Гц, 1H), 6,75 (dd, J = 8,6, 2,5 Гц, 1H), 6,22 (s, 1H), 4,90 (s, 2H), 4,63 (d, J = 9,6 Гц, 2H), 4,29 (d, J = 9,6 Гц, 2H), 3,46 (q, J = 6,5 Гц, 2H), 2,63 (t, J = 7,3 Гц, 2H), 2,45 – 2,38 (m, 1H), 1,16 (dt, J = 8,5, 3,1 Гц, 2H), 1,10 (dt, J = 5,4, 2,9 Гц, 2H).

Приклад 8: (6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)-5-фторнікотинііл)гліцин



Стадія 1: метил-(6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)-5-фторнікотинііл)гліцинат

Розчин 6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіязетидин-1-іл)-5-фторнікотинової кислоти (приклад 3, 0,12 г, 0,19 ммоль) у ДМФА (4 мл) обробляли НАТУ (1-[біс(диметиламіно)метиле́н]-1*H*-1,2,3-триазоло[4,5-*b*]піридиній-3-оксиду гексафторфосфат, 0,11 г, 0,29 ммоль), а потім гідрохлоридом складного метилового ефіру гліцину (36 мг, 0,29 ммоль) та *N,N*-діізопропілетиламіном (100 мкл, 0,58 ммоль). Суміш перемішували впродовж ночі при кімнатній температурі, а потім реакцію гасили насиченим водним розчином гідрокарбонату натрію. Водну фазу два рази екстрагували етилацетатом. Об'єднані екстракти один раз промивали 1:1 сумішшю насиченого водного розчину хлориду натрію/насиченого водного розчину гідрокарбонату натрію, сушили над безводним сульфатом магнію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску з одержанням цільового продукту, який застосовували без додаткового очищення. РХМС-ІЕР⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ вираховано для C₃₁H₂₆Cl₃F₂N₄O₆: 693,1; встановлено: 693,2.

Стадія 2: (6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)ізоксазол-4-

іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотиноіл)гліцин (приклад 8)

Суміш неочищеного метил-(6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотиноіл)-гліцинату (приблизно 0,19 ммоль) та моногідрату гідроксиду літію (38 мг, 0,91 ммоль) у водному розчині тетрагідрофурану (2:1, 3 мл) перемішували при кімнатній температурі впродовж 3,5 годин. Леткий розчинник видаляли при зниженому тиску. Залишок розводили водою та підкисляли до pH 1 10% водним розчином хлористоводневої кислоти. Кислу водну суміш три рази екстрагували етилацетатом. Об'єднані органічні екстракти один раз промивали насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили над безводним сульфатом магнію, фільтрували та концентрували досуха при зниженому тиску. Залишок очищали шляхом флеш-хроматографії (сілікагель) з одержанням (6-(3-(2-хлор-4-((5-циклопропіл-3-(2,6-дихлор-4-фторфеніл)-ізоксазол-4-іл)метокси)феніл)-3-гідроксіазетидин-1-іл)-5-фторнікотиноіл)гліцину (приклад 8). РХМС-ІЕР⁺ (m/z): [M+H]⁺ вираховано для C₃₀H₂₄Cl₃F₂N₄O₆: 679,1; встановлено: 679,3. ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,68 (s, 1H), 8,68 (t, J = 5,8 Гц, 1H), 8,44 (t, J = 1,7 Гц, 1H), 7,80 (dd, J = 13,2, 1,8 Гц, 1H), 7,71 (d, J = 8,5 Гц, 2H), 7,39 (d, J = 8,7 Гц, 1H), 6,95 (d, J = 2,5 Гц, 1H), 6,77 (dd, J = 8,6, 2,6 Гц, 1H), 6,26 (s, 1H), 4,93 (s, 2H), 4,66 (d, J = 9,5 Гц, 2H), 4,32 (d, J = 9,3 Гц, 2H), 3,87 (d, J = 5,8 Гц, 2H), 2,48 – 2,42 (частично скрит DMSO, m, 1H), 1,16 (m, 4H).

Приклад 9: FRET аналіз активності

Визначення опосередкованої лігандом взаємодії кофактору та пептиду для кількісної оцінки зв'язування ліганду з ядерним рецептором FXR проводили у такий спосіб.

Підготовка ліганд-зв'язуючого домену FXR-альфа людини: LBD FXR-альфа людини експресували у штамі BL21(DE3) *E. coli* як гібридний білок, позначений N-кінцевою GST. ДНК, що кодує ліганд-зв'язуючий домен FXR, клонували у вектор pDEST15 (Invitrogen). Експресію контролювали індукованим ІПТГ промотором T7. Амінокислотними границями ліганд-зв'язуючого домену були 187–472 амінокислоти з бази даних NM_005123 (RefSeq). Експресія та очищення FXR-LBD: попередньо культивовану протягом ночі культуру трансформованого штаму *E. coli* розводили у співвідношенні 1:20 у середовищі LB з ампіциліном та вирощували при 30°C до оптичної густини OD₆₀₀ = 0,4–0,6. Потім індукували експресію гену шляхом додавання 0,5 mM ІПТГ. Клітини інкубували протягом додаткових 6 год. при 30°C, 180 об./хвил. Клітини збирали шляхом центрифугування (7000 x g, 7 хвил., 4°C). Клітини повторно ресуспендували у 10 мл буферу для лізису (50 mM глюкози, 50 mM Тріс pH 7,9, 1 mM EDTA та 4 мг/мл лізоциму) на літр вихідної клітинної культури та залишали у льоді на 30 хвил. Потім клітини обробляли ультразвуком та видаляли клітинний дебрис шляхом центрифугування (22000 x g, 30 хвил., 4°C). На 10 мл надосадової рідини додавали 0,5 мл попередньо промитої глутатіон-4В-сефарозної суспензії (Qiagen) та отриману суспензію продовжували повільно обертати протягом 1 год. при 4°C. Глутатіон-4В-сефарозні кульки осаджували шляхом центрифугування (2000 x g, 15 сек, 4°C) та два рази промивали у промивному буфері (25 mM Тріс, 50 mM KCl, 4 mM MgCl₂ та 1 M NaCl). Осад ресуспендували у 3 мл елююючого буферу на літр вихідної культури (елюючий буфер: 20 mM Тріс, 60 mM KCl, 5 mM MgCl₂ та 80 mM глутатіону, доданого у вигляді порошку безпосередньо перед застосуванням). Суспензію залишали обертатися протягом 15 хвил. при 4°C, кульки осаджували та знову елюювали половиною об'єму елююючого буферу у порівнянні з першим разом. Елюати об'єднували та піддавали діалізу протягом ночі у 20 mM буфері Hepes (pH 7,5), що містить 60 mM KCl, 5 mM MgCl₂, а також 1 mM дитіотреїтолу та 10% (об./об.) гліцерину. Білок аналізували шляхом ДНС-ПААГ.

Спосіб дозволяє вимірювати здатність передбачуваних лігандів модулювати взаємодію між очищеним ліганд-зв'язуючим доменом (LBD) FXR, що експресується бактеріями, та синтетичним біотинільованим пептидом на основі залишків 676–700 SRC-1 (LCD2, 676–700). Послідовність застосовуваного пептиду являла собою B-CPSSHSLTERHKILHRLLEQEGSPS-COOH (SEQ ID №: 1), де N-кінець був біотинільованим (B). Ліганд-зв'язуючий домен (LBD) FXR експресували як гібридний білок з GST у клітинах BL-21 з використанням вектору pDEST15. Клітини лізували ультразвуком та гібридні білки очищали за допомогою глутатіон-сефарози (Pharmacia) відповідно до інструкцій виробника. Для визначення впливу сполук на взаємодію FXR та пептиду застосовували технологію Perkin Elmer LANCE. Зазначений спосіб оснований на залежній від зв'язування передачі енергії від донора до акцептора флуорофору, приєднаного до партнера зв'язування, що цікавить. Для простоти обробки та зниження фону від сполук у флуоресцентній технології LANCE застосовують універсальні флуорофорні мітки та детектування з розділенням у часі. Аналізи проводили у кінцевому об'ємі 25 мкл у 384-лунковому планшеті у буфері на основі Тріс (20 mM Тріс-HCl pH 7,5; 60 mM KCl, 5 mM MgCl₂; 35 нг/мкл БСА), що містить 20-60 нг/лунку рекомбінантно експресованого FXR-LBD, злитого з GST, 200-600 нМ N-кінцевого біотинільованого пептиду, що представляє 676-700 амінокислоти SRC1,

200 нг/лунку кон'югату стрептавідин-xIAPC (прозим) та 6-10 нг/лунку Eu W1024 – анти-GST (Perkin Elmer). Вміст ДМСО у зразках підтримували на рівні 1%. Після одержання суміші для аналізу та розведення лігандів, що потенційно модулюють FXR, суміш для аналізу залишали для встановлення рівноваги на 1 год. у темряві при КТ у чорних 384-лункових планшетах для FIA (Greiner). Сигнал LANCE детектували за допомогою багатофункціонального лічильнику Perkin Elmer VICTOR2VTM. Результати візуалізували шляхом побудови графіка відношення світла, що випускається при 665 та 615 нм. Базальний рівень утворення комплексу FXR-пептид спостерігали за відсутності доданого ліганду. Ліганди, які сприяють утворенню комплексу, викликають залежне від концентрації збільшення сигналу флуоресценції з розділенням у часі. Очікують, що сполуки, які однаково добре зв'язуються як з мономерним FXR, так і з комплексом FXR-пептид, не приведуть до зміни сигналу, тоді як ліганди, які зв'язуються переважно з мономерним рецептором, будуть викликати залежне від концентрації зниження спостережуваного сигналу.

Для оцінки агоністичного потенціалу сполук визначали значення EC_{50} для сполук, наведених у прикладах та представлених нижче у таблиці 2 (FRET EC_{50}).

Приклад 10: Аналіз однокібридної системи ссавців (M1H)

Визначення опосередкованої лігандом трансактивації, керованої промотором Gal4, для кількісної оцінки опосередкованої зв'язуванням ліганду активації FXR проводили у такий спосіб.

Частина кДНК, що кодує ліганд-зв'язуючий домен FXR, клонували у вектор pCMV-BD (Stratagene) у вигляді гібриду з ДНК-зв'язуючим доменом дріжджів GAL4 під контролем промотору CMV. Амінокислотними границями ліганд-зв'язуючого домену були 187–472 амінокислоти з бази даних NM_005123 (RefSeq). Плазмиду pFR-Luc (Stratagene) застосовували у якості репортерної плазмиди, що містить синтетичний промотор з п'ятьма тандемними повторами у дріжджових GAL4-зв'язуючих сайтах, що керує експресією гену люциферази *Photinus pyralis* (американський світлячок), у якості репортерного гену. Для підвищення точності експерименту плазмиду pRL-CMV (Promega) котрансфікували. pRL-CMV містить конститутивний CMV протомор, який контролює експресію люциферази *Renilla reniformis*. Усі аналізи Gal4 репортерного гену проводили у клітинах HEK293 (отриманих з DSMZ, Braunschweig, Germany), вирощених у MEM з L-глутаміном та ЗСР Ерла, що доповнюють 10% фетальною бичачою сироваткою, 0,1 мМ замінними амінокислотами, 1 мМ піруватом натрію та 100 одиницями пеніцилін/стрептавідин на мл при 37°C у 5% атмосфері CO₂. Середовище та добавки одержували з Invitrogen. Для аналізу 5 x 10⁵ клітин на лунку висівали у 96-лункові планшети у 100 мкл на лунку MEM без фенолового червоного та L-глутаміну та із ЗСР Ерла, доповненим ФБС (HyClone, South Logan, Utah), що оброблена 10% вугілля/декстран, 0,1 мМ замінними амінокислотами, 2 мМ глутаміном, 1 мМ піруватом натрію та 100 одиницями пеніцилін/стрептавідин на мл, та інкубували при 37°C у 5% атмосфері CO₂. Наступного дня клітини демонстрували >90% злиття. Середовище видаляли та клітини тимчасово трансфікували із застосуванням 20 мкл на лунку OptiMEM – трансфекційного реагенту на основі поліетиленіміну (OptiMEM, Invitrogen; Polyethyleneimine, Aldrich кат. № 40827-7), включаючи три плазмиди, описані вище. MEM з тим же складом, що і для посіву клітин, додавали через 2-4 год. після додавання трансфекційної суміші. Потім додавали маточні розчини сполук, попередньо розведені у MEM (кінцева концентрація носія не перевищувала 0,1%). Клітини інкубували протягом додаткових 16 год. перед послідовним вимірюванням активності люцифераз світлячка та renilla у тому ж клітинному екстракті із застосуванням системи Dual-Light-Luciferase-Assay system (Dyer *et al.*, *Anal. Biochem.* 2000, 282, 158-161). Усі експерименти проводили тричі.

Для оцінки агоністичної активності сполук, наведених у прикладах, у відношенні FXR активність визначали у M1H аналізі, та результати наведені нижче у таблиці 2 (M1H EC_{50}).

Таблиця 2

Приклад	FRET EC ₅₀ (нМ)	M1H EC ₅₀ (нМ)
1	263	3000
2	25	831
3	7,4	3,8
4	35	176
5	18	8,6
6	49	353
7	6,9	1696
8	8,1	1264

Приклад 11: Ідентифікація метаболітів у мікросомах печінки людини

Дослідження метаболічної стабільності прикладу 3 та прикладу порівняння 1 у мікросомах печінки людини проводили у відповідності з наступною процедурою. Мікросоми печінки людини (35 мкл із концентрацією білку 20 мг/мл), 350 мкл 100 мМ калій-фосфатного буферу (pH 7,4), 245 мкл деіонізованої води та 0,7 мкл маткового розчину сполуки (5 мМ) поєднували у 1,5 мл пробірці для мікроцентрифугування. Пробірку герметизували та обережно перемішували на вертексі протягом 10 секунд, а потім поміщали у термоміксер Eppendorf ThermoMixer C та попередньо нагрівали до 37°C зі струшуванням при 1100 об./хвил. протягом 5 хвилин.

При струшуванні додавали розчин НАДФ (70 мкл; 10 мМ розчин у воді), суміш декілька разів аспірували піпеткою та 200 мкл переносили у іншу 1,5 мл пробірку для мікроцентрифугування, яка розташована у льоді та містить 200 мкл холодного ацетонітрилу. Зазначену аліквоту перемішували на вертексі при високій швидкості протягом 10 секунд, а потім поміщали у лід. Через 30 та 60 хвилин відбирали додаткові 200 мкл аліквоти та переносили у інші 1,5 мл пробірки для мікроцентрифугування, які розташовані у льоді та містять 200 мкл холодного ацетонітрилу. Пробірки перемішували на вертексі при високій швидкості протягом 10 секунд, а потім поміщали у лід.

Охолоджені аліквоти центрифугували при 14300 об./хвил. у мікроцентрифузі протягом 10 хвилин при 10°C, а потім надосадову рідину переносили у 96-лунковий планшет із глибокими лунками (1 мл) та герметизували силіконовим матом. Зразок переносили у охолоджувальний відсік автодозатору (температуру встановлювали на 10°C) та 20 мкл вводили у мас-спектрометр Thermo Elite Orbitrap. 20 мкл зразки аналізували шляхом HVERX-МС для ідентифікації та кількісного визначення метаболітів (HVERX із бінарним насосом Agilent 1290 G4220 та колонковим термостатом Agilent G1316 TCC; колонку Waters Acquity UPLC BEH C18 (розмір пор 130 Å, розмір часток 1,7 мкм, 2,1 × 50 мм), що витримується при 40°C; діодна матриця Agilent 1290 G4212 DAD з діапазоном довжин хвиль від 190 до 400 нм; мас-спектрометр Thermo Electron Orbitrap Elite у режимі FTMS з реєстрацією позитивних іонів).

Кінцева концентрація мікросомального білку: 1 мг/мл

Кінцева концентрація НАДФ: 1 мМ

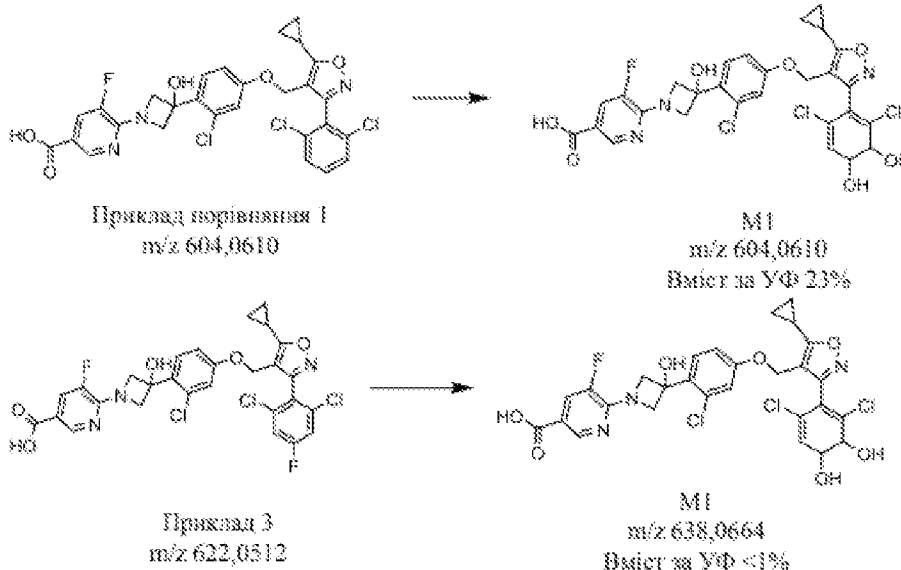
Кінцева концентрація субстрату: 5 мкМ

Контрольні моменти часу: 0, 30, 60 хвилин

Інкубований об'єм у кожен контрольний момент часу: 200 мкл

Було виявлено, що приклад порівняння 1, прямий компаратор прикладу 3, у якому відсутній 4-фторфенільний замісник, що присутній у сполуках, описаних у даному документі, метаболізуються з одержанням діольної сполуки (M1) в умовах, описаних вище (схема 1). Включення 4-фторзамісника інгібує утворення метаболіту M1 у тих же умовах.

Схема 1



Приклад 12: оцінка фармакодинаміки *in vivo* у макак-крабоїдів

Фармакодинаміку *in vivo* типової сполуки формули (I) та сполуки із прикладу порівняння визначали у такий спосіб.

Випробуваний зразок та його одержання

Дози суспензій типової сполуки формули (I) (приклад 3) та прикладу порівняння 2 (приклад 13/9 у патенті США № 9139539) для перорального застосування готували у концентраціях 2, 6, 20 та 60 мг/мл у водних суспензіях 0,5% натрій-карбоксиметилцелюлози (Na-KМЦ), 1% етанолу та 98,5% 50 мМ Тріс-буферу при pH 8.

Тварини

Кожна дозувальна група складалася із трьох самців макак-крабоїдів. При дозуванні тварини мали масу від 2,5 до 4,4 кг.

Дозування

Випробувані зразки вводили мавпам через шлунковий зонд у дозі 5 мл/кг. Перед вилученням шлунковий зонд промивали приблизно 10 мл води.

Відбір зразків

Зразки венозної крові кожної з тварин відбирали у задані контрольні моменти часу після дозування. Зразки крові збирали та переносили у пробірки, що містять антикоагулянт, калієву сіль (K₂) ЕДТА.

Визначення концентрацій FGF19 у плазмі

Для визначення концентрацій FGF19 у зібраних зразках крові застосовували набір для аналізу FGF19 ELISA виробництва BioVendor (номер продукту RD191107200R).

Визначення концентрації лікарського засобу у плазмі

50 мкл аліквоти кожного зі зразків плазми, отриманих у 10 та 30 мг/кг дозувальних групах, та зразки у t = 0, отримані у 100 та 300 мг/кг групах, обробляли 200 мкл ацетонітрилу (АЦН), що містить внутрішній стандарт. 25 мкл аліквоти інших зразків, отриманих у 100 мг/кг групі, поєднували з 25 мкл контрольної плазми для розведення у співвідношенні 1:2 та обробляли 200 мкл ацетонітрилу (АЦН), що містить внутрішній стандарт. 10 мкл аліквоти інших зразків, отриманих у 300 мг/кг групі, поєднували з 40 мкл контрольної плазми для розведення у співвідношенні 1:5 та обробляли 200 мкл ацетонітрилу (АЦН), що містить внутрішній стандарт. Зазначені вище розчини центрифугували при 5000 об./хвил. протягом 10 хвилин та 50 мкл надосадової рідини переносили у чистий 96-лунковий планшет з наступним додаванням 200 мкл води. 10 мкл аліквоти вводили у систему РХ/МС/МС API 5000. Зразки, що перевищують діапазон калібрування приладу, розбавляли та повторно аналізували.

Умови ВЕРХ

Використовували колонку для ВЕРХ Zorbax Extend C18 (50 x 2,1 мм, 3,5 мкм) виробництва Agilent Technologies (продукт № 735700-902). Рухома фаза А містила водний розчин 1% ацетонітрилу у 10 мМ форміаті амонію, доведений до pH 3,0 мурашиною кислотою. Рухома фаза В містила 10% розчин 10 мМ форміату амонію у ацетонітрилі, доведеному до pH 5,2

мурашиною кислотою. Для елюювання та розділення застосовували мультиплексор Thermo Aria із двома ідентичними бінарними насосами Agilent серії 1200 (P/N G1312A Bin Pump). Застосовувана програма елюювання наведена у наступній таблиці 3.

Таблиця 3

Час (сек)	Стадія	Витрата (мл/хвил.)	Рухома фаза А (%)	Рухома фаза В (%)
30	Завантаження зразку	0,50	85	15
180	Поступова зміна складу елюенту	0,50	50	50
90	Поступова зміна складу елюенту	0,50	99	1
60	Елюювання	0,50	99	1
120	Відновлення рівноваги	0,50	85	15

5

Потрійний квадрупольний мас-спектрометр API 5000 виробництва AB Sciex, Foster City, CA, застосовували у режимі моніторингу множинних реакцій для кількісного визначення сполук. Застосовувані параметри мас-спектрометрії наведено у наступній таблиці 4.

Таблиця 4

Джерело іонів	Напруга розпилення (В)	Газ 1 (вироб. од. вим.)	Газ 2 (вироб. од. вим.)	Газ для зіткнень (вироб. од. вим.)	Температура сушильної камери (°C)
Турбоіонорозпилювач	5500	70	50	6	550

10

Результати

Рівні FGF19 порівнювали після перорального введення зростаючих доз прикладу 3 або прикладу порівняння 2 (від 3 до 300 мг/кг). Для обох сполук спостерігали залежний від дози вміст у плазмі та максимальні значення ППК, що досягаються для кожної зі сполук при дозі 300 мг/кг, були порівнянними (фігура 1). Приклад 3 демонстрував залежне від дози збільшення вмісту FGF19 у плазмі, досягаючи C_{max} 16000 пг/мл при найвищій дозі (фігура 2). Введення прикладу порівняння 2 також викликало збільшення вмісту FGF19 у плазмі, але максимальний рівень FGF19 був значно більш низьким (C_{max} 3000 нг/мл) у порівнянні із прикладом 3. Крім того, максимальне індукування FGF19 прикладом порівняння 2 досягали при дозі 5 мг/кг; більш високі дози не забезпечували подальшого збільшення, незважаючи на більш високі вмісти лікарського засобу у плазмі (фігура 2). Зазначений приклад демонструє, що внутрішньовенне або пероральне введення прикладу 3 може забезпечувати більш високі рівні FGF19 у порівнянні із прикладом порівняння 2.

Якщо не зазначене інше, усі технічні та наукові терміни, застосовувані у даному документі, мають те ж значення, яке звичайно мають на увазі фахівці у галузі техніки, до якої належить даний винахід.

Таким чином, зрозуміло, що хоча даний винахід було конкретно представлено кращими варіантами реалізації та необов'язковими відмітними ознаками, фахівці у даній галузі техніки можуть застосовувати модифікацію, поліпшення та зміну варіантів реалізації, описаних у даному документі, та що такі модифікації, поліпшення та зміни включені у обсяг даного винаходу. Матеріали, способи та приклади, представлені у даному документі, представляють кращі варіанти реалізації, наведені як приклад та не обмежують обсяг даного винаходу.

Даний винахід широко та у загальному вигляді було описано у даному документі. Кожен з більш вузьких видів та субродових груп, що входять в узагальнений опис винаходу, також є частиною даного винаходу. Це включає узагальнений опис даного винаходу з умовою або негативним обмеженням, що видаляє будь-який член з роду, незалежно від того, чи був видалений матеріал конкретним чином зазначений у даному документі чи ні.

Крім того, якщо відмітні ознаки або аспекти даного винаходу описані у термінах груп Маркуша, фахівцям у даній галузі техніки зрозуміло, що даний винахід також описаний у термінах будь-якого окремого члену або підгрупи членів групи Маркуша.

Зрозуміло, що хоча даний винахід був описаний у зв'язку зі згаданими вище варіантами реалізації, наведені вище опис та приклади призначені для ілюстрації та не обмежують обсяг даного винаходу. Інші аспекти, переваги та модифікації у межах обсягу даного винаходу очевидні для фахівців у галузі техніки, до якої належить даний винахід.

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

10

<110> Гіліад Сайєнсіз, Інк.

<120> СПОЛУКИ, ЯКІ МОДУЛЮЮТЬ FXR (NR1H4)

15

<130> 1165.PF

<150> 62/349,490

20

<151> 2016-06-13

<160> 1

<170> PatentIn version 3.5

25

<210> 1

<211> 25

<212> PRT

<213> Штучна послідовність

30

<220>

<223> Синтетична

<400> 1

35

Cys Pro Ser Ser His Ser Ser Leu Thr Glu Arg His Lys Ile Leu His
1 5 10 15

Arg Leu Leu Gln Glu Gly Ser Pro Ser
20 25

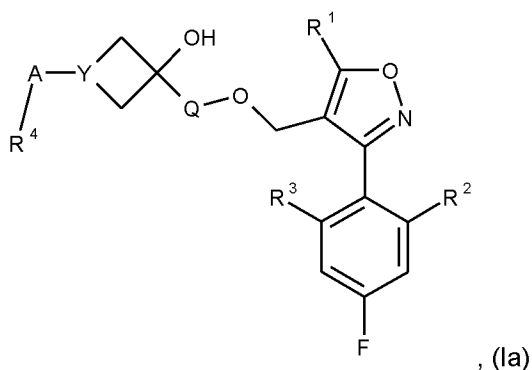
40

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

45

1. Спосіб лікування первинного біліарного цирозу (ПБЦ) або первинного склерозуючого холангіту (ПСХ) у пацієнта, який потребує цього, де спосіб включає введення зазначеному пацієнту сполуки Формули (Ia) або її фармацевтично прийнятної солі, стереоізомера, суміші стереоізомерів або таутомера, де сполука Формули (Ia) являє собою:

50



у якій:

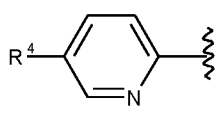
Q являє собою фенілен, заміщений одним атомом хлору;

5 Y являє собою N;

R¹ являє собою циклопропіл або метил;

R² і R³ являють собою атоми хлору;

R⁴-A являє собою:



де піридилен необов'язково заміщений однією або двома групами, незалежно вибраними з галогену, C₁₋₄-алкокси, галоген-C₁₋₄-алкокси, C₁₋₄-алкілу та галоген-C₁₋₄-алкілу, та R⁴ являє собою -CO₂R⁵ або -C(O)NR⁵R⁶;

15 R⁵ являє собою водень; та

R⁶ являє собою C₁₋₂-алкіл, необов'язково заміщений -SO₃H або -CO₂H.

2. Спосіб за п. 1, у якому у сполуці Формули (Ia), A являє собою піридилен, заміщений одним атомом фтору.

3. Спосіб за п. 1, у якому у сполуці Формули (Ia), A являє собою незаміщений піридилен.

20 4. Спосіб за п. 1 або 2, у якому у сполуці Формули (Ia), R⁴ являє собою -CO₂R⁵ та R⁵ являє собою водень.

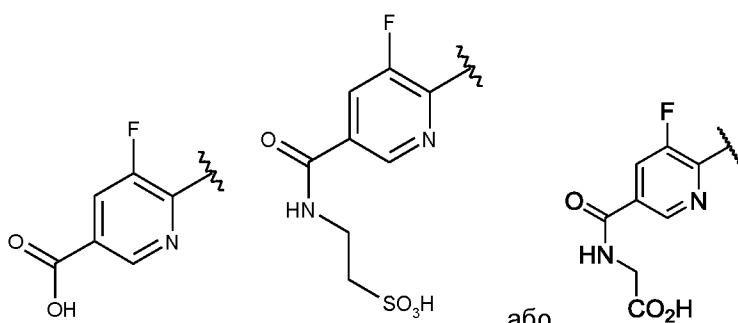
5. Спосіб за п. 1 або 2, у якому у сполуці Формули (Ia):

R⁴ являє собою -C(O)NR⁵R⁶;

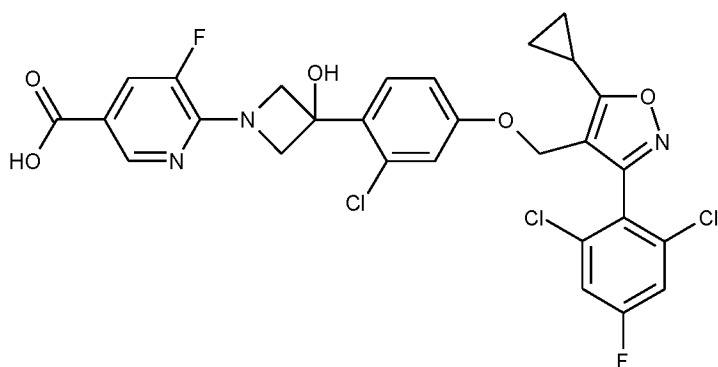
R⁵ являє собою водень; та

25 R⁶ являє собою C₁₋₂-алкіл, де зазначений C₁₋₂-алкіл заміщений -SO₃H або -CO₂H, або її фармацевтично прийнятна сіль, стереоізомер, суміш стереоізомерів або таутомер.

6. Спосіб за п. 1, у якому у сполуці Формули (Ia), R⁴-A являє собою:



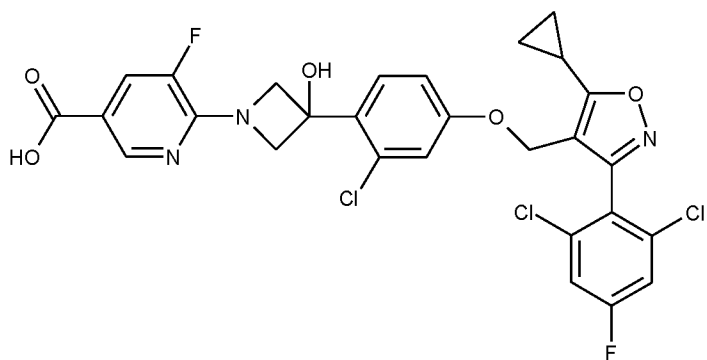
7. Спосіб за п. 1, у якому сполука Формули (Ia) являє собою сполуку формули



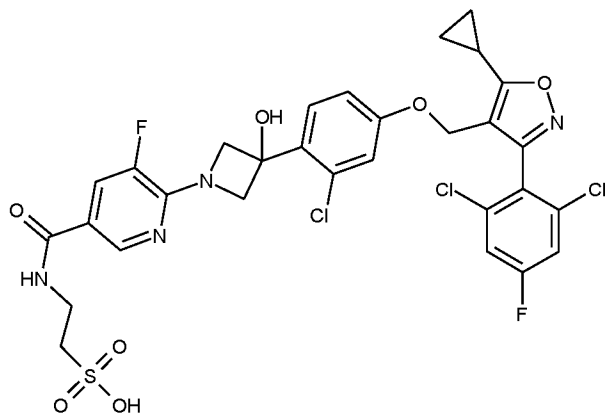
або її фармацевтично прийнятну сіль.

8. Спосіб за п. 1, у якому сполука Формули (Ia) являє собою сполуку формули

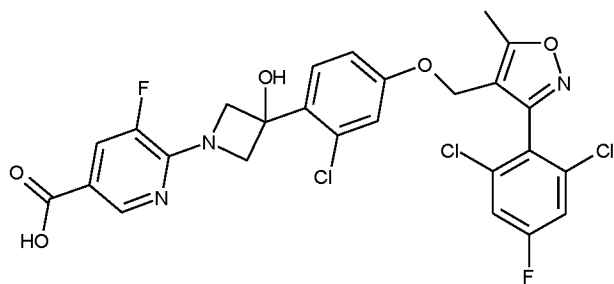
5

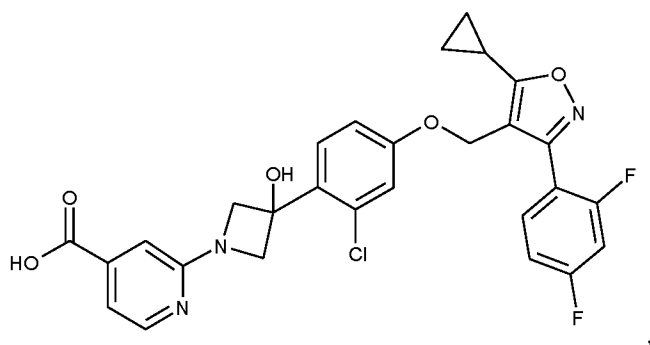
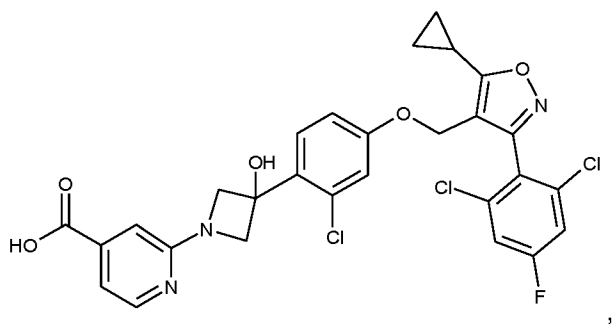
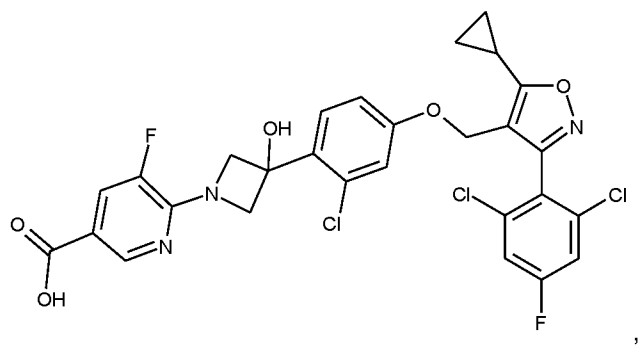
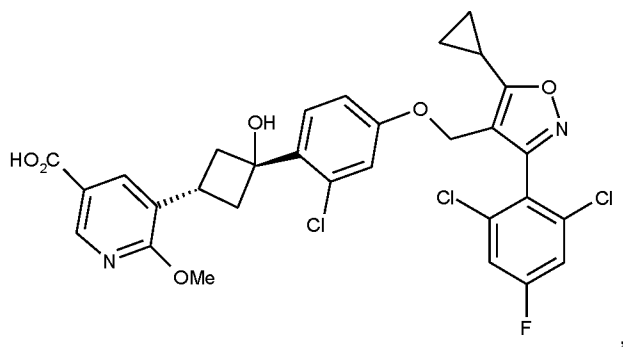


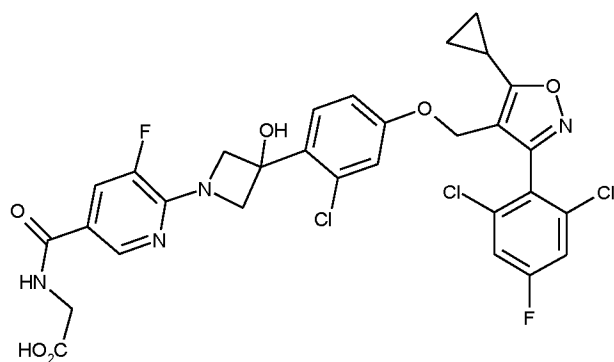
9. Спосіб лікування ПБЦ або ПСХ у пацієнта, який потребує цього, де спосіб включає введення зазначеному пацієнту сполуки, вибраної з групи, яка складається з:



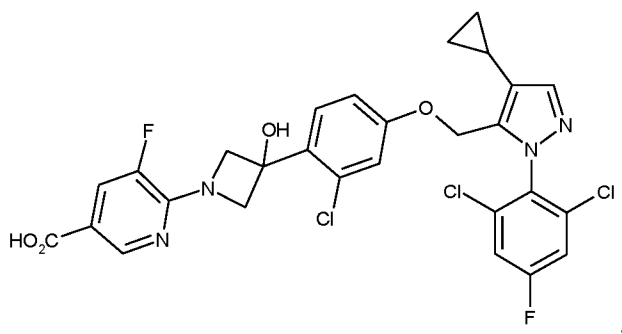
10



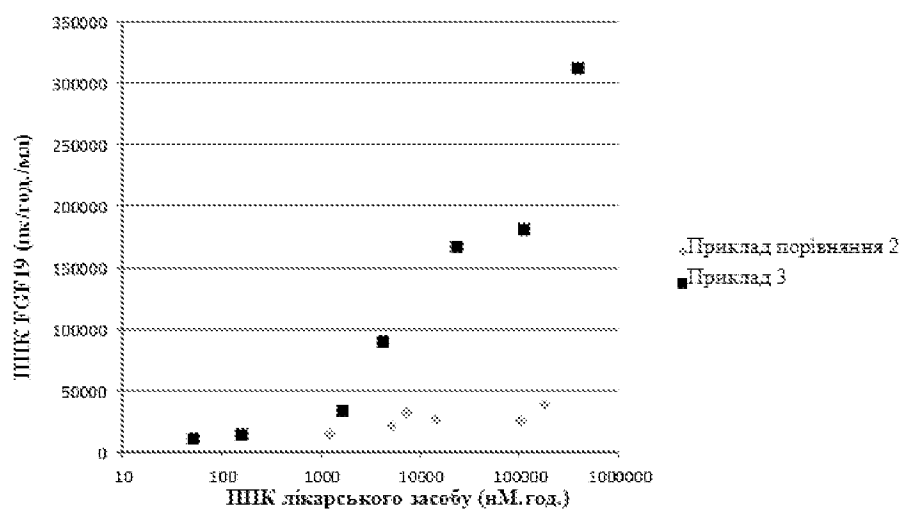




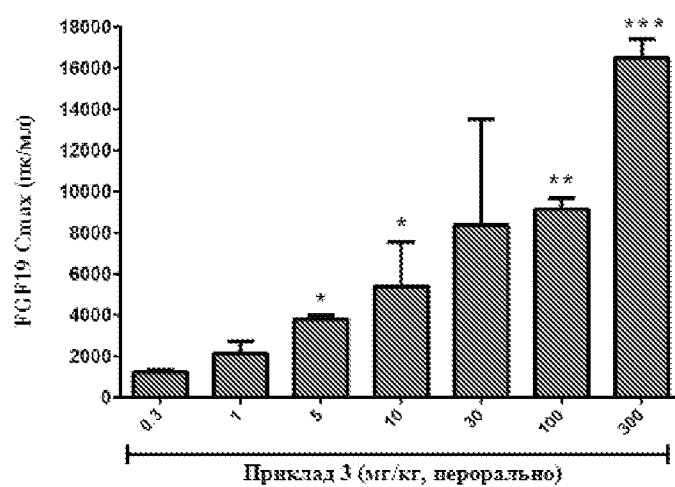
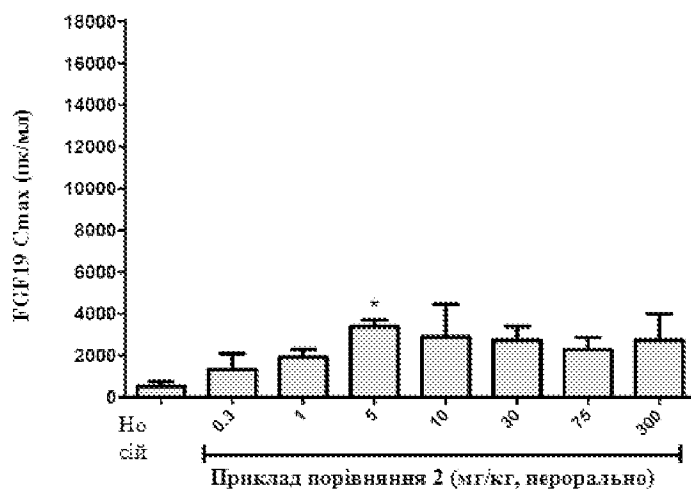
та



або її фармацевтично прийнятної солі, стереоізомера, суміші стереоізомерів або таутомера.



Фіг. 1



* $p < 0,05$ при 1 мг/кг; ** $p < 0,05$ при 5 мг/кг; *** $p < 0,05$ при 100 мг/кг; один випадок з 10 мг/кг групи прикладу 3 через >3 СКО від середнього.

Фіг. 2