

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **019960**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2014.07.30

(21) Номер заявки
201171488

(22) Дата подачи заявки
2010.05.26

(51) Int. Cl. **C07D 233/64** (2006.01)
A61K 31/4164 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)

(54) LXR МОДУЛЯТОРЫ

(31) 61/181,736

(32) 2009.05.28

(33) US

(43) 2012.07.30

(86) PCT/US2010/036211

(87) WO 2010/138598 2010.12.02

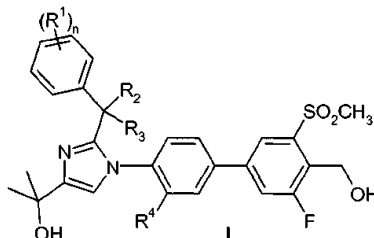
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЭКСЕЛИКСИС ПАТЕНТ КОМПАНИ
ЭлЭлСи; БРИСТОЛЬ-МЕЙЕРЗ
СКВИББ КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:
Буш Бретт Б., Стивенс Уилльям
К., мл., Кик Эллен К., Чжан Хайин,
Боллу Венкатаях, Мартин Ричард,
Мохан Раджу (US)

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

(56) WO-A1-2007002563
WO-A1-2008073825

(57) Представлены соединения формулы I, где R^1 - R^4 и n имеют значения, определенные в формуле изобретения, и их фармацевтически приемлемые соли, которые полезны в качестве модуляторов активности X рецепторов (LXR) печени. Также предоставлены фармацевтические композиции, содержащие соединения и способы использования соединений.



B1

019960

019960

B1

Область изобретения

Данное изобретение относится к соединениям, которые модулируют активность X рецепторов печени (LXR_s). Изобретение также предоставляет фармацевтические композиции, включающие соединения изобретения и способы использования данных композиций для модулирования активности X рецептора печени. В частности, предоставляются изомеры и производные имидазола для модулирования активности LXR_s.

Ядерные рецепторы

Ядерные рецепторы являются суперсемейством регуляторных белков, которые являются структурно и функционально родственными, и являются рецепторами, например, для стероидов, ретиноидов, витамина D и тиреоидных гормонов (см., например, Evans (1988) *Science* 240:889-895). Данные белки связываются с цис-действующими элементами в промоторах их генов мишени и модулируют экспрессию генов в ответ на лиганды для рецепторов.

Ядерные рецепторы можно классифицировать на основе их ДНК связывающих свойств (см., например, Evans, *supra* and Glass (1994) *Endocr. Rev.* 15:391-407). Например, один класс ядерных рецепторов включает в себя рецепторы глюкокортикоида, эстрогена, андрогена, прогестина и минералокортикоида, которые связываются как гомодимеры с гормональными ответными элементами (HREs), организуемыми в виде инвертированных повторений (см., например, Glass, *supra*). Второй класс рецепторов, включающих в себя рецепторы, активируемые ретиноевой кислотой, тиреоидным гормоном, витамином D₃, пролифераторами жирных кислот/пероксисома (т.е. рецепторами, активируемыми пролифератором пероксисома или PPARs) и экдисоном, связывается с HREs в виде гетеродимеров с общим партнером ретиноидными X рецепторами (т.е. RXRs, известные также как рецепторы 9-цис-ретиноевой кислоты; см., например, Levin et al. (1992) *Nature* 355:359-361 и Heyman et al. (1992) *Cell* 68:397-406).

RXRs являются уникальными среди ядерных рецепторов в том отношении, что они связывают ДНК в виде гомодимера и требуются в качестве гетеродимерного партнера для ряда дополнительных ядерных рецепторов для связи ДНК (см., например, Mangelsdorf et al. (1995) *Cell*. 83:841-850). Последние рецепторы, называемые подсемейством ядерных рецепторов класса II, включают в себя многие, которые установлены или вовлечены в качестве важных регуляторов генной экспрессии.

Имеется три RXR гена (см., например, Mangelsdorf et al. (1992) *Genes Dev.* 6:329-344), кодирующих RXR α , β и γ , все из которых способны гетеродимеризоваться с любым из рецепторов класса II, хотя явствует, что они отдают предпочтения отдельным RXR подтипам, как соучаствующие рецепторы *in vivo* (см., например, Chiba et al. (1997) *Mol. Cell. Biol.* 17:3013-3020). В печени взрослых RXR α является наиболее обильным из трех RXRs (см., например, Mangelsdorf et al. (1992) *Genes Dev.* 6:329-344), что предполагает, что возможно он играет выдающуюся роль в функциях печени, которые затрагивают регуляцию ядерными рецепторами класса II. См. также Wan et al. (2000) *Mol. Cell. Biol.* 20:4436-4444.

LXR α и LXR β .

LXR α находится преимущественно в печени, на более низких уровнях находится в почках, кишечнике, селезенке и адренальной ткани (см., например, Willey et al. (1995) *Gene Dev.* 9(9):1033-1045). LXR β является повсеместным у млекопитающих и был найден почти во всех исследованных тканях. LXR_s активируются некоторыми встречающимися в природе окисленными производными холестерина (см., например, Lehmann et al. (1997) *J. Biol. Chem.* 272(6):3137-3140). LXR α активируется оксихолестерином и способствует метаболизму холестерина (Peet et al. (1998) *Cell*. 93:693-704). Таким образом, LXR_s, по-видимому, играет роль, например, в метаболизме холестерина (см., например, Janowski et al. (1996) *Nature* 383:728-731).

Ядерный рецептор LXR играет решающую роль в координации контроля желчной кислоты, холестерина и метаболизма триглицеридов для поддержания гомеостаза липидов. LXR_s и желчная кислота/окистерол-регулируемые гены являются потенциальными мишенями для разработки лекарственных методов терапии для понижения холестерина в сыворотке и лечения сердечно-сосудистых заболеваний и заболеваний печени. Соединения с активностью при LXR могут оказывать полное влияние на гомеостаз липидов и могут более эффективно лечить болезнь или расстройства, при которых вовлечен LXR. Это достигается через регулирование множественных генов, вовлекаемых в гомеостаз холестерина, включая Cyp7a1, член цитохром p450 семейства ферментов, и стадию ограничения скорости в синтезе желчной кислоты, так же как и ABC мембранные транспортеры ABCA1, ABCG1, ABCG5 и ABCG8. ABCA1 является решающим в утечке холестерина и фосфолипидов для липид-обедненных липопротеинов, таких как ApoA-I, способствуя, таким образом, увеличению уровней HDL в плазме. В дополнение ABCG5 и ABCG8, по-видимому, опосредуют пониженную кишечную абсорбцию холестерина и облегчают истечение холестерина из клеток печени в желчь. К сожалению, в дополнение к антиатерогенному действию LXR агонистов исследования на культуре клеток и системах моделей животных продемонстрировали, что LXR агонисты увеличивают уровни триглицерида в плазме и липогенез печени и способствуют повышенному продуцированию VLDL липопротеиновых частиц. Schultz et al. *Genes & Development* 14:2831-2838 (2000); Repa et al. *Genes & Development* 14:2811-2830 (2000). Стратегии минимизации нежелательных липидных действий включают в себя идентификацию LXR β селективных соединений, ко-

которые являются также частичными агонистами. Частичные агонисты могут проявлять тканеспецифическое активирование или репрессию ядерных рецепторов, как было продемонстрировано для антиэстрогенного тамоксифена, который функционирует как антагонист эстрогенной сигнализации в ткани груди и агонист в матке. Характеристика LXR изоформа-специфических нехарактерных мышей указывает, что LXR $_{\alpha}$ является преимущественным медиатором активности LXR в печени. В макрофагах, однако, LXR $_{\beta}$ один является достаточным для опосредования действий LXR лигандов на экспрессию генов мишени. Следовательно, соединения с ограниченной LXR $_{\alpha}$ активностью должны обладать антиатерогенной активностью с ограничением при этом нежелательных печеночных эффектов.

Краткое содержание изобретения

Таким образом, было признано, что существует потребность в соединениях, композициях и способах модулирования активности LXR ядерных рецепторов таким образом, чтобы отделить нежелательные действия на метаболизм холестерина и атерогенез от увеличенных уровней триглицерида в плазме и увеличения печеночного липогенеза. Хотя избыточные агонисты LXR вызывают и желательные, и нежелательные действия, настоящее изобретение описывает соединения, которые обнаруживают благоприятное разделение между двумя данными действиями, и, таким образом, имеют улучшенный терапевтический индекс между увеличенным обратным транспортом холестерина и вредными действиями на триглицериды в плазме и LDL-холестерин.

В одном аспекте настоящее изобретение включает соединения или их индивидуальные изомеры или смесь изомеров, изотопы и фармацевтически приемлемые соли, которые являются полезными в качестве модуляторов активности X рецепторов печени (LXRs).

Предоставляются соединения для использования в композициях и способах для модулирования активности ядерных рецепторов. В частности, предоставляются соединения изобретения, которые полезны для модулирования X рецепторов печени, LXR $_{\alpha}$ и LXR $_{\beta}$, и особенно LXR $_{\beta}$.

В одном аспекте предоставляемые изобретением соединения являются агонистами LXR. Согласно еще одному аспекту предоставляемые здесь соединения являются антагонистами LXR. Агонисты, которые проявляют низкую эффективность, в некоторых аспектах являются антагонистами.

Еще один аспект данного изобретения направлен на способы лечения, ингибирования или смягчения симптомов заболевания или расстройства, которое модулируется или на которое иным образом влияет активность LXR, предусматривающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения настоящего изобретения или его отдельного изомера или смеси изомеров, или его фармацевтически приемлемой соли.

Еще один аспект данного изобретения направлен на способы модулирования метаболизма холестерина у нуждающегося в этом субъекта, предусматривающие введение эффективного модулирующего метаболизм холестерина количества соединения настоящего изобретения или его индивидуального изомера или смеси изомеров или фармацевтически приемлемой соли.

Еще один аспект данного изобретения направлен на способы профилактики или лечения атеросклероза у нуждающегося в этом субъекта, предусматривающие введение эффективного понижающего уровень холестерина количества соединения настоящего изобретения или его индивидуального изомера или смеси изомеров или фармацевтически приемлемой соли.

Еще один аспект данного изобретения направлен на способы модулирования активности LXR у нуждающегося в этом субъекта, предусматривающие контактирование ядерного рецептора с соединением настоящего изобретения или его индивидуальным изомером или смесью изомеров или фармацевтически приемлемой солью.

Еще один аспект данного изобретения направлен на способы лечения, ингибирования или смягчения одного или более симптомов гипохолестеринемии у нуждающегося в этом субъекта, предусматривающие введение терапевтически эффективного количества соединения настоящего изобретения или его индивидуального изомера или смеси изомеров, или фармацевтически приемлемой соли.

Еще один аспект данного изобретения направлен на способы увеличения истечения холестерина из клеток нуждающегося в этом субъекта, предусматривающие введение эффективного увеличивающего истечение холестерина количества соединения настоящего изобретения или его индивидуального изомера или смеси изомеров, или фармацевтически приемлемой соли.

Еще один аспект данного изобретения направлен на способы увеличения экспрессии АТР-связывающего Cassette A (ABCA1) и АТР-связывающего Cassette G1 (ABCG1) в клетках субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение эффективного увеличивающего экспрессию количества ABCA1 и ABCG1 соединения настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемой соли.

Еще один аспект данного изобретения направлен на способы лечения, ингибирования или смягчения одного или более симптомов заболевания или расстройства, на которое влияют уровни холестерина или желчной кислоты, предусматривающие введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества соединения настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемой соли.

Еще один аспект данного изобретения направлен на фармацевтические композиции, включающие

соединение настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемую соль и по крайней мере один фармацевтически приемлемый носитель или наполнитель (или эксципиент).

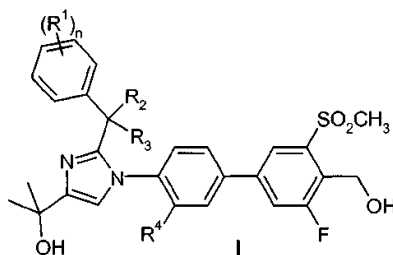
Еще один аспект данного изобретения направлен на регулирование обратного транспорта холестерина и воспалительных сигнальных путей, которые вовлечены в патологию заболевания человека, включая атеросклероз и ассоциированные заболевания, такие как инфаркт миокарда и ишемический удар или тромбоз, у нуждающегося в этом субъекта, предусматривающее введение эффективного регулирующего обратный транспорт холестерина количества и воспалительных сигнальных путей количества соединения настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемой соли.

Еще один аспект данного изобретения направлен на лечение метаболического синдрома, который включает ряд расстройств метаболизма организма, включая ожирение, гипертензию, стойкость к инсулину и диабет, включая лечение заболеваний, являющихся результатом подвергнутого риска метаболизма и невосприимчивости, включая атеросклероз и диабет, а также аутоиммунные расстройства и заболевания, у нуждающегося в этом субъекта, предусматривающее введение терапевтически эффективного количества соединения настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемой соли.

Еще один аспект данного изобретения направлен на лечение атеросклероза, стойкости к инсулину, остеоартрита, инсульта, гипергликемии, дислипидемии, псориаза, возрастного и зависящего от УФ повреждения появления кожных морщин, диабета, рака, болезни Альцгеймера, воспаления, иммунологических расстройств, липидных расстройств, ожирения, макулярной дегенерации, состояний, характеризующихся нарушенной функцией эпидермального барьера, состояниями нарушений дифференциации или избыточной пролиферации эпидермиса или слизистой мембраны или сердечно-сосудистых расстройств у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающее введение терапевтически эффективного количества соединения настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемой соли.

Подробное описание изобретения

Согласно одному аспекту настоящее изобретение предлагает соединение формулы I



или его фармацевтически приемлемую соль, где

R^1 представляет собой хлор, фтор, метил или трифторметил;

R^2 представляет собой H или метил;

R^3 представляет собой H или метил;

R^4 представляет собой H, хлор, фтор или метил и

n представляет 1 или 2.

В некоторых воплощениях соединение формулы I является соединением, в котором R^2 и R^3 представляют метил.

В некоторых воплощениях соединение формулы I является соединением, в котором R^1 представляет собой хлор или фтор. В некоторых таких воплощениях R^2 и R^3 представляют метил.

В некоторых воплощениях соединение формулы I является соединением, в котором R^4 представляет собой фтор. В некоторых таких воплощениях R^1 представляет собой хлор или фтор и R^2 и R^3 представляют метил.

В некоторых воплощениях соединение формулы I является соединением, в котором R^2 и R^3 представляют H. В некоторых таких воплощениях R^1 представляет собой хлор или фтор.

В некоторых воплощениях соединение формулы I является соединением, в котором R^2 представляет метил и R^3 представляет H. В некоторых таких воплощениях n представляет 2, R^1 представляет хлор и R^4 представляет фтор.

Согласно еще одному аспекту изобретение предлагает соединение формулы I в соответствии с любым из предыдущих воплощений вместе с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями, наполнителями или разбавителями.

Согласно еще одному аспекту настоящее изобретение предлагает способ лечения заболевания или расстройства, предусматривающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества (a) соединения структурной формулы I в соответствии с любым из предыдущих воплощений или (b) фармацевтической композиции, включающей соединение структурной формулы I в соответствии с любым из предыдущих воплощений вместе с одним или более фармацевтически приемлемым носителем, наполнителем или разбавителем, в котором заболеванием или расстройством является атеросклероз, гиперхолестеринемия, гиперлипотеинемия, гипертриглицеридемия, липодистрофия, гипергликемия, сахарный диабет, дислипидемия, атеросклероз, желчная болезнь, угри обыкновенные,

состояния угреподобной кожи, диабет, болезнь Паркинсона, рак, болезнь Альцгеймера, воспаление, иммунологические расстройства, липидные расстройства, ожирение или тучность, состояния, характеризующие нарушенной функцией эпидермального барьера, состояния нарушенной дифференциации или избыточной пролиферации эпидермиса или слизистой мембраны, или сердечно-сосудистые расстройства.

В некоторых воплощениях заболеванием или расстройством, поддаваемым лечению, является гиперхолестеринемия, гиперлиппротеинемия, гипертриглицеридемия, липодистрофия, гипергликемия, атеросклероз, сахарный диабет или дислипидемия.

В другом воплощении настоящее изобретение включает соединение, его изотопную форму или фармацевтически приемлемую соль, выбранное из

№	Название
1	2-(1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-(2-фторфенил) пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
2	2-(2-(2-(2-хлор-6-фторфенил) пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-3-метил-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
3	2-(1-(3-хлор-3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил) пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
4	2-(2-(2-(2-хлор-3-фторфенил) пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
5	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил) пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
6	2-(2-(2-(2-хлорфенил) пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-гидроксиметил-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;

7	2-(2-(2-(2-хлор-6-фторфенил) пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
8	2-(1-(3,3'-Дифтор-4'-гидроксиметил-5'-метансульфонил-бифенил-4-ил)-2-[2-(2-фторфенил) пропан-2-ил]-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
9	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил) пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
10	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил) пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) [$^{13}\text{CD}_3$] ₂ пропан-2-ол;
11	2-(2-(2-(2,4-дихлорбензил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
12	2-(1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-(трифторметил) бензил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
13	2-(1-(3-хлор-3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-хлор-4-фторбензил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
14	2-(2-(2-хлор-4-фторбензил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
15	2-(2-(2-(2,4-дихлорбензил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
16	2-(1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-фторбензил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
17	2-(1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-метилбензил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
18	2-(2-(2,6-дихлорбензил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
19	2-[2-(2-хлор-5-фторбензил)-1-(3'-фтор-4'-гидроксиметил-5'-метансульфонил бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил] пропан-2-ол;
20	2-[2-(2-хлорбензил)-1-(3,3'-дифтор-4'-гидроксиметил-5'-метансульфонил бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил] пропан-2-ол; или
21	2-(2-[1-(2,6-дихлорфенил) этил]-1-[3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил]-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол.

В другом воплощении, настоящее изобретение включает соединение, его изотопную форму или фармацевтически приемлемую соль, выбранное из

№	Название
1	2-(1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-(2-фторфенил) пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
2	2-(2-(2-(2-хлор-6-фторфенил) пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-3-метил-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
3	2-(1-(3-хлор-3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил) пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
4	2-(2-(2-(2-хлор-3-фторфенил) пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
5	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил) пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
6	2-(2-(2-(2-хлорфенил) пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-гидроксиметил-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
7	2-(2-(2-(2-хлор-6-фторфенил) пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
8	2-(1-(3,3'-дифтор-4'-гидроксиметил-5'-(метансульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-(2-фторфенил) пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол; или
9	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил) пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
21	2-(2-[1-(2,6-дихлорфенил) этил]-1-[3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил]-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол.

В другом воплощении, настоящее изобретение включает соединение, его изотопную форму или фармацевтически приемлемую соль, выбранное из

№	Название
11	2-(2-(2,4-дихлорбензил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
12	2-(1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-(трифторметил)бензил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
13	2-(1-(3-хлор-3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-хлор-4-фторбензил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
14	2-(2-(2-хлор-4-фторбензил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
15	2-(2-(2,4-дихлорбензил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
16	2-(1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-фторбензил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
17	2-(1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-метилбензил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
18	2-(2-(2,6-дихлорбензил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
19	2-[2-(2-хлор-5-фторбензил)-1-(3'-фтор-4'-гидроксиметил-5'-метансульфонилбифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил]пропан-2-ол; или
20	2-[2-(2-хлорбензил)-1-(3,3'-дифтор-4'-гидроксиметил-5'-метансульфонилбифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил]пропан-2-ол.

В другом воплощении настоящее изобретение включает соединение, его изотопную форму или фармацевтически приемлемую соль, выбранное из

№	Название
3	2-(1-(3-хлор-3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
4	2-(2-(2-(2-хлор-3-фторфенил)пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
5	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
9	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол; или
21	2-{2-[1-(2,6-дихлорфенил)этил]-1-[3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил]-1Н-имидазол-4-ил}пропан-2-ол.

В другом воплощении настоящее изобретение включает соединение, его изотопную форму или фармацевтически приемлемую соль, которое представляет собой 2-(1-(3-хлор-3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол.

В другом воплощении настоящее изобретение включает соединение, его изотопную форму или фармацевтически приемлемую соль, которое представляет собой 2-(2-(2-(2-хлор-3-фторфенил)пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол.

В другом воплощении настоящее изобретение включает соединение, его изотопную форму или фармацевтически приемлемую соль, которое представляет собой 2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол.

В другом воплощении настоящее изобретение включает соединение, его изотопную форму или фармацевтически приемлемую соль, которое представляет собой 2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол.

В другом воплощении настоящее изобретение включает соединение, его изотопную форму или фармацевтически приемлемую соль, которое представляет собой 2-{2-[1-(2,6-дихлорфенил)этил]-1-[3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил]-1Н-имидазол-4-ил}пропан-2-ол.

Разнообразные соединения, описываемые в изобретении, или их фармацевтически приемлемые соли могут содержать один или более асимметрический центр и могут, таким образом, давать изомеры, такие как энантиомеры, диастереомеры и другие стереоизомерные формы. Такие формы могут определяться терминами абсолютной стереохимии как (R)- или (S)- или как (D)- или (L)-для аминокислот. Предполагается, что настоящее изобретение охватывает все такие возможные индивидуальные стереоизомеры и их смеси, включая их рацемические и оптически чистые энантиомерные или диастереомерные формы. Соединения обычно получают в виде рацематов и могут удобно использоваться как таковые, или могут получаться оптически активные (+) и (-), (R) - и (S)- или (D)- и (L)-изомеры или соответствующие диастереомеры с использованием хиральных синтонов или хиральных реагентов, или могут выделяться из рацемических смесей с использованием общепринятых приемов, таких как хиральная хроматография или HPLC с обращенной фазой. Когда описываемые здесь соединения содержат олефиновые двойные связи или другие центры геометрической асимметрии и если не указано иное, имеется в виду, что соединения включают как E, так и Z геометрические изомеры.

Изобретение охватывает также изотопно-меченые соединения изобретения, в которых один или более атомов замещены атомом, имеющим то же атомное число, но атомная масса или массовое число отличается от атомной массы или массового числа, обычно находимых в природе. Примеры изотопов, подходящих для включения в соединения изобретения, включают в себя изотопы водорода, такие как ^2H или D и ^3H или T, углерода, такие как ^{11}C , ^{13}C и ^{14}C , хлора, такие как ^{36}Cl , фтора, такие как ^{18}F , йода, такие как ^{123}I и ^{125}I , азота, такие как ^{13}N и ^{15}N , кислорода, такие как ^{15}O , ^{17}O и ^{18}O , фосфора, такие как ^{32}P , и серы, такие как ^{35}S . Некоторые изотопно-меченые соединения изобретения, например соединения, включающие радиоактивный изотоп, используются в исследованиях распределения в лекарстве и/или ткани субстрата. Особенно полезными для данной цели являются радиоактивные изотопы трития, ^3H , и углерода-

^{14}C , ввиду их легкости включения и быстрых средств детекции. Замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий, ^2H или D , может давать некоторые терапевтические преимущества, являющиеся результатом большей метаболической стабильности, например увеличения периода полураспада *in vivo* или требований пониженной дозировки, и поэтому могут быть предпочтительными в некоторых обстоятельствах. Замещение позитрон-испускающими или излучающими изотопами, такими как ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O и ^{13}N , может быть полезным в исследованиях топографии позитрон излучения (PET) для проверки занятия рецептора субстрата.

Изотопно-меченые соединения изобретения могут обычно получаться с помощью общепринятых технологических приемов, известных специалистам в данной области, или с помощью процессов, аналогичных описанным здесь, с использованием соответствующего изотопно-меченого реагента вместо применяемого в иных случаях немеченого реагента.

Определения

Следующие термины и выражения, используемые здесь, имеют указанные значения.

"Ядерный рецептор" относится к рецептору, который активирует или подавляет транскрипцию одного или более генов в ядре (но может также иметь еще один переносчик, сигнализирующий действия), обычно в сочетании с другими факторами транскрипции. Ядерный рецептор активируется природным узнаваемым лигандом для рецептора. Ядерные рецепторы обычно скорее находятся в цитоплазме или ядре, чем являются связанными с мембраной. Ядерный рецептор является членом суперсемейства регуляторных белков, которые являются рецепторами для различных эндогенных мелких молекул, например стероидов, ретиноидов, витамина D и тиреоидных гормонов. Данные белки связываются с цис-действующими элементами в промоторах их генов мишени и модулируют экспрессию генов в ответ на лиганд. Ядерные рецепторы могут классифицироваться на основе их ДНК связывающих свойств. Например, рецепторы глюкокортикоида, эстрогена, андрогена, прогестина и минералокортикоида связываются в виде гомодимеров с ответными элементами гормонов (HREs), организуемых в виде обращенных повторов. Еще одним примером являются рецепторы, включающие в себя рецепторы, активируемые ретиноевой кислотой, тиреоидным гормоном, витамином D₃, жирнокислотными/пероксисомными пролифераторами и экдизоном, которые связываются с HREs в виде гетеродимеров с обычным партнером, ретиноидным X рецептором (RXR). Среди последних рецепторов находится LXR.

"Печеночный X рецептор" или "LXR" относится к ядерному рецептору, вовлекаемому в биосинтез холестерина. Используемый здесь термин LXR относится как к LXR_α, так и к LXR_β, двум формам белка, найденным у млекопитающих. Печеночный X рецептор-α или LXR_α относится к рецептору, описанному в патентах США №№ 5571696, 5696233 и 5710004 и в работе Willey et al. (1995) *Gene Dev.* 9(9):1033-1045. Печеночный X рецептор-β или LXR_β относится к рецептору, описанному в публикациях Peet et al. (1998) *Curr. Opin. Genet. Dev.* 8(5):571-575; Song et al. (1995) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 761:38-49; Alberti et al. (2000) *Gene* 243(1-2):93-103 и цитируемых в них ссылочных источниках и в патентах США 5571696, 5696233 и 5710004.

"Фармацевтически приемлемые" относится к тем соединениям, материалам, композициям и/или дозировочным формам, которые являются, в пределах здравого медицинского суждения, подходящими для контакта с тканями людей и животных без избыточной токсичности, раздражения, аллергической ответной реакции или других проблем или осложнений с соразмерным соотношением выгода/риск или которые в иных отношениях одобрены администрацией Food and Drug Соединенных Штатов как приемлемые для использования у людей или домашних животных.

"Фармацевтически приемлемая соль" относится к аддитивным солям как кислот, так и оснований.

"Фармацевтически приемлемая аддитивная соль кислоты" относится к солям, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства свободных оснований, которые не являются биологически или в иных отношениях нежелательными и которые образуются с неорганическими кислотами, такими как соляная, бромистоводородная, серная, азотная, фосфорная кислота и аналогичные, и с органическими кислотами, такими как уксусная, трифторуксусная, пропионовая, гликолевая, пировиноградная, щавелевая, малеиновая, малоновая, янтарная, фумаровая, винная, лимонная, бензойная, коричная, миндальная, метансульфоновая, этансульфоновая, п-толуолсульфоновая, салициловая кислоты и аналогичные.

"Аддитивная соль основания" относится к солям, которые сохраняют биологическую эффективность и свойства свободных кислот, которые не являются биологически или в иных отношениях нежелательными. Данные соли получают в результате добавления неорганического или органического основания к свободной кислоте. Соли, получаемые из неорганических оснований, включают в себя, но не ограничиваются ими, соли натрия, калия, лития, аммония, кальция, магния, железа, цинка, меди, марганца, алюминия и аналогичные. Предпочтительными неорганическими солями являются соли аммония, натрия, калия, кальция и магния. Соли, происходящие из органических оснований, включают в себя, но не ограничиваются ими, соли первичных, вторичных и третичных аминов, замещенных аминов, включая встречающиеся в природе замещенные амины, циклические амины и основные ионообменные смолы, такие как изопропиламин, триметиламин, диэтиламин, триэтиламин, трипропиламин, этаноламин, 2-диметиламиноэтанол, 2-диэтиламиноэтанол, дициклогексиламин, лизин, аргинин, гистидин, кофеин,

прокаин, гидрабамин, холин, бетаин, этилендиамин, глюкозамин, метилглюкамин, теобромин, пурины, пиперазин, пиперидин, N-этилпиперидин, полиаминовые смолы и аналогичные. Особенно предпочтительными органическими основаниями являются изопропиламин, диэтиламин, этаноламин, триметиламин, дициклогексиламин, холин и кофеин.

"Терапевтически эффективное количество" относится к такому количеству соединения, которое при введении субъекту является достаточным для осуществления лечения заболевания или расстройства, описываемого здесь. Количество соединения, которое составляет "терапевтически эффективное количество", меняется в зависимости от соединения, расстройства и его тяжести, и от возраста подвергаемого лечению субъекта, но может быть определено обычным образом специалистом в данной области.

"Модулирование" или "модулировать" относится к лечению, профилактике, подавлению, усилению или индуцированию функции, состояния или расстройства. Например, считается, что соединения настоящего изобретения могут модулировать атеросклероз путем стимулирования удаления холестерина из участков атеросклеротических повреждений человека.

"Лечение", используемое здесь, охватывает лечение описанного здесь заболевания или расстройства у субъекта, предпочтительно человека, и включает в себя:

- i) ингибирование заболевания или расстройства, т.е. остановку его развития; или
- ii) смягчение заболевания или расстройства, т.е. вызывание регрессии расстройства.

"Субъект" относится к теплокровному животному, такому как млекопитающее, предпочтительно человек или ребенок человека, который страдает или потенциально может страдать от одного или более описываемых здесь заболеваний или расстройств.

"Атеросклероз" относится к процессу, при котором во внутреннем содержимом стенки артерии образуются атеросклеротические бляшки, ведущие к атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеваниям. Атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания могут распознаваться и пониматься врачами, практикующими в соответствующих областях медицины, и включают без ограничений рестеноз, коронарную болезнь сердца (известную также как болезнь коронарных артерий или ишемическая болезнь сердца), цереброваскулярную болезнь, включая ишемический тромбоз, полиинфарктную деменцию и болезнь периферических сосудов, включая перемежающуюся хромоту, и эректильную дисфункцию.

"Дислипидемия" относится к аномальным уровням липопротеинов в плазме крови, включая и пониженные и/или повышенные уровни липопротеинов (например, повышенные уровни липопротеина низкой плотности (LDL), липопротеина очень низкой плотности (VLDL) и пониженные уровни липопротеина высокой плотности (HDL).

"EC₅₀" относится к дозе, концентрации или количеству конкретного испытуемого соединения, которое вызывает зависимую от дозы ответную реакцию с 50% максимальным подавлением конкретной ответной реакции, которая индуцируется, провоцируется или потенцируется конкретным испытуемым соединением.

"Холестерин" относится к стероидному спирту, который является неотъемлемым компонентом клеточных мембран и миелиновых оболочек и в используемом здесь смысле включает его общее использование. Холестерин служит также как предшественник стероидных гормонов и желчных кислот.

"Триглицерид(ы)" или "TGs" относятся к трем молекулам жирной кислоты, сложноэтерифицированным в молекулу глицерина, и служат для хранения жирных кислот, которые используются мышечными клетками для продуцирования энергии или принимаются и хранятся в адипозной ткани.

"IC₅₀" относится к количеству, концентрации или дозировке конкретного испытуемого соединения, которая достигает 50% ингибирования максимальной ответной реакции, такой как модулирование ядерного рецептора, включая активность LXR_α или LXR_β, в анализе, в котором измеряется такая ответная реакция.

"LXR" или "LXRs" относится как к LXR_α, так и к LXR_β.

"LXR_α" (LXR альфа) относится ко всем формам такого рецептора млекопитающих, включая, например, альтернативные сращиваемые изоформы и встречающиеся в природе изоформы. Характерные представители LXR_α видов включают, без ограничений, крысиные (Genbank Accession NM_031627), мышинные (Genbank Accession BC012646) и человеческие (GenBank Accession № U22 662) формы рецептора.

"LXR_β" (LXR бета) относится к формам такого рецептора млекопитающих, включая, например, альтернативные сращиваемые изоформы и встречающиеся в природе изоформы. Характерные представители LXR_β видов включают, без ограничений, крысиные (GenBank Accession NM_031626), мышинные (Genbank Accession NM_009473) и человеческие (GenBank Accession № U07132) формы рецептора.

"Тучный" и "тучность или ожирение" относится к индексу массы тела (BMI) выше чем 27,8 кг/м² для мужчин и 27,3 кг/м² для женщин (BMI равен весу (кг)/(высота)²(м²)).

Полезность

Соединения изобретения проявляют ценные фармакологические свойства и являются особенно полезными в качестве LXR агонистов, антагонистов, обратных агонистов, частичных агонистов и антаго-

нистов или являются селективными к LXR_{α} или к LXR_{β} . Соединения изобретения полезны для лечения описываемых здесь заболеваний или расстройств, таких как болезни или расстройства, связанные с или имеющие симптомы, возникающие в результате осложнений, измененной транспортировки холестерина, обратной транспортировки холестерина, метаболизма жирных кислот, абсорбции холестерина, ре-абсорбции холестерина, секреции холестерина, экскреции холестерина или метаболизма холестерина.

Данные заболевания включают, например, атеросклероз, атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания (см., например, публикации международных патентных заявок №№ WO 00/57915 и WO 00/37077), дислипидемию, гипергликемию, стойкость к инсулину, диабет, тучность, синдром X (публикация патентной заявки США № 20030073614, публикация международной патентной заявки № WO 01/82917), избыток отложения липидов в периферических тканях, таких как кожа (ксантомы) (см., например, патенты США №№ 6184215 и 6187814), кровоизлияние, периферическую окклюзивную болезнь, потерю памяти (Brain Research (1997), vol. 752, pp. 189-196), патологии зрительного нерва и сетчатки (т.е. макулярную дегенерацию, пигментный ретинит), восстановление травматического повреждения центральной или периферической нервной системы (Trends in Neurosciences (1994), vol. 17, pp. 525-530), профилактики дегенеративного процесса вследствие старения (American Journal of Pathology (1997), vol. 151, pp. 1371-1377) или болезнь Альцгеймера (см., например, публикацию международной патентной заявки № WO 00/17334; Trends in Neurosciences (1994), vol. 17, pp. 525-530), профилактику дегенеративных невропатий, имеющих место при таких заболеваниях, как диабетические невропатии (см., например, публикацию международной патентной заявки № WO 01/82917), рассеянный склероз (Annals of Clinical Biochem. (1996), vol. 33, № 2, pp. 148-150), и аутоиммунные заболевания (J. Lipid Res. (1998), vol. 39, pp. 1740-1743).

Предоставляются также способы увеличения экспрессии АТФ-связывающей Cassette (ABCA1) (см., например, публикацию международной патентной заявки № WO 00/78972) посредством увеличения обратной транспортировки холестерина в клетках млекопитающих с использованием заявленных соединений и композиций.

Соответственно, в еще одном аспекте изобретение также предусматривает способы удаления холестерина из тканевых отложений, таких как атеросклеротические бляшки или ксантомы, у субъектов с атеросклерозом или атеросклеротическим сердечно-сосудистым заболеванием, проявляемым по клиническим признакам такого заболевания, при этом способы предусматривают введение субъекту терапевтически эффективного количества соединения или композиции настоящего изобретения. В дополнение данное изобретение предоставляет также способ профилактики или снижения риска первого или последующего случая проявления атеросклеротического сердечно-сосудистого заболевания, включая ишемическую болезнь сердца, инсульт, полиинфарктную деменцию и перемежающуюся хромоту, предусматривающий введение субъекту с риском такого заболевания профилактически эффективного количества соединения или композиции настоящего изобретения.

Соединения настоящего изобретения могут также использоваться в способах снижения гипергликемии и стойкости к инсулину, т.е. в способах лечения диабета (публикация международной патентной заявки № WO 01/82917), и в способах лечения, профилактики или смягчения расстройств, связанных с ними или возникающих в виде осложнений диабета, гипергликемии или стойкости к инсулину, включая группу болезненных состояний или расстройств, которые составляют "синдром X" (см. патентную заявку США 20030073614), предусматривающих введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, эффективного количества соединения или композиции настоящего изобретения. В дополнение данное изобретение предоставляет также способ профилактики или снижения риска развития гипергликемии, стойкости к инсулину, диабета или синдрома X у субъекта, предусматривающий введение субъекту с риском такого заболевания профилактически эффективного количества соединения или композиции настоящего изобретения.

Сахарный диабет, называемый обычно диабетом, относится к болезненному процессу, возникающему в результате многих причинных факторов и характеризующемуся повышенными уровнями глюкозы в плазме, называемыми гипергликемией. См., например, LeRoith D. et al., (eds), DIABETES MELLITUS (Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, Pa. U.S.A. 1996). Неконтролируемая гипергликемия связана с повышенной и преждевременной смертностью вследствие повышенного риска макрососудистых заболеваний, включая нефропатию, нейропатию, ретинопатию, гипертензию, цереброваскулярную болезнь и коронарную болезнь сердца. Следовательно, контроль гомеостаза глюкозы является критически важным условием лечения диабета.

Имеются две основных формы диабета: диабет 1 типа (прежде называвшийся инсулинзависимый диабет или IDDM) и диабет 2 типа (прежде называвшийся неинсулинзависимый диабет или NIDDM). Диабет 2 типа является болезнью, характеризующейся инсулинорезистентностью, сопровождаемой скорее относительным, чем абсолютным дефицитом инсулина. Диабет 2 типа может быть в пределах от преобладающей инсулинорезистентности с относительным дефицитом инсулина до преобладающего дефицита инсулина с некоторой инсулинорезистентностью.

Инсулинорезистентность представляет собой пониженную способность инсулина оказывать его биологическое действие на протяжении широкого интервала концентраций. У инсулинорезистентных

индивидуумов организм выделяет аномально высокие количества инсулина, чтобы компенсировать данный дефект. Когда присутствуют неадекватные количества инсулина, чтобы компенсировать инсулинорезистентность и адекватно регулировать или контролировать глюкозу, развивается состояние ухудшенной переносимости глюкозы. У значительного числа индивидуумов секреция инсулина в дальнейшем уменьшается и уровень глюкозы в плазме растет, приводя в результате к клиническому состоянию диабета. Диабет 2 типа может быть следствием абсолютной инсулинорезистентности, стимулирующей регуляторные действия на глюкозу и метаболизм липидов в основных инсулинчувствительных тканях: мышцах, печени и адипозной ткани. Данная отзывчивость на инсулинорезистентность приводит в результате к недостаточной активации инсулином поглощения глюкозы, окисления и хранения в мышцах и к неадекватному подавлению инсулином липолиза в адипозной ткани и продуцирования секреции глюкозы в печени. При диабете 2 типа уровни свободной жирной кислоты часто повышаются у тучных или полных и некоторых неполных субъектов, и окисление липидов увеличивается.

Преждевременное развитие атеросклероза и увеличенная степень сердечно-сосудистых заболеваний и болезней периферических сосудов являются характерными признаками субъектов с диабетом. Гиперлипидемия является важным ускоряющим фактором данных заболеваний. Гиперлипидемия представляет собой расстройство, характеризующее обычно аномальным увеличением сывороточных липидов, например холестерина и триглицерида в кровотоке, и является важным фактором риска развития атеросклероза и болезни сердца. Что касается обзора расстройств метаболизма липидов, см., например, Wilson, J. et al. (ed.), *Disorders of Lipid Metabolism, Chapter 23, Textbook of Endocrinology, 9th Edition*, (W.B. Sanders Company, Philadelphia, Pa. U.S.A. 1998). Гиперлипидемия обычно классифицируется как первичная или вторичная гиперлипидемия. Первичная гиперлипидемия обычно вызывается генетическими дефектами, тогда как вторичная гиперлипидемия обычно вызывается другими факторами, такими как различные болезненные состояния, лекарства и диетические факторы. Альтернативно, гиперлипидемия может быть результатом сочетания как первичных, так и вторичных причин гиперлипидемии. Повышенные уровни холестерина связаны с рядом болезненных состояний, включая болезнь коронарных артерий, грудную жабу, болезнь сонной артерии, кровоизлияния, церебральный артериосклероз и ксантому.

Дислипидемия или аномальные уровни липопротеинов в кровяной плазме часто встречается среди диабетиков, и было показано, что она является одним из основных содействующих факторов частоты заболеваний коронарных осложнений и смертей среди диабетических пациентов (см., например, Joslin, E. *Ann. Chim. Med.* (1927), vol. 5, pp. 1061-1079). Эпидемиологические исследования с того времени подтвердили данную связь и показали несколькократное увеличение коронарных смертей среди диабетиков по сравнению с недиабетиками (см., например, Garcia, M.J. et al., *Diabetes* (1974), vol. 23, pp. 105-11 (1974); и Laakso, M. and Lehto, S., *Diabetes Reviews* (1997), vol. 5, № 4, pp. 294-315). Среди диабетиков были описаны несколько аномалий в отношении липопротеинов (Howard B., et al., *Arteriosclerosis* (1978), vol. 30, pp. 153-162).

Дополнительно данным изобретением предоставляются способы использования соединений изобретения для лечения ожирения так же, как и связанных с ожирением осложнений. Ожирение связано с множеством медицинских расстройств, включая диабет и гиперлипидемию. Ожирение или тучность является также известным фактором риска развития диабета типа 2 (см., например, Barret-Conner, E., *Epidemiol. Rev.* (1989), vol. 11, pp. 172-181); и Knowler, et al., *Am. J. Clin. Nutr.* (1991), vol. 53, pp. 1543-1551).

Введение и составление рецептурных форм

Соединение изобретения может вводиться нуждающемуся в этом субъекту любым принятым способом введения. Приемлемые способы введения включают, но не ограничиваются ими, щечный, кожный, эндоцервикальный, эндосинусиальный, эндотрахеальный, энтеральный, эпидуральный, интерстициальный, интраабдоминальный или внутрибрюшной, внутриартериальный, внутрибронхиальный, внутрисумчатый, внутрицеребральный, интракостеральный, интракоронарный, внутридермальный, внутрипроточный, интрадуоденальный, интрадуральный, интраэпидермальный, внутрипищеводный, внутрижелудочный, внутридесневой, внутриподвздошный, интралимфатический, интрамедуллярный, интраменингеальный, внутримышечный, внутриовариальный, интраперитонеальный, внутрипростатический, внутрилегочный, интрасинальный, интраспинальный, внутрисиновиальный, внутритестикулярный, интрастекальный, интратубулярный, внутриопухолевый, внутриматочный, внутрисосудистый, внутривенный, назальный, назожелудочный, оральный, парентеральный, чрескожный, перидуральный, ректальный, респираторный (ингаляция), подкожный, подязычный, субмукозный (под слой ткани, расположенный под слизистой оболочкой), топический или местный, трансдермальный, трансмукозный, транстрахеальный, мочеточниковый, уретральный и вагинальный.

Соединение изобретения может вводиться в любой твердой, полутвердой, жидкой или газообразной дозировочной форме. Приемлемые дозировочные формы включают, но не ограничиваются ими, аэрозоли, капсулы, кремы, эмульсии, газы, гели, зерна или крупинки, линименты, лосьоны, мази, пасты, порошки, растворы, суспензии, сиропы и таблетки. Приемлемые системы доставки включают, но не ограничиваются ими, биоразлагаемые имплантаты (например, поли(DL-лактид), лактид/гликолидный сополимеры и лактид/капролактоновые сополимеры), капсулы, души, клизмы, ингаляторы, внутриматочные устройства, распылители, бляшки, насосы и суппозитории.

В дозировочную форму изобретения может быть включено одно соединение изобретения, или соединение изобретения может быть в форме рецептуры с общепринятыми наполнителями, фармацевтическими носителями, адъювантами и/или другими медицинскими или фармацевтическими агентами. Приемлемые наполнители включают, но не ограничиваются ими, (a) агенты антиприлипания, такие как натриевая кросскармелоза, кросспровидон, крахмальный гликолят натрия, микрокристаллическая целлюлоза, крахмал и тальк; (b) связующие, такие как целлюлоза, желатин, гидроксипропилцеллюлоза, лактоза, мальтит, полиэтиленгликоль, поливинилпирролидон, сорбит, крахмал, сахар, сахароза и ксилит; (c) агенты покрытий, такие как целлюлоза, шеллак, цеин и энтерические агенты; (d) дезинтегрирующие агенты, такие как целлюлоза, поперечно-сшитый поливинилпирролидон, натриевая карбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза, крахмальный гликолят натрия и крахмал; (e) наполняющие агенты, такие как карбонат кальция, целлюлоза, двухосновный фосфат кальция, глюкоза, лактоза, манит, сорбит и сахароза; (f) ароматизирующие агенты; (g) окрашивающие агенты; (h) агенты скольжения, такие как стеарат кальция, коллоидная двуокись кремния, глицерилбегенат, глицерилмоностеарат, глицерилпальмитостеарат, гидролизованное растительное масло, стеарат магния, трисиликат магния, минеральное масло, полиэтиленгликоли, диоксид кремния, крахмал, стеарат, стеариновая кислота, тальк, стеарилфумарат натрия, бензоат натрия и цинк; (i) смазочные агенты, такие, как стеарат кальция, гидролизованные растительные масла, стеарат магния, минеральное масло, полиэтиленгликоль, стеарилфумарат натрия, стеарин, стеариновая кислота и тальк; и (j) консерванты, такие как хлорбутанол, лимонная кислота, цистеин, метионин, метилпарабен, фенол, пропилпарабен, ретинилпальмитат, селен, цитрат натрия, сорбиновая кислота, витамин А, витамин С и витамин Е. Капсулы могут содержать любой из перечисленных выше наполнителей и могут дополнительно содержать полутвердый или жидкий носитель, такой как полиэтиленгликоль или масла на основе растительных. Фармацевтические носители включают растворимые полимеры, микрочастицы, сделанные из нерастворимых или биоразлагаемых натуральных и синтетических полимеров, микрокапсулы или микросферы, липопотеины, липосомы и мицеллы.

Фармацевтические композиции могут быть в виде жидкости, например эликсира, сиропа, раствора, эмульсии, суспензии, или других аналогичных форм, или могут быть представлены в виде сухого продукта для реконституирования с водой или другим подходящим наполнителем перед использованием. Жидкие препараты могут содержать общепринятые добавки, такие как (a) жидкие разбавители, такие как вода, физиологический раствор, раствор Рингера, фиксированные масла, такие как синтетические моно- или диглицериды, или полиэтиленгликоли, глицерин, пропиленгликоль или другие растворители; (b) поверхностно-активные вещества, суспендирующие агенты или эмульгирующие агенты, такие как полиоксиэтилен-сорбитановые эфиры жирной кислоты, насыщенные полиглицеролизированные глицериды, моноглицериды, эфиры жирных кислот, блок-сополимеры этиленоксида и пропиленоксида, полиоксил-стеараты, этоксилированные касторовые масла и этоксилированные гидроксистеариновые кислоты; (c) буферные агенты, такие как ацетаты, цитраты или фосфаты; (d) хелатирующие агенты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота; (e) антибактериальные агенты, такие как бензиловый спирт или метилпарабен; (f) антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия; (g) изотонические агенты, хлорид натрия или декстроза; а также подсластители и ароматизирующие агенты, красители и консерванты.

Фармацевтическая композиция изобретения обычно содержит терапевтически эффективное количество соединения изобретения в виде индивидуального стереоизомера или смеси стереоизомеров или его фармацевтически приемлемой соли, а остальное составляет один или более фармацевтически приемлемых наполнителей. Обычно, для орального введения соединение изобретения в виде индивидуального стереоизомера или смеси стереоизомеров или его фармацевтически приемлемой соли включает от 1 до 99 вес.% фармацевтически приемлемой композиции, а остаток композиции составляет один или более фармацевтически приемлемых наполнителей. В типичном случае соединение изобретения в виде индивидуального стереоизомера или смеси стереоизомеров или его фармацевтически приемлемой соли включает от 5 до 75 вес.% фармацевтически приемлемой композиции, а остаток композиции составляет один или более фармацевтически приемлемый наполнитель. Для парентерального введения соединение изобретения в виде индивидуального стереоизомера или смеси стереоизомеров или его фармацевтически приемлемой соли включает от 0,01 до 1 вес.% фармацевтически приемлемой композиции. Способы приготовления дозировочных форм изобретения известны или очевидны специалистам в данной области; например, см. Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., (Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990).

Терапевтически эффективное количество соединения изобретения обычно варьирует в зависимости от разных факторов, включающих активность, метаболическую способность, скорость экскреции и длительность действия соединения, возраст, вес, общее состояние здоровья, пол, диету и виды субъекта, способ и время введения соединения, присутствие адъювантов или дополнительных терапевтически активных ингредиентов в композиции и тяжесть заболевания, для которого предназначается терапевтический эффект.

Соединения изобретения могут вводиться людям при уровнях доз в интервале от около 0,1 до около 10000 мг в день. Обычному взрослому человеку, имеющему вес тела около 70 кг, можно вводить дозу в интервале примерно от 0,15 мкг до около 150 мг на 1 кг веса тела в день. Обычно нормальному взросло-

му человеку вводят примерно от 0,1 до около 25 мг или от 0,5 до около 10 мг на 1 кг веса тела в день. Соединения изобретения могут вводиться в виде одной или более единичных дозированных форм. Единичные дозы могут вводиться от одного до четырех раз в день, или два раза в день, или один раз в день. В альтернативном способе предписания эффективной дозы оральная единичная доза составляет дозу, которая необходима для достижения уровня сыворотки крови у субъекта около 0,05-20 мкг/мл или около 1-20 мкг/мл. Оптимальная доза соединения изобретения для конкретного субъекта может быть определена специалистом в данной области.

Соединения изобретения, или его индивидуальный изомер, или смесь изомеров, или его фармацевтически приемлемая соль может также вводиться одновременно с введением, перед или после введения одного или более терапевтических агентов, описанных ниже. Такая комбинированная терапия включает введение одной фармацевтической дозированной рецептуры, которая содержит соединение изобретения и один или более дополнительных активных агентов, а также введение соединения изобретения и каждого активного агента в виде его собственной отдельной фармацевтической дозированной рецептуры. Например, соединение изобретения и ингибитор HMG-CoA редуктазы можно вводить субъекту вместе в виде одной оральной дозированной композиции, такой как таблетка или капсула, или каждый агент вводят в виде отдельных оральных дозированных композиций. Когда используют отдельные дозированные рецептуры, соединения изобретения и один или более дополнительных активных агентов можно вводить, по существу, в одно и то же время, т.е. параллельно, или в отдельно регулируемые периоды времени, т.е. последовательно; следует понимать, что комбинированная терапия включает все данные режимы.

В одном из воплощений соединения изобретения используют в сочетании с одним или более из следующих терапевтических агентов при лечении атеросклероза: антигиперлипидемических агентов, HDL-поднимающих в плазме агентов, антигиперхолестеринемических агентов, ингибиторов биосинтеза холестерина (таких как ингибиторы HMG CoA редуктазы, такие как ловастатин, симвастатин, правастатин, флувастатин, аторвастатин и ривастатин), ингибиторов ацил-кофермент А:холестерин ацилтрансферазы (ACAT), пробуккола, ралоксифена, никотиновой кислоты, ниацинамида, ингибиторов абсорбции холестерина, секвесторов желчной кислоты (таких как анионообменные смолы или четвертичные амины (например, холестирамин или колестипол)), индукторов рецептора липопротеина низкой плотности, клофибрата, фенофибрата, бензофибрата, ципофибрата, гемфибризола, витамина B₆, витамина B₁₂, антиоксидантных витаминов, β-блокаторов, антидиабетических агентов, антагонистов ангиотензина II, ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента, ингибиторов скопления тромбоцитов, антагонистов рецептора фибриногена, аспирина или производных фибровой кислоты.

Согласно еще одному воплощению при лечении биосинтеза холестерина, соединения изобретения используются в комбинации с одним или более из следующих терапевтических агентов: ингибитор, особенно ингибитор HMG-CoA редуктазы. Подразумевается, что термин "ингибитор HMG-CoA редуктазы" включает все фармацевтически приемлемые солевые, сложноэфирные, свободно-кислотные и лактоновые формы соединений, которые обладают активностью ингибирующей HMG-CoA редуктазы, и, следовательно, использование таких форм солей, сложных эфиров, свободных кислот и лактона включено в объем данного изобретения. Композиции, которые обладают ингибирующей активностью в отношении HMG-CoA редуктазы, могут быть свободно определены с использованием анализов, хорошо известных в данной области. Например, подходящие методы анализа описываются или раскрываются в патенте США № 4231938 и WO 84/02131. Примеры подходящих ингибиторов HMG-CoA редуктазы включают, но не ограничиваются ими, ловастатин (MEVACOR®; см. патент США № 4231938); симвастатин (ZOCOR®; см. патент США № 4444784); натриевый правастатин (PRAVACHOL®; см. патент США № 4346227); флувастатин-натрий (LESCOL®; см. патент США № 5354772); аторвастатин-кальций (LIPITOR®; см. патент США № 5273995) и ривастатин (известный также как церивастатин; см. патент США № 5177080). Структурные формулы данных и дополнительных ингибиторов HMG-CoA редуктазы, которые могут использоваться в сочетании с соединениями изобретения, описаны на стр.87 публикации M. Yalpani, "Cholesterol Lowering Drugs," Chemistry & Industry, pp.85-89 (5 February 1996). В предпочтительных в настоящее время воплощениях ингибитор HMG-CoA редуктазы выбирают из ловастатина и симвастатина.

В дополнительном воплощении соединения изобретения используют в комбинации с одним или более следующих терапевтических агентов при лечении с одним или более дополнительными активными от диабета агентами в зависимости от желаемой цели терапии (см., например, Turner, N. et al., Prog. Drug Res. (1998), vol. 51, pp. 33-94; Haffner, S., Diabetes Care (1998), vol. 21, pp. 160-178; и DeFronzo, R. et al., (eds.), Diabetes Reviews (1997), vol. 5, № 4). В ряде исследований изучались выгоды комбинированных методов терапии с оральными агентами (см., например, Mahler, R., J. Clin. Endocrinol. Metab. (1999), vol. 84, pp. 1165-71; United Kingdom Prospective Diabetes Study Group: UKPDS 28, Diabetes Care (1998), vol. 21, pp. 87-92; Bardin, C.W. (ed.), Current Therapy In Endocrinology And Metabolism, 6th Edition (Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, Mo. 1997); Chiasson, J. et al., Ann. Intern. Med. (1994), vol. 121, pp. 928-935; Coniff, R. et al., Clin. Ther. (1997), vol. 19, pp. 16-26; Coniff, R. et al., Am. J. Med. (1995), vol. 98, pp. 443-451; Iwamoto, Y. et al., Diabet. Med. (1996), vol. 13, pp. 365-370; Kwiterovich, P., Am. J. Cardiol (1998), vol. 82 (12A), pp. 3U-17U). Данные исследования показывают, что модулирование диабета и гиперлипидемии может

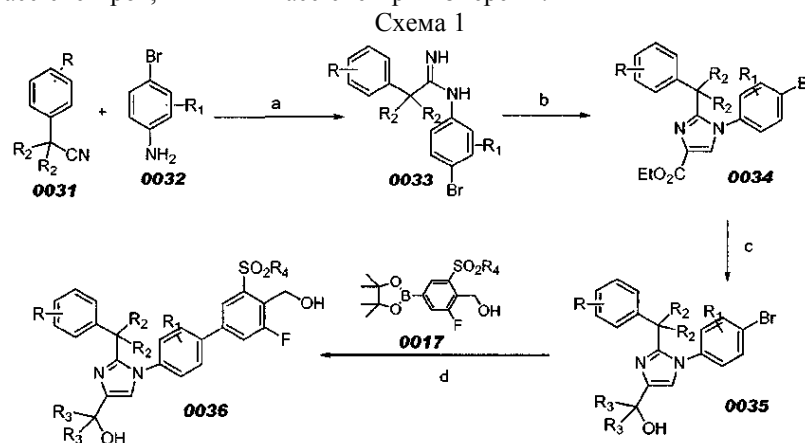
быть дополнительно улучшено добавлением в режим терапии еще одного агента.

Согласно дальнейшим воплощениям, соединения изобретения используются при лечении диабета в комбинации с одним или более из следующих терапевтических агентов: сульфонилмочевинами (такими как хлорпропамид, толбутамид, ацетогексамид, толазамид, глибурид, гликлазид, глиназа, глимепирид и глипизид), бигуанидами (такими как метформин), тиазолидиндионами (такими как циглитазон, пиоглитазон, троглитазон и росиглитазон), и родственными сенситизаторами инсулина, такими как селективные и неселективные активаторы PPAR α , PPAR β и PPAR γ ; дегидроэпиандростероном (называемым также DHEA, или его сопряженным сульфатным сложным эфиром, DHEA-SO₄); антиглюкокортикоидами; ингибиторами TNF α ; ингибиторами α -глюкозидазы (такими как акарбоза, миглит и воглибоза), прамлинтидом (синтетический аналог гормона человека амилаина), другими средствами, усиливающими секрецию инсулина (такими как репаглинид, гликвидон и натеглинид), инсулином, а также терапевтическими агентами, обсуждаемыми выше в отношении лечения атеросклероза.

Согласно еще одному воплощению соединения изобретения используются при лечении ожирения или связанных с ожирением расстройств в комбинации с одним или более из следующих терапевтических агентов. Такие агенты включают в их число, но не ограничиваясь ими, фенилпропаноламин, фентермин, диэтилпропион, мазиндол, фенфлурамин, дексфенфлурамин, фентирамин, агенты агонисты β_3 адреноцептора; сибутрамин, ингибиторы желудочно-кишечной липазы (такие как орлистат) и лептины. Другие агенты, используемые в лечении ожирения или связанных с ожирением расстройств, включают нейрпептид Y, энтеростатин, холецистокинин, бомбезин, амилин, рецепторы гистамина H₃, модуляторы рецептора допамина D₂, меланоцит-стимулирующий гормон, фактор высвобождения кортикотропина, галанин и γ -аминомасляную кислоту (GABA).

Синтез.

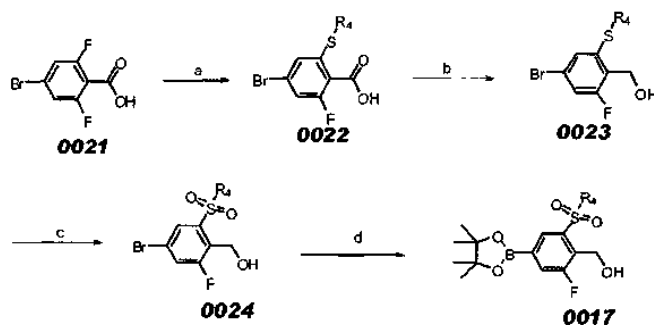
Соединения настоящего изобретения могут быть получены с помощью ряда способов, хорошо известных специалистам в данной области, включая, но не ограничиваясь способами, описанными ниже, или с помощью модификации данных способов с применением стандартных технологических приемов, известных специалистам в области органического синтеза. Соединения были названы с использованием ChemDraw Ultra 9.0 или 10.0 (CambridgeSoft). Реагенты и исходные материалы являются промышленно доступными или свободно синтезируются с помощью хорошо известных приемов специалистами в данной области. Следует понимать, что следующее описание, сочетания или комбинации заместителей и/или переменных в изображаемых формулах, допустимы только, если такие сочетания дают в результате стабильные соединения. Если не указано иное, были получены все соединения, приведенные с данными ЯМР и/или масс-спектров, и ЯМР и масс-спектры измерены.



(a) Me₃Al, толуол, 0-80°C; (b) i) этилбромпируват, NaHCO₃, ТГФ, 70-80°C; ii) AcOH, толуол или TFA, EtOH, 80°C; (c) R₃MgBr, ТГФ или ТГФ/CH₂Cl₂, 0°C - комнатная температура; (d) K₂CO₃, PdCl₂(dppf), DME/H₂O, 80°C.

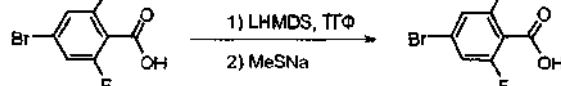
В общем, соединения формулы (0036) получали сначала реакцией анилина формулы (0032) с 2-(фенил)-2-метилпропаннитрилом (0031) в присутствии триметилалюминия, с получением соединений формулы (0033) после стандартных процедур выделения (схема 1). На последующей стадии амидин (0033) подвергали действию сложного галоидного эфира, такого как этил α -бромпируват, в основных условиях при повышенной температуре с последующей дегидратацией в условиях, таких как трифторуксусная кислота в этаноле, получали 1H-имидазол формулы (0034) после стандартных процедур выделения. Соединения формулы (0034) затем подвергали функциональной трансформации, такой как из сложного эфира в карбинол. В реакции сочетания, опосредованной палладием, например, реакции Сузуки, соединения формулы (0035) затем вступают в реакцию с (2-фтор-6-(сульфонил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенил)метанолом (0017) (см. схему 2 ниже), получая соединения формулы (0036) после стандартных процедур выделения.

Схема 2



а) i) 1,0М LHMDS в ТГФ; ii) R_4SNa , нагревание с обратным холодильником; б) BH_3 -ТГФ, $0^\circ C$ -нагревание с обратным холодильником; в) mCPBA, CH_2Cl_2 , д) $PdCl_2(dppf)$, бис(пинаколато)диборон, KOAc ДМСО, $80^\circ C$.

Схема 2. Стадия 2а. Получение 4-бром-2-фтор-6-(метилтио)бензойной кислоты.



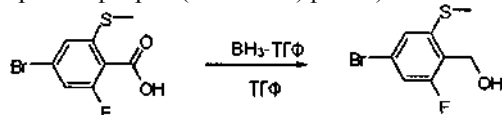
В круглодонную 500 мл колбу с присоединенным конденсатором добавляли 4-бром-2,6-дифторбензойную кислоту (16,0 г, 67,5 ммоль) и безводный ТГФ (110 мл). Реакционную колбу охлажда-ли на ледяной бане перед добавлением по каплям 1,0М бис-(триметилсилил)амида лития (74 мл, 1,1 экв.). Реакционную суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 20 мин перед добавлени-ем тиометоксида натрия (5,21 г, 74,2 ммоль). Реакционный раствор оставляли перемешиваться при на-гревании с обратным холодильником в течение 3 ч. Определяли, что реакция завершается после гашения некоторого количества реакционной смеси в разбавленном водном растворе HCl и проведения GCMS: найдено $m/z=265267$ исходных ионов. Охлажденную реакционную смесь гасили H_2O и разбавляли EtOAc (200 мл). Реакционную смесь переносили в разделительную воронку и добавляли 1,0н. водного HCl с получением раствора с pH 2-3. Этилацетатный слой отделяли, промывали соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали в вакууме, получая 14,6 г (81% выход) промежуточной 6-фтор-4-бром-2-метилсульфанилбензойной кислоты в виде воскообразного белого твердого вещества.

1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 7,18 (с, 1H), 7,12 (дд, $J=8$ Гц, 1H), 2,49 (с, 3H); GCMS $m/z=265, 267$ $[M]^+$.

Альтернативно, промежуточную 6-фтор-4-бром-2-метилсульфанилбензойную кислоту получали следующим образом.

В 20 л колбу загружали диметилформамид (14,5 л, 10,0 об.) с последующим добавлением гидрокси-да натрия (293,7 г, 1,2 экв.) и реакционную массу охлаждали до $(-15) - (-10)^\circ C$. На протяжении периода 10-15 мин при $(-15) - (-10)^\circ C$ добавляли 4-бром-2,6-дифторбензойную кислоту (1450 г, 1,0 экв.) и пере-мешивали в течение дополнительных 10-15 мин. На протяжении периода 5-10 мин при $(-10) - (-5)^\circ C$ до-бавляли тиометоксид натрия (514,6 г, 1,2 экв.). По завершении добавления температуру реакции подни-мали до $25-28^\circ C$ на протяжении периода 45-60 мин и реакцию поддерживали при данной температуре 1,5-2 ч. Температуру реакции затем поднимали до $60-65^\circ C$ на протяжении 30-60 мин и поддерживали при $60-65^\circ C$ в течение 5 ч до тех пор, пока реакцию не считали завершенной. Реакционную смесь затем ох-лаждали до $20-25^\circ C$ и гасили охлажденным ($5-10^\circ C$) раствором 2н. HCl (5,045 л 12н. HCl в 30,3 л воды). После гашения добавляли этилацетат (14,5 л, 10 об.) и смесь перемешивали в течение 10-15 мин. Фазы разделяли и водный слой экстрагировали этилацетатом (7,25 л, 5 об.). Две фазы разделяли и объединен-ный органический слой промывали соевым раствором (725 г NaCl в 3,625 л воды). Фазы разделяли и органический слой промывали водой (5,0 об., 7,25 л). Фазы разделяли и органический слой сушили сульфатом натрия (1450 г). Органический слой фильтровали для удаления сульфата натрия, который за-тем промывали этилацетатом (2,9 л, 2 об.). Органический слой концентрировали при пониженном давле-нии при $45-50^\circ C/30-40$ мм Hg до $\sim 1-1,2$ об. и на протяжении 15-20 мин при $40-45^\circ C$ добавляли петролей-ный эфир. Раствор охлаждали до $20-25^\circ C$ на протяжении 20-25 мин. Твердое вещество отфильтровывали и промывали петролейным эфиром (2,9 л, 2,0 об.) и продукт сушили в вакууме при $25-28^\circ C$, 0,4-0,7 мбар, получая 1410 г (87%, 99,40% площади) промежуточной 6-фтор-4-бром-2-метилсульфанилбензойной ки-слоты.

Стадия 2б. Получение (4-бром-2-фтор-6-(метилтио)фенил)метанола



В продуваемую N_2 500 мл круглодонную колбу с подсоединенным конденсатором добавляли 6-фтор-4-бром-2-метилсульфанилбензойную кислоту (14,6 г, 55,0 ммоль) и безводный ТГФ (70 мл). Реак-

ционный раствор оставляли охлаждаться до 0°C перед добавлением по каплям 1,0М раствора BH_3 -ТГФ (83 мл, 1,5 экв.) в ТГФ. Реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре, затем при нагревании с обратным холодильником в течение дополнительных 2 ч. Перед гашением реакционный раствор охлаждали 1:1 раствором вода/ТГФ. Реакционный раствор переносили в делительную воронку с этилацетатом (100 мл) и добавляли водный раствор карбоната калия. Этилацетатный слой отделяли, промывали солевым раствором, сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме. Сырой продукт хроматографировали через 110 г колонку с диоксидом кремния с использованием градиента растворителя 100% H_x до 55% EtOAc . Получали очищенный целевой продукт в виде твердого белого воскообразного вещества (13,7 г, 99% выход).

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,13 (с, 1H), 7,06 (дд, $J_1=8$ Гц, $J_2=2$ Гц, 1H), 4,77 (с, 2H), 2,51 (с, 3H), 2,20-2,05 (ушир.с, 1H); GCMS $m/z=251, 253$ $[\text{M}]^+$.

Альтернативно, промежуточный (4-бром-2-фтор-6-(метилтио)фенил)метанол получали следующим образом.

В 20 л сосуд загружали 4-бром-2-фтор-6-(метилтио)бензойную кислоту (1400 г, 1,0 экв.), затем ТГФ (14 л, 10 об.) в атмосфере азота. К данному раствору добавляли боран-диметилсульфидный комплекс (802,41 г, 1000 мл) при 25-28°C на протяжении периода 30-45 мин. Температуру реакции поднимали до 60-65°C на протяжении 30-45 мин и температуру поддерживали до тех пор, пока HPLC не показала <1% 4-бром-2-фтор-6-(метилтио)бензойной кислоты (~3-4 ч). По завершении реакции смесь охлаждали до 10-15°C на протяжении 30-40 мин. Реакцию затем гасили метанолом (2,1 л, 1,5 об.) на протяжении периода 1-1,5 ч при 10-15°C. Реакционную массу затем концентрировали в вакууме при 40-50°C/0,4-0,7 мбар до 1-1,5 об. Получающуюся смесь растворяли в DCM (8,4 л, 6 об.). Органический слой промывали раствором хлорида аммония (560 г NH_4Cl в 2,8 л воды, 2 об.). Фазы разделяли и органический слой промывали 10% раствором NaHCO_3 (2,8 л, 2 об.), насыщенным солевым раствором (2,1 л, 1,5 об.) и водой (4,2 л, 3 об.). Органический слой отделяли и сушили над сульфатом натрия (700 г). Сульфат натрия удаляли фильтрованием и промывали DCM (2,8 л, 2 об.). Органический слой концентрировали в вакууме при 40-45°C/0,4-0,7 мбар до 1-1,2 об., получая продукт, который сушили в вакууме при 45-50°C/0,4-0,7 мбар. Целевой продукт получали с выходом 90% (1200 г) с 90,07% площадью.

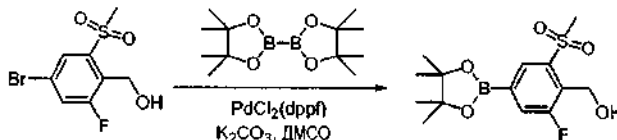
Стадия 2с. Получение (4-бром-2-фтор-6-(метансульфонил)фенил)метанола



В 500 мл колбу добавляли (4-бром-2-фтор-6-(метилтио)фенил)метанол (13,7 г, 54,6 ммоль) и безводный дихлорметан (125 мл). Раствор охлаждали до 0-3°C на ледяной бане перед добавлением порциями 3-хлорпербензойной кислоты (77% макс, Aldrich) (18,8 г, 2 экв.). Реакционному раствору затем давали нагреться до комнатной температуры, при которой его оставляли на 18 ч. Реакционную смесь затем концентрировали в вакууме, удаляя дихлорметан, и остаток промывали в делительной воронке этилацетатом и 1М водным раствором NaOH . Этилацетатный слой отделяли, промывали 1М водным NaOH , сушили над Na_2SO_4 и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (Biotage, 65×200 мм SiO_2 колонка, элюирование с градиентом от 100% гексанов до 90% этилацетата). Соответствующие фракции объединяли и концентрировали в вакууме, получая целевое соединение в виде бесцветного полукристаллического твердого вещества, выход: 8,1 г (52%).

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 7,98 (дд, $J=8$ Гц, 1H), 7,91 (с, 1H), 5,45 (т, $J=8$ Гц, 1H), 4,88 (дд, $J_1=8$ Гц, $J_2=2$ Гц, 2H), 3,42 (с, 3H); ^{19}F ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ -111,8 м.д.; GCMS $m/z=283, 285$ $[\text{M}]^+$.

Стадия 2д. Получение (2-фтор-6-(метилсульфонил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенил)метанола



В 100 мл круглодонную колбу, продуваемую сухим азотом, отвешивали (4-бром-2-фтор-6-(метансульфонил)фенил)метанол (1,98 г, 6,99 ммоль), бис(пинаколато)диборон (2,13 г 1,2 экв.), дихлорметановый аддукт дихлор[1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]палладия(II) (560 мг, 10 мол.%), карбонат калия (2,06 г, 3 экв.) и DMSO (25 мл). Получающуюся суспензию оставляли перемешиваться при 90°C в течение 3 ч. Было найдено, что аликвота реакционного раствора больше не содержит исходный бромид по данным определения с помощью анализа LCMS. Охлажденную реакционную суспензию разбавляли этилацетатом (50 мл) и водой (50 мл) и фильтровали через воронку Бюхнера, заполненную целитом. Получающийся фильтрат переносили в делительную воронку и органическую фазу отделяли. Водную фазу экстрагировали этилацетатом и объединенные этилацетатные фазы промывали солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на

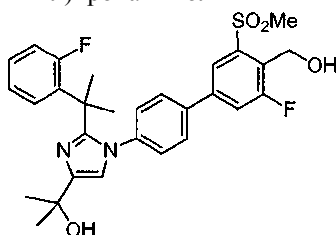
силикагеле (Biotage SP-1, 40 г SiO₂ колонка, элюирование градиентом от 100% гексанов до 60% этилацетата), получая прозрачное вязкое масло. Продукт выделяли в виде аморфного белого порошка с помощью растворения в дихлорметане и переосаждения, происходящего при добавлении гексанов. Целевое соединение выделяли в виде белого порошка твердого вещества, выход 1,9 г (82% выход).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,28 (с, 1H), 7,79 (д, J=8 Гц, 1H), 5,03 (д, J=8 Гц, 2H), 3,23 (с, 3H) 3,05 (т, J=8 Гц, 1H), 1,35 (с, 6H); ¹⁹F ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ -116,3 м.д.

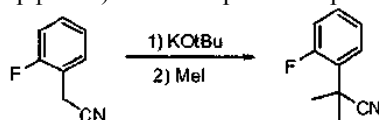
Альтернативно, промежуточный (2-фтор-6-(метилсульфонил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксaborolan-2-ил)фенил)метанол получали следующим образом.

В 500 мл реактор с кожухом, оборудованный мешалкой, температурным зондом, обратным холодильником и вводом азота, загружали метилтетрагидрофуран (MeTHF) (75 мл, 5 об.), затем ацетат калия (5,2 г, 52,98 ммоль, 1 экв.) и (оксиди-2,1-фенилен)бис(дифенилфосфин) (322 мг; 597,3 мкмоль, 0,01125 экв.) и бис(пинаколато)диборон (17,51 г, 68,95 ммоль, 1,3 экв.). Реакционную колбу откачивали до менее чем 150 Торр (мм рт.ст.), а затем снова заполняли азотом. Процедуру дегазирования повторяли 3 раза. В реактор загружали Pd(OAc)₂ (94,2 мг; 419,6 мкмоль, 0,0075 экв.) и реакционный сосуд откачивали до менее 150 Торр, а затем снова заполняли азотом и последовательность операций повторяли 3 раза. Получающийся в результате шлам оставляли храниться при 20-25°C в течение 15 мин. После завершения 15 мин хранения шлам нагревали до внутренней температуры 80°C. Пока смесь в реакторе нагревали, в отдельный сосуд загружали (4-бром-2-фтор-6-(метансульфонил)фенил)метанол (15,03 г, 53,09 ммоль, 1 экв.), затем MeTHF (75 мл, 5 об.). Получающийся в результате раствор дегазировали пропусканием под поверхность азота в течение по крайней мере 15 мин перед использованием. Как только смесь катализатора достигала кипения с обратным холодильником, к реакционной смеси одной порцией добавляли дегазированный раствор (4-бром-2-фтор-6-(метансульфонил)фенил)метанол в MeTHF и оставляли реагировать. Реакция обычно занимает ~20 ч, завершаясь после добавления субстрата. По завершении (обычно <0,75 RAP исходного материала) реакционную смесь охлаждали до 20-25°C. Реакционную смесь разбавляли при комнатной температуре MeTHF (75 мл, 5 об.) и промывали 5 вес.% раствором NaCl (7,5 об., 110 мл) в течение по крайней мере 15 мин. Фазы разделяли и верхний поток продукта, обогащенный MeTHF, фильтровали через целит для удаления нерастворимых палладиевых остатков. Осадок на целите промывали MeTHF (75 мл, 5 об.). Реакционную смесь обрабатывали функционализированной двуокисью кремния (30 экв.) для удаления палладия и окраски. Шлам встряхивали в течение по крайней мере 60 мин, а затем фильтровали для удаления двуокиси кремния. И использованную двуокись кремния промывали MeTHF (5 об., 75 мл). Объединенную органическую фазу промывали водой (5 об., 75 мл). Органическую фазу перегоняли до 5 об. (75 мл) в вакууме (60-70 Торр, температура бани 30°C). Когда достигали отметки 75 мл, перегонку прекращали и к реакционному раствору по каплям добавляли гептан (75 мл, 5 об.). После того как добавляли ~35 мл гептанов, продукт начинал кристаллизоваться из раствора. По завершении добавления продукт выделяли с помощью фильтрования и сырую лепешку промывали раствором MeTHF-гептаны (1:9) (2×75 мл) и сушили при 50°C. Целевой продукт получали в виде белого твердого вещества, 13,64 г, (78% выход) с 99,58% поверхности.

Пример 1. 2-(1-(3-Хлор-3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-фторфенил)пропан-2-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол



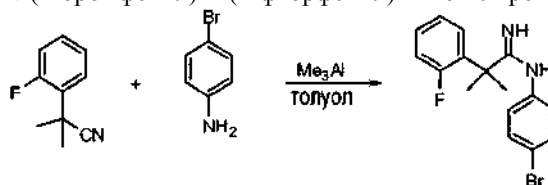
Пример 1а. Получение 2-(2-фторфенил)-2-метилпропаннитрила



В 500 мл 3-горлую круглодонную колбу, снабженную капельной воронкой, которую продували сухим N₂, добавляли 2-фторфенилацетонитрил (11,0 г, 81,4 ммоль) и безводный ТГФ (70 мл). Реакционный раствор охлаждали до -10°C перед тем, как по каплям добавить 1,0М раствор трет-бутоксид калия (195 мл, 2,4 мол.экв.) в ТГФ. Реакционный раствор перемешивали при -10°C в течение 20 мин перед тем, как добавить йодметан (15,2 мл, 244 ммоль). Реакционный раствор перемешивали, давая нагреться до комнатной температуры, в течение 4 ч. Реакционный раствор гасили путем добавления водного раствора NH₄Cl и разбавляли EtOAc (200 мл). Органическую фазу распределяли, промывали водным раствором NH₄Cl, сушили над Na₂SO₄, фильтровали, концентрировали в вакууме и подвергали хроматографии через 240 г SiO₂ колонку на устройстве Biotage SP-1 с использованием растворителя градиента 100% Нх до 50% EtOAc, получая 10,1 г (76% выход) указанного в заголовке (целевого) продукта. GCMS m/z=163

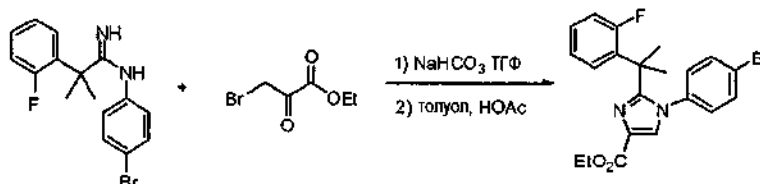
[M]⁺.

Пример 1b. Получение N-(4-бромфенил)-2-(2-фторфенил)-2-метилпропанмидамида



В высушенную в печи, продутую N₂ 250 мл круглодонную колбу, снабженную капельной воронкой, добавляли 4-броманилин (7,31 г, 42,5 ммоль) и безводный толуол (40 мл). К реакционному раствору при 0°C добавляли 2,0М раствор Me₃Al (32 мл, 1,5 мол.экв.). Реакционный раствор перемешивали при 0°C в течение 30 мин, затем в реакционную колбу добавляли раствор 2-(2-фторфенил)-2-метилпропаннитрила (7,62 г, 46,7 ммоль) в толуоле (25 мл). Реакционный раствор оставляли для перемешивания при 90°C в течение 5 ч. Охлажденный раствор гасили водным раствором тартрата натрия калия. После отстаивания в течение 20 мин органическую фазу распределяли и промывали раствором тартрата натрия калия. Органический раствор экстрагировали 1н. водным раствором HCl (100 мл × 3). Объединенный водный раствор HCl нейтрализовали путем добавления 1н. водного раствора NaOH и экстрагировали дихлорметаном (200 мл × 2). Раствор дихлорметанового продукта сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме, получая целевое соединение (5,5 г, 39% выход). GCMS m/z=334, 336 [M]⁺.

Пример 1с. Получение этил 1-(4-бромфенил)-2-(2-(2-фторфенил)пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-карбоксилата



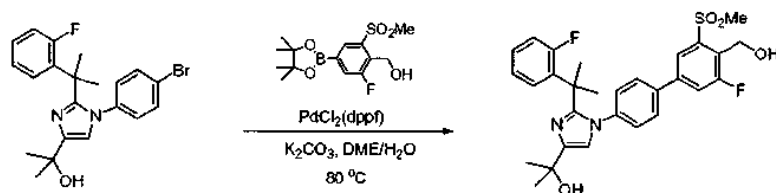
В 250 мл круглодонную колбу, снабженную конденсатором, добавляли N-(4-бромфенил)-2-(2-фторфенил)-2-метилпропанмидамид (5,0 г, 15 ммоль), безводный ТГФ (80 мл) NaHCO₃ (2,52 г, 30 ммоль) и 90% этилбромпируват (1,90 мл, 15,1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 70°C в течение 2 ч перед тем, как подвергнуть анализу с помощью LCMS. Охлажденную реакционную смесь декантировали и концентрировали в вакууме. Остаток брали в толуол (65 мл) и уксусную кислоту (1,8 мл). Раствор перемешивали при температуре дефлегмации в течение 1 ч. Охлажденный раствор промывали H₂O (150 мл × 3), сушили над Na₂SO₄, фильтровали, концентрировали в вакууме и подвергали хроматографии через SiO₂ колонку с использованием градиента 100% Hx до 70% EtOAc, получая очищенное целевое соединение (4,3 г, 67% выход). LCMS (ES): m/z=431,3, 433,3 [M+H]⁺.

Пример 1d. Получение 2-(1-(4-бромфенил)-2-(2-(2-фторфенил)пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ола



В 250 мл круглодонную колбу, продутую N₂ и снабженную капельной воронкой, добавляли 3,0М раствор MeMgBr (12 мл, 3,7 экв.) в Et₂O. Колбу охлаждали до 0°C перед тем, как по каплям добавить этил 1-(4-бромфенил)-2-(2-(2-фторфенил)пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-карбоксилат (4,22 г, 9,78 ммоль) в раствор безводного дихлорметана (80 мл). Реакционный раствор оставляли при перемешивании, давая нагреться до комнатной температуры в течение 1 ч. Реакционный раствор гасили путем добавления водного раствора NH₄Cl. Смесь вливали в делительную воронку и дихлорметановый слой распределяли, сушили над Na₂SO₄, фильтровали, концентрировали и подвергали хроматографии через 40 г SiO₂ колонку с использованием градиента 100% Hx до 70% EtOAc, получая целевое соединение (3,19 г, 78% выход). LCMS (ES): m/z=417,3, 419,3 [M+H]⁺.

Пример 1. Получение 2-(1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-(2-фторфенил)пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ола



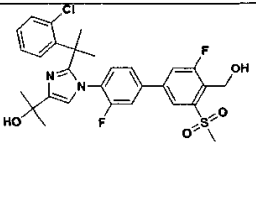
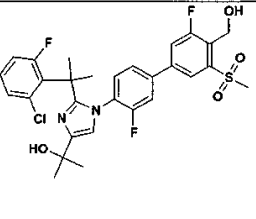
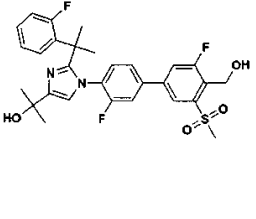
В 50 мл круглодонную колбу добавляли 2-(1-(4-бромфенил)-2-(2-(2-фторфенил)пропан-2-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол (380 мг, 911 мкмоль), DME (25 мл) и H₂O (6 мл). Раствор продували N₂ в течение 10 мин перед тем, как добавить (2-фтор-6-(метилсульфонил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенил)метанол (360 мг, 1,09 ммоль), карбонат калия (380 мг, 2,73 ммоль) и дихлорметановый аддукт дихлор[1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]палладий(II) (74 мг, 91 мкмоль). Реакционную смесь оставляли для перемешивания при 80°C в течение 2 ч. Охлажденный реакционный раствор разбавляли EtOAc (30 мл) и фильтровали через воронку Buchner с целитной прокладкой. Фильтрат промывали водным раствором NH₄Cl (150 мл × 2). Органическую фазу сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью флэш-хроматографии на силикагеле (Biotage SP-1, 25 г SiO₂ колонка, градиент элюирования от 5% EtOAc до 100% EtOAc), получая целевое соединение (100 мг, 20% выход).

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,02 (д, J=2 Гц, 1H), 7,51 (дд, J₁=2 Гц, J₂=10 Гц, 1H), 7,29 (д, J=9 Гц, 2H), 7,08-7,16 (м, 1H), 6,85-6,92 (м, 3H), 6,77-6,84 (м, 2H), 6,65 (с, 1H), 5,09 (д, J=6 Гц, 2H), 3,35 (с, 1H), 3,30 (2, 3H), 3,02 (т, J=6 Гц, 1H), 1,72 (с, 6H), 1,62 (с, 6H); ¹⁹F ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ -112,1, -113,5 м.д.; LCMS (ES) m/z=541,3 [M+H]⁺, 563,2 [M+Na]⁺.

Примеры 2-8.

Все из следующих соединений были получены способом, аналогичным тому, который описан в примере 1, с использованием соответствующих анилинов и 2-(фенил)-2-метилпропаннитрилов. При отсутствии промышленно доступных, нитрилы получали с применением стандартных технологий, общеизвестных специалистам в данной области.

№	Название	Структура	Данные
2	2-(2-(2-(2-хлор-6-фторфенил)пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-3-метил-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол		МС (ES): 589,3 [M+H] ⁺
3	2-(1-(3-хлор-3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол		МС (ES): 627,2 [M+H] ⁺
4	2-(2-(2-(2-хлор-3-фторфенил)пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол		МС (ES): 575,3 [M+H] ⁺
5	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол		МС (ES): 591,5 [M+H] ⁺

6	2-(2-(2-(2-Хлор-фенил)пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол		МС (ES): 575,3 [M+H] ⁺
7	2-(2-(2-(2-хлор-6-фторфенил)пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол		МС (ES): 593,3, 595,3 [M+H] ⁺
8	2-(1-(3,3'-Дифтор-4'-гидроксиметил)-5'-метансульфонилбифенил-4-ил)-2-(2-(2-фторфенил)пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол		МС (ES): 559,2 [M+H] ⁺

Соединение 2 имеет следующие характеристики ЯМР: ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,02 (с, 1Н), 7,56-7,49 (м, 1Н), 7,35 (д, J=2,0 Гц, 1Н), 7,12-6,96 (м, 3Н), 6,68 (д, J=8,2 Гц, 1Н), 6,66-6,60 (м, 1Н), 6,56 (с, 1Н), 5,08 (д, J=5,4 Гц, 2Н), 3,36 (с, 1Н), 3,29 (с, 3Н), 2,92 (т, J=7,0 Гц, 1Н), 2,07 (с, 3Н), 1,97 (д, J=2,4 Гц, 3Н), 1,72 (д, J=7,4 Гц, 3Н), 1,59 (с, 6Н).

Соединение 3 имеет следующие характеристики ЯМР: ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,00 (м, 1Н), 7,57 (д, J=2,1 Гц, 1Н), 7,55-7,49 (м, 1Н), 7,13 (с, 1Н), 7,11 (с, 1Н), 7,07 (дд, J=8,3 Гц, 2,1, 1Н), 7,01-6,95 (м, 1Н), 6,81 (д, J=8,3 Гц, 1Н), 6,59 (с, 1Н), 5,09 (д, J=5,4 Гц, 2Н), 3,30 (с, 3Н), 3,26 (м, 1Н), 2,89 (т, J=7,0 Гц, 1Н), 2,06 (с, 3Н), 1,92 (с, 3Н), 1,61 (с, 3Н), 1,59 (с, 3Н).

Соединение 4 имеет следующие характеристики ЯМР:

¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,97 (с, 1Н), 7,47 (дд, J=10,0 Гц, 1,8, 1Н), 7,31-7,20 (м, 2Н), 7,00 (д, J=8,3 Гц, 2Н), 6,92-6,71 (м, 3Н), 6,65 (с, 1Н), 5,08 (дд, J=7,0 Гц, 1,6 Гц, 2Н), 3,29 (с, 3Н), 3,27 (с, 1Н), 2,90 (т, J=7,0 Гц, 1Н), 1,82 (с, 6Н), 1,60 (с, 6Н).

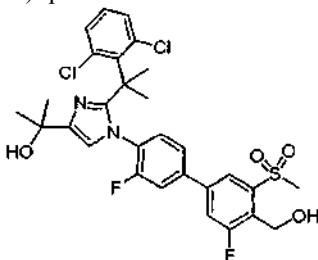
Соединение 5 имеет следующие характеристики ЯМР: ¹Н ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,89-7,90 (м, 1Н), 7,82-7,85 (м, 1Н), 7,52 (д, J=8,6 Гц, 2Н), 7,16 (д, J=8,6 Гц, 2Н), 7,07-7,09 (м, 2Н), 6,94-6,98 (м, 1Н), 6,80 (с, 1Н), 5,55 (т, J=5,2 Гц, 1Н), 4,93-4,95 (м, 2Н), 4,65 (с, 1Н), 3,45 (с, 3Н), 1,96 (с, 6Н), 1,45 (с, 6Н).

Соединение 6 имеет следующие характеристики ЯМР: ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,97 (с, 1Н), 7,46 (дд, J=9,9 Гц, 1,8 Гц, 1Н), 7,23-7,18 (м, 1Н), 7,12 (дд, J=10,3 Гц, 1,9 Гц, 1Н), 6,97 (ддд, J=23,4 Гц, 9,0 Гц, 4,0 Гц, 2Н), 6,88-6,79 (м, 2Н), 6,61 (с, 1Н), 5,08 (д, J=5,4 Гц, 2Н), 3,30 (с, 3Н), 3,27-3,23 (м, 1Н), 2,92 (т, J=6,9 Гц, 1Н), 1,61 (с, 12Н).

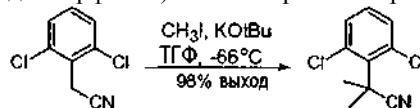
Соединение 7 имеет следующие характеристики ЯМР: ¹Н ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,95-7,90 (м, 2Н), 7,62 (дд, 1Н, J=11 Гц, 1,5 Гц), 7,33 (дд, 1Н, J=9,5 Гц, 1,5 Гц), 7,13-7,08 (м, 3Н), 6,85 (с, 1Н), 6,80-6,70 (м, 1Н), 5,57 (т, 1Н, J=5,3 Гц), 4,95 (д, 2Н, J=4,3 Гц), 4,71 (с, 1Н), 3,47 (с, 3Н), 1,85 (с, 6Н), 1,46 (с, 6Н).

Соединение 8 имеет следующие характеристики ЯМР: ¹Н ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,96-7,90 (м, 2Н), 7,49 (дд, 1Н, J=11 Гц, 1,5 Гц), 7,34 (дд, 1Н, J=9,5 Гц, 1,5 Гц), 7,20-7,10 (м, 1Н), 7,05-6,94 (м, 2Н), 6,90-6,75 (м, 3Н), 5,57 (т, 1Н, J=5,3 Гц), 4,94 (д, 2Н, J=4,3 Гц), 4,70 (с, 1Н), 3,47 (с, 3Н), 1,68 (с, 6Н), 1,47 (с, 6Н).

Пример 9. 2-(2-(2-(2,6-Дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол



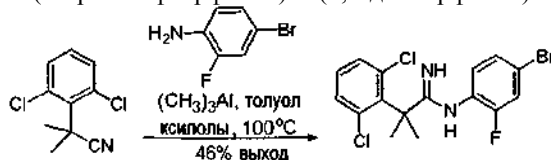
Пример 9а. Получение 2-(2,6-дихлорфенил)-2-метилпропаннитрила



К 1М раствору трет-бутоксид калия (403 мл, 403 ммоль) при -66°C (ацетон/сухой лед) медленно добавляли 2-(2,6-дихлорфенил)ацетонитрил (25,0 г, 134 ммоль) в безводном ТГФ (150 мл). Смесь перемешивали при -66°C в течение 20 мин. Затем по каплям, на протяжении 25 мин при -66°C добавляли йодметан (33,6 мл, 538 ммоль). На данной стадии реакция была экзотермичной, и наблюдалось большое количество светло-желтого осадка. Суспензию перемешивали при -60°C в течение 30 мин. Реакционную смесь гасили 200 мл ледяной воды и экстрагировали простым эфиром (3×150 мл). Органические вещества объединяли, промывали 150 мл солевого раствора, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали в ротормном испарителе. Сырой продукт (30 г, желтого масла) очищали с помощью колоночной хроматографии (ISCO, 330 г кремнезема, 20% EtOAc в гексанах), получая 2-(2,6-дихлорфенил)-2-метилпропаннитрил (28,2 г, 132 ммоль, 98% выход) в виде светлого желтоватого масла.

^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) δ 7,35 (д, 2H, $J=8,03$ Гц), 7,16 (т, 1H, $J=8,0$ Гц), 2,09 (с, 6H); ^{13}C -ЯМР (CDCl_3 , 126 МГц) δ 134,6, 133,8, 131,4, 129,0, 124,1, 38,6, 29,2; МС т/е 214,10 ($\text{M}+\text{H}^+$); HPLC (XBridge 5 μ C18 4,6 \times 50 мм, 4 мл/мин, растворитель А: 10% MeOH/вода с 0,2% H_3PO_4 , растворитель В: 90% MeOH/вода с 0,2% H_3PO_4 , градиент с 0-100% В в течение 4 мин): 3,16 мин.

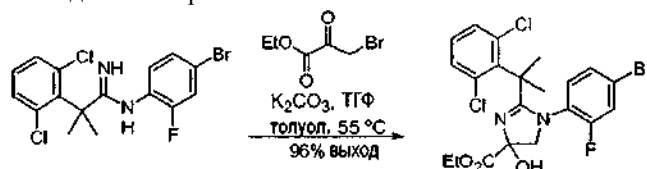
Пример 9b. Получение N-(4-бром-2-фторфенил)-2-(2,6-дихлорфенил)-2-метилпропанамидамида



2-(2,6-Дихлорфенил)-2-метилпропаннитрил (20 г, 93 ммоль) и 4-бром-2-фторанилин (28,4 г, 149 ммоль) растворяли в безводном о-ксилоле (200 мл) и нагревали до 100°C в атмосфере N_2 . На протяжении 2,5 ч по каплям ($\sim 0,9$ мл в минуту) добавляли триметиалюминий (2М) в толуоле (140 мл, 280 ммоль), в то время как реакционную смесь перемешивали при 100°C . После добавления реакционную смесь перемешивали при 100°C в течение 30 мин и затем охлаждали до -5°C . Реакционную смесь очень тщательно гасили тартратом калий натрия (20 г в 100 мл воды) (предостережение: выделение газа и тепла). Реакционную смесь фильтровали через целит 545. Фильтрат промывали 1н. HCl (4×70 мл). Водную фазу нейтрализовали 2н. NaOH и экстрагировали EtOAc (4×100 мл). Органические вещества собирали, промывали солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали в ротормном испарителе, получая 24 г сырого неочищенного продукта. Сырой продукт перекристаллизовывали с 72 мл МТВЕ и 240 мл гексана, получая N-(4-бром-2-фторфенил)-2-(2,6-дихлорфенил)-2-метилпропанамид (17,5 г, 43,3 ммоль, 46,4% выход) в виде белого твердого вещества (чистота: 99%).

^1H ЯМР (MeOD, 400 МГц) δ 7,42 (д, 2H, $J=8,0$ Гц), 7,30 (м, 2H), 7,16 (т, 1H, $J=8,0$ Гц), 6,93 (т, 1H, $J=8,0$ Гц), 2,11 (с, 6H); ^{13}C -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$, 100 МГц) δ 166,5, 156,1, 153,7, 140,6, 138,5, 135,9, 131,4, 128,6, 128,0, 125,7, 119,5, 112,9, 50,0, 29,2; МС т/е 403,09 ($\text{M}+\text{H}^+$); HPLC (XBridge 5 μ C18 4,6 \times 50 мм, 4 мл/мин, растворитель А: 10% MeOH/вода с 0,2% H_3PO_4 , растворитель В: 90% MeOH/вода с 0,2% H_3PO_4 , градиент с 0-100% В в течение 4 мин): 2,32 мин.

Пример 9с. Получение этил 1-(4-бром-2-фторфенил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-4-гидрокси-4,5-дигидро-1H-имидазол-4-карбоксилата

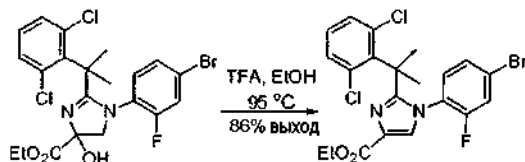


К смеси N-(4-бром-2-фторфенил)-2-(2,6-дихлорфенил)-2-метилпропанамид (48,0 г, 119 ммоль), K_2CO_3 (41,0 г, 297 ммоль) в толуоле (180 мл) и ТГФ (180 мл) при 55°C медленно добавляли раствор этил 3-бром-2-оксoproпаноата (23,3 мл, 166 ммоль) в 24 мл ТГФ на протяжении 50 мин. Реакционную смесь выдерживали при 55°C в течение 1,5 ч. Наблюдалось образование белой суспензии. Реакционную смесь охлаждали до 5°C . По каплям добавляли HCl (0,5н., 450 мл) (конечное значение pH 9~10). После добавления суспензию охлаждали до 0°C . Твердое вещество собирали с помощью фильтрования, промывали водой (2×50 мл) и затем сушили в вакуумной печи при 60°C в течение ночи. Этил 1-(4-бром-2-фторфенил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-4-гидрокси-4,5-дигидро-1H-имидазол-4-карбоксилат (59 г, 114 ммоль, 96% выход) получали в виде белого твердого вещества.

^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц) δ 7,11 (м, 3H), 6,96 (м, 2H), 6,72 (т, 1H, $J=8,28$ Гц), 4,35 (м, 2H), 4,25 (д, 1H, $J=10,5$ Гц), 3,80 (д, 1H, $J=10,8$ Гц), 1,98 (с, 3H), 1,93 (с, 3H), 1,38 (т, 3H, $J=7,03$ Гц); ^{13}C -ЯМР (CDCl_3 ,

126 МГц) δ 173,0, 171,5, 159,8, 157,8, 137,3, 135,7, 132,1, 131,1, 128,1, 127,4, 125,6, 122,2, 120,1, 93,5, 62,5, 45,5, 30,2, 14,0; МС m/e 517,05 ($M+H^+$); HPLC (XBridge 5 μ C18 4,6 \times 50 мм, 4 мл/мин, растворитель А: 10% MeOH/вода с 0,2% H₃PO₄, растворитель В: 90% MeOH/вода с 0,2% H₃PO₄, градиент с 0-100% В в течение 4 мин): 2,74 мин.

Пример 9d. Получение этил 1-(4-бром-2-фторфенил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1H-имидазол-4-карбоксилата

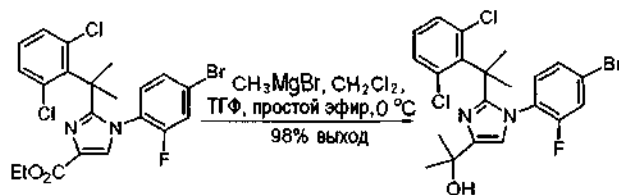


К смеси этил 1-(4-бром-2-фторфенил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-4-гидрокси-4,5-дигидро-1H-имидазол-4-карбоксилата (38 г, 73 ммоль) в EtOH (200 мл) добавляли TFA (25,0 г, 220 ммоль). Смесь затем нагревали до 95°C. Анализ HPLC через 2,5 ч показывал <1% остающегося промежуточного спиртового соединения. Смесь разбавляли 300 мл CH₂Cl₂ и охлаждали примерно до 5°C с помощью ледяной бани. Смесь нейтрализовали 1н. NaOH (120 мл) и органический слой отделяли. Водный слой экстрагировали с помощью CH₂Cl₂ (2 \times 100 мл). Объединенные органические слои концентрировали в роторном испарителе, получая сырой неочищенный материал.

Перекристаллизация из EtOH (5 мл/1 г) давала 32 г этил 1-(4-бром-2-фторфенил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1H-имидазол-4-карбоксилата в виде не совсем белого твердого вещества (86% выход).

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,92 (с, 1H), 7,16 (д, 1H, J=8,0 Гц), 7,22 (м, 3H), 7,11 (м, 1H), 7,04 (т, 1H, J=12,0 Гц), 4,25 (кв, 2H, J=8,0 Гц), 1,94 (с, 6H), 1,27 (т, 3H, J=8,0 Гц); МС m/e 502,68 ($M+H^+$); HPLC (XBridge 5 μ C18 4,6 \times 50 мм, 4 мл/мин, растворитель А: 10% MeOH/вода с 0,2% H₃PO₄, растворитель В: 90% MeOH/вода с 0,2% H₃PO₄, градиент с 0-100% В в течение 4 мин): 3,87 мин.

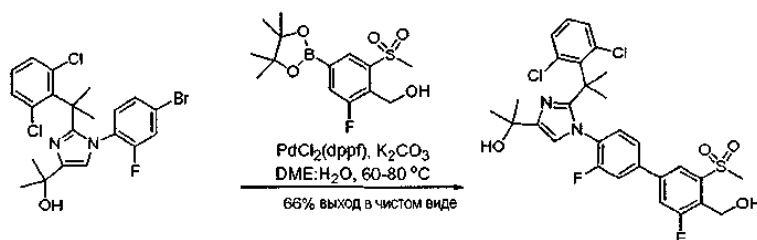
Пример 9е. Получение 2-(1-(4-бром-2-фторфенил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ола



К смеси бромида метилмагния (60,0 мл, 180 ммоль, 3М в простом эфире) в 120 мл ТГФ, охлажденной в ледно/солевой бане (от -15 до -17°C) медленно, на протяжении 45 мин, добавляли раствор этил 1-(4-бром-2-фторфенил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1H-имидазол-4-карбоксилата (30 г, 60 ммоль) в 65 мл CH₂Cl₂ и 87 мл ТГФ. Внутреннюю температуру поддерживали строго ниже 0°C. Далее для промывки остаточного материала использовали CH₂Cl₂ 2 \times 20 мл. Температуру реакционной смеси поддерживали ниже 0°C при перемешивании в течение 1 ч. Затем реакционную смесь разбавляли 100 мл CH₂Cl₂, и медленно добавляли насыщенный раствор NH₄Cl. Полученную смесь экстрагировали CH₂Cl₂ (2 \times 80 мл). Органические вещества объединяли, промывали соевым раствором, сушили Na₂SO₄ и концентрировали на роторном испарителе, получая 2-(1-(4-бром-2-фторфенил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол (28,5 г, 58,6 ммоль, 98% выход) в виде белого твердого вещества.

¹H-ЯМР (CDCl₃, 400 МГц) δ 7,13 (дд, 1H, J=9,03 Гц, 2,01 Гц), 7,09 (с, 1H), 7,07 (с, 1H), 6,93 (м, 2H), 6,75 (т, 1H, J=8,16 Гц), 6,55 (с, 1H), 3,18 (с, 1H), 2,00 (с, 6H), 1,58 (с, 6H); ¹³C-ЯМР (CDCl₃, 126 МГц) δ 158,1, 156,1, 154,5, 147,8, 139,3, 135,7, 131,3, 130,3, 127,8, 126,9, 122,7, 119,8, 115,1, 68,7, 44,8, 31,1, 29,9; МС m/e 485,05 ($M+H^+$); HPLC (XBridge 5 μ C18 4,6 \times 50 мм, 4 мл/мин, растворитель А: 10% MeOH/вода с 0,2% H₃PO₄, растворитель В: 90% MeOH/вода с 0,2% H₃PO₄, градиент с 0-100% В в течение 4 мин): 2,78 мин.

Пример 9. Получение 2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ола



В 1-литровую 3-горлую круглодонную колбу в среде азота добавляли 2-(1-(4-бром-2-фторфенил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол (12,0 г, 24,7 ммоль), [2-фтор-6-метансульфонил-4-(4,4,5,5-тетраметил-[1,3,2]диоксаборолан-2-ил)фенил]метанол (9,78 г, 29,6 ммоль), K_2CO_3 (10,2 г, 74 ммоль), DME (120 мл) и воду (12 мл). Смесь нагревали до 60°C , а затем в среде азота добавляли комплекс 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроценпалладий(II) хлорида (4,06 г, 4,94 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 80°C в течение 30 мин. Полученную темно-окрашенную смесь охлаждали с помощью ледяной бани и распределяли в 200 мл CH_2Cl_2 и 200 мл воды. Органические слои объединяли и сушили с помощью Na_2SO_4 . После концентрирования сырой неочищенный продукт очищали с помощью флэш-хроматографии (ISCO, 330 г кремнезема, 0-100% EtOAc в гексанах), получая 12,79 г сырого продукта (85% выход) в виде светло-желтого твердого вещества.

Перекристаллизацию проводили путем растворения 9,5 г сырого неочищенного продукта в ацетоне (80 мл) при 65°C . Полученный раствор медленно охлаждали до 25°C в течение 5 ч, а затем охлаждали до 0°C в течение дополнительных 30 мин. При 45°C начинали образовываться кристаллы. Твердое вещество собирали с помощью фильтрования и орошали холодным ацетоном. После высушивания в печи при 45°C в вакууме в течение 14 ч, получали 4,9 г чистого продукта. Для извлечения дополнительного кристаллического продукта, маточную жидкость концентрировали примерно до 10 мл и пропускали через слой кремнезема. Для элюирования соединения использовали EtOAc (100 мл). Фильтрат концентрировали в вакууме, получая сырое неочищенное твердое вещество. Сырое вещество перекристаллизовывали в ацетоне, следуя предыдущей процедуре и получая дополнительные 2,5 г продукта. Объединенный выход за два раза после перекристаллизации составил 78% выход.

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,94 (м, 2H), 7,63 (дд, 1H, $J=11,29$ Гц, 1,51 Гц), 7,34 (д, 1H, $J=9,54$ Гц), 7,14 (м, 3H), 7,05 (м, 1H), 6,83 (с, 1H), 5,58 (т, 2H, $J=5,27$ Гц), 4,96 (д, 2H, $J=4,27$ Гц), 4,70 (с, 1H), 3,46 (с, 3H), 1,96 (с, 6H), 1,45 (с, 6H); МС m/e 609,16 ($\text{M}+\text{H}^+$); HPLC (XBridge 5μ C18 $4,6\times 50$ мм, 4 мл/мин, растворитель А: 10% MeOH/вода с 0,2% H_3PO_4 , растворитель В: 90% MeOH/вода с 0,2% H_3PO_4 , градиент с 0-100% В в течение 4 мин): 2,56 мин.

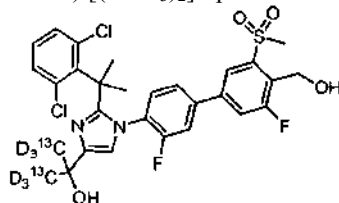
Альтернативно, соединение примера 9 получали следующим образом.

В 1-литровую 3-горлую круглодонную колбу в среде азота добавляли метилтетрагидрофуран (MeTHF, 6,9 кг), 2-(1-(4-бром-2-фторфенил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол (1,994 кг, 4,1 моль) и (2-фтор-6-(метансульфонил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенил)метанол (1,38 кг, 4,19 моль). Смесь встряхивали при 23°C в течение 15 мин, пока все твердые вещества не растворялись. По завершении данного периода добавляли (оксиди-2,1-фенилен)бис(дифенилфосфин) (0,22 кг, 0,041 моль) и $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0,01 кг, 0,045 моль) в виде суспензии через линию поверхности. После завершения добавления смесь орошали дополнительно MeTHF (1,65 кг). Из полученной смеси откачивали воздух до менее чем 80 Торр и заполняли азотом. Данный процесс повторяли еще два раза. После завершения дегазирующих последовательностей реакционную смесь встряхивали в течение по крайней мере 15 мин, и наблюдался прозрачный золотистый цвет. В отдельной реакционной емкости приготавливали раствор гидроксида калия (0,352 кг) в воде (10,00 кг) и дегазировали путем продувки раствора газообразным азотом в течение по крайней мере 15 мин перед использованием. Раствор КОН (10,35 кг) переносили в реактор в условиях вакуума. Температура реакции проявляла известную экзотермию от 20 до 29°C . По завершении добавления полученную двухфазную смесь дегазировали путем серии изменений давления. Смесь подогревали до температуры между $45-50^\circ\text{C}$, при которой ее перемешивали по крайней мере 2 ч. После этого реакционную смесь подвергали анализу с помощью HPLC, который показывал, что реакция завершена. Реакционную смесь охлаждали до 23°C и перемешивание прекращали. Смесь оставляли для разделения в течение 30 мин и нижний поток отработанного КОН удаляли. Органическую фазу, богатую продуктом, пропускали через колонку из силикагеля, функционализируемого тиомочевинной (0,782 кг) (Silicycle) при $\sim 0,1$ кг/мин для удаления палладия. Органическую фазу, богатую продуктом, промывали 5% раствором NaHCO_3 (5 об.), и фазы разделяли. Органическую фазу промывали водой (5 об.) и органическую и водную фазы разделяли.

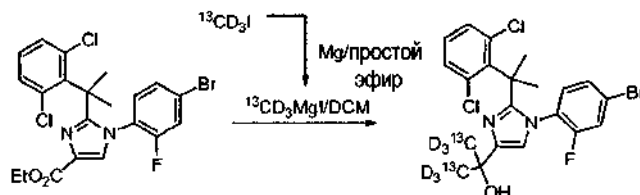
Органическую фазу, богатую продуктом, окончательно фильтровали в чистую реакционную емкость и затем концентрировали до ~ 8 об. (~ 16 л) в вакууме (80 Торр, $T_{\text{jacket}}=60^\circ\text{C}$). При достижении назначенного объема реакционной смеси давали охладиться до 25°C . При достижении назначенной температуры реакционную смесь затравливали 2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-олом (0,5%, 0,008 кг).

Полученную суспензию перемешивали при 25°C в течение примерно 18 ч. По завершении данного периода реакцию смесь концентрировали до ~8 л в вакууме (80 мм рт.ст., T_{jacket}=60°C). При достижении назначенного объема реакцию смесь нагревали до 50°C и в реактор на протяжении периода 90 мин добавляли изопропилацетат (IPAc, 13,90 кг). После завершения добавления реакцию смесь охлаждали до 25°C на протяжении периода 3 ч. При достижении назначенной температуры реакцию смесь перемешивали при комнатной температуре в течение примерно 16 ч. По завершении данного периода реакцию смесь фильтровали, удаляли жидкую фракцию и промывали дополнительно IPAc (10,4 кг). Фильтратную лепешку сушили с помощью откачки на фильтре в струе сухого азота, получая белое твердое вещество. Белое твердое вещество переносили в сушильное устройство и сушили при 50°C в абсолютном вакууме, получая 2,03 кг продукта (81% выход, 99,40 AP, 98 вес.%).

Пример 10. 2-(2-(2-(2,6-Дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил) [(¹³CD₃)₂]пропан-2-ол



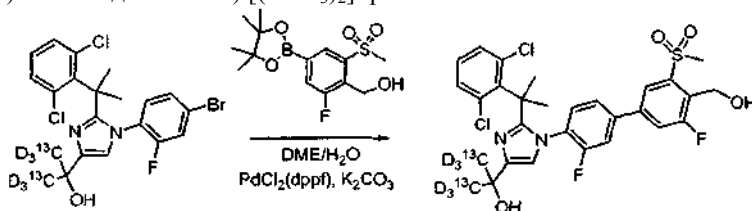
Получение 2-(1-(4-бром-2-фторфенил)-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1H-имидазол-4-ил) [(¹³CD₃)₂]пропан-2-ола



Высушенный в печи магний (86 мг, 3,52 ммоль) и безводный диэтиловый эфир (3,20 мл) переносили в высушенную в печи 25 мл 14/20 круглодонную колбу в среде аргона. При комнатной температуре добавляли [(¹³CD₃)₂]-йодметан (467 мг, 3,20 ммоль) и перемешивали при 33°C в течение 1 ч. Визуальные сигналы указывают, что образовывался реагент Гриньяра (прозрачная суспензия изменялась на мутную смесь с образованием пены и экзотермией). Раствор охлаждали до комнатной температуры и переносили с помощью пипетки в охлажденный раствор (водно/ледяная баня) этил 1-(4-бром-2-фторфенил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1H-имидазол-4-карбоксилата (400 мг, 0,800 ммоль) в безводном дихлорметане (2,60 мл) в среде аргона. Колбу, в которой приготавливали реагент Гриньяра, орошали безводным простым эфиром (2×400 мкл) и переносили с помощью пипетки в колбу, содержащую этиловый эфир. Реакционной смеси давали медленно нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 ч. HPLC анализ показывал, что присутствовало <0,3% исходного материала. Реакционную смесь охлаждали до 0°C, разбавляли безводным дихлорметаном (800 мкл) и гасили путем медленного, осторожного добавления насыщенного водного раствора хлорида аммония (8 мл). Два слоя разделяли и водный слой экстрагировали дихлорметаном (3×4 мл). Объединенные органические экстракты концентрировали в вакууме, получая 443,5 мг сырого продукта в виде белого твердого вещества. Сырой продукт, описанный выше, объединяли с 244,3 мг (белого твердого вещества), полученного из аналогичной реакции. Объединенный продукт очищали с помощью силикагельной флэш-хроматографии (Isco RediSep картридж, 12 г) и элюировали 10-20% EtOAc в гексане. Собирали 30 мл фракций. Фракции проверяли с помощью TLC (кремнезем, 50% EtOAc, 50% гексан, R_f=0,41) и HPLC. Чистые продуктосодержащие фракции объединяли и концентрировали в вакууме, получая 531,2 мг продукта в виде белого твердого вещества (90% выход).

¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ м.д. 6,47-7,58 (м, 7H), 2,01 (ушир.с, 6H). HPLC: (YMC ODS-AQ, 3 мкм, 150×4,6 мм, подвижная фаза A=0,05% TFA в H₂O, подвижная фаза B=0,05% TFA в ACN, 0 мин 50% B, 9 мин 95% B, 15 мин 95% B, 15,5 мин 50% B. Скорость потока = 1 мл/мин) T_r=9,23 мин (при 220 нм, химическая чистота = 98,8%) LCMS (+ ион) m/z=487 (0%), 493 (59%), 495 (100%), 497 (47%), 498 (8%).

Получение 2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил) [(¹³CD₃)₂]пропан-2-ола



В 25 мл 14/20 круглодонную колбу в среде аргона добавляли 2-(1-(4-бром-2-фторфенил)-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил)[($^{13}\text{CD}_3$) $_2$] пропан-2-ол (0,283 г, 0,572 ммоль), (2-фтор-6-(метилсульфонил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)фенил)метанол (0,227 г, 0,686 ммоль), дихлорметановый комплекс 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен-палладий(II)дихлорида (0,094 г, 0,114 ммоль), карбонат калия (0,237 г, 1,716 ммоль), DME (4,30 мл) и воду (0,215 мл), которую предварительно продували аргоном. Смесь нагревали до 80°C в течение 1 ч. Анализы HPLC и LCMS показывали, что исходный материал был израсходован. Реакционную смесь охлаждали с помощью бани лед-вода, разделяли между дихлорметаном (10 мл) и водой (10 мл). Водный слой экстрагировали дихлорметаном (3×10 мл). Объединенные органические экстракты концентрировали в вакууме, получая 643,6 мг темного полутвердого вещества.

Предварительно завершалась аналогичная реакция для приготовления 2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) [($^{13}\text{CD}_3$) $_2$]пропан-2-ола, которая давала 462,3 мг темного твердого вещества. Сырые неочищенные продукты от обеих экспериментальных процедур объединяли и очищали с помощью силикагельной флэш-хроматографии (Isco RediSep картридж, 80 г) после растворения в дихлорметане и предварительного абсорбирования на силикагель. Флэш-колонку элюировали 25-50% EtOAc в гексане. Собирали 30 мл фракций. Фракции проверяли с помощью TLC (кремнезем, 50% EtOAc, 50% гексан, R_f =0,09) и HPLC перед объединением чистых продуктосодержащих фракций и концентрированием в вакууме с получением 468,3 мг 2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) [($^{13}\text{CD}_3$) $_2$] пропан-2-ола в виде желтого твердого вещества.

Данный материал затем очищали с помощью перекристаллизации в ацетоне (4 мл) при 65°C, медленно охлаждали до 25°C на протяжении 5 ч (кристаллы начинали образовываться при 40°C), затем охлаждали до 0°C в течение дополнительных 30 мин. Твердые вещества собирали с помощью фильтрования, орошали холодным ацетоном и сушили в вакууме, получая 66,2 мг целевого продукта в виде не совсем белого твердого вещества.

Маточный раствор от этой первой перекристаллизации концентрировали и остаток перекристаллизовывали из минимального количества ацетона (1 мл) с использованием той же процедуры, изложенной выше, получая вторую порцию 276,4 мг кристаллического продукта в виде не совсем белого твердого вещества.

Маточный раствор от второй перекристаллизации концентрировали и очищали с помощью препаративной HPLC, T_r =15,0 мин (условия препаративной HPLC: колонка Synergy Hydro-RP, 4μ, 80Å, 21,2×250 мм, подвижная фаза A=H $_2$ O, подвижная фаза B=ACN, 0 мин 30% B, 25 мин 100% B. Скорость потока 16,0 мл/мин, УФ при 220 нм).

Три чистых изолята объединяли, получая 401,1 мг 2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) [($^{13}\text{CD}_3$) $_2$]пропан-2-ола в виде бледно-желтого твердого вещества (64% выход).

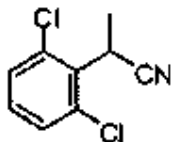
^1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ м.д. 7,86-7,96 (м, 2H), 7,62 (дд, J =11,33 Гц, 2,01 Гц, 1H), 7,33 (дд, J =8,31 Гц, 1,76 Гц, 1H), 7,09-7,19 (м, 3H), 6,99-7,09 (м, 1H), 6,81 (с, 1H), 5,53-5,62 (м, 1H), 4,89-4,99 (м, 2H), 4,67 (т, J =3,15 Гц, 1H), 3,45 (с, 3H), 2,08 (остаточный ацетон, 8 мол.%), 1,95 (с, 6H). ^{13}C -ЯМР (400 МГц, d_6 -DMSO) 29,61 (т, J =109,88 Гц). HPLC: (YMC ODS-AQ, 3 мкм, 150×4,6 мм, подвижная фаза A=0,05% TFA в H $_2$ O, подвижная фаза B=0,05% TFA в ACN, 0 мин 50% B, 9 мин 95% B, 15 мин 95% B, 15,5 мин 50% B. Скорость потока=1 мл/мин) T_r =9,66 мин (при 220 нм, химическая чистота=99,8%) LCMS (+ ион) m/z =609 (0%), 617 (100%), 618 (31%), 619 (74%), 620 (22%), 621 (16%), 622 (4,3%), 623 (1,3%).

Примеры 11-20.

Следующие соединения были получены способом, аналогичным тому, который описан в примере 1, с использованием различных фенилацетонитрильных реагентов вместо 2-(фенил)-2-метилпропаннитрилов в качестве исходных материалов:

№	Название	Структура	Данные
11	2-(2-(2,4-дихлорбензил)-1-(3,3'-дифтор-4'-гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил] пропан-2-ол		MC (ES): 581, 3, 583, 3 [M+H] ⁺
12	2-(1-(3,3'-дифтор-4'-гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-(трифторметил) бензил)-1H-имидазол-4-ил] пропан-2-ол		MC (ES): 581, 3 [M+H] ⁺
13	2-(1-(3-хлор-3'-фтор-4'-гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-хлор-4-фторбензил)-1H-имидазол-4-ил] пропан-2-ол		MC (ES): 581, 3, 583, 3 [M+H] ⁺
14	2-(2-(2-хлор-4-фторбензил)-1-(3,3'-дифтор-4'-гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил] пропан-2-ол		MC (ES): 565, 3 [M+H] ⁺
15	2-(2-(2,4-дихлорбензил)-1-(3'-фтор-4'-гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил] пропан-2-ол		MC (ES): 563, 2, 565, 2 [M+H] ⁺
16	2-(1-(3,3'-дифтор-4'-гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-фторбензил)-1H-имидазол-4-ил] пропан-2-ол		MC (ES): 531, 2 [M+H] ⁺
17	2-(1-(3'-фтор-4'-гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-метилбензил)-1H-имидазол-4-ил] пропан-2-ол		MC (ES): 509, 5 [M+H] ⁺ ; 531, 2 [M+Na] ⁺
18	2-(2-(2,6-дихлорбензил)-1-(3'-фтор-4'-гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил] пропан-2-ол		MC (ES): 586, 5 [M+H] ⁺
19	2-(2-(2-хлор-5-фторбензил)-1-(3'-фтор-4'-гидроксиметил)-5'-метансульфонилбифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил] пропан-2-ол		MC (ES): 547, 3 [M+H] ⁺
20	2-[2-(2-хлорбензил)-1-(3,3'-дифтор-4'-гидроксиметил)-5'-метансульфонилбифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил] пропан-2-ол		MC (ES): 547, 3, [M+H] ⁺

Пример 21. Пример для соединения 21



В 1-л колбу отвешивали 25,0 г (134 ммоль) 2,6-дихлорфенилацетонитрила и 250 мл безводного ТГФ. Полученный раствор охлаждали до -70°C и добавляли 134 мл 1,0М трет-бутоксид калия (1,0М) в ТГФ с последующим добавлением 8,4 мл йодметана (1,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали при -70°C в течение 1 ч, затем давали нагреться до комнатной температуры в течение 3 ч. Реакционную смесь концентрировали в вакууме для удаления ТГФ, затем промывали в разделительной воронке этилацетатом и 1М HCl. Этилацетат отделяли, промывали бисульфитом, соевым раствором, сушили (Na_2SO_4) и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью силикагельной флэш-хроматографии (Biotage, 300 г SiO_2 , градиент элюирования от 100% гексаны до 10% этилацетат на протяжении 1 ч). Соответствующие фракции объединяли и концентрировали в вакууме, получая желаемый продукт в виде бесцветного масла, ~99% чистоты по GC, выход: 12,2 г (45%).

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,36 (д, $J=8$ Гц, 2H), 7,22 (т, $J=8$ Гц, 1H), 4,84 (кв, $J=7$ Гц, 1H), 1,07 (д, $J=7$ Гц, 3H).

Соединение 21 получали способом, аналогичным тому, который описан в примере 1, с использованием соответствующего анилина и 2-(фенил)пропаннитрила в качестве исходного материала:

№	Название	Структура	Данные
21	2-(2-(1-(2, 6-дихлорфенил)этил)-1-[3, 3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил]-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол		

Соединение 11 имеет следующие характеристики ЯМР:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,10 (д, $J=1,2$ Гц, 1H), 7,59 (дд, $J=9,9$ Гц, 1,8 Гц, 1H), 7,47-7,37 (м, 2H), 7,24 (дд, $J=5,3$ Гц, 3,2 Гц, 2H), 7,13 (дд, $J=8,3$ Гц, 2,1 Гц, 1H), 7,05 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 6,89 (с, 1H), 5,10 (д, $J=4,4$ Гц, 2H), 4,09 (с, 2H), 3,30 (с, 3H), 3,25 (д, $J=17,4$, 1H), 2,86 (с, 1H), 1,63 (с, 6H).

Соединение 12 имеет следующие характеристики ЯМР:

^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,06 (д, $J=8,7$ Гц, 2H), 7,99-7,86 (м, 1H), 7,70 (д, $J=8,3$ Гц, 1H), 7,58 (м, 3H), 7,40 (т, $J=7,6$ Гц, 1H), 7,21 (д, $J=7,7$ Гц, 1H), 7,13 (с, 1H), 5,57 (т, $J=5,3$ Гц, 1H), 4,95 (д, $J=4,7$ Гц, 2H), 4,81 (с, 1H), 4,13 (с, 2H), 3,45 (с, 3H), 1,46 (с, 6H).

Соединение 13 имеет следующие характеристики ЯМР:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,10 (с, 1H), 7,71 (д, $J=2,0$ Гц, 1H), 7,60 (дд, $J=9,9$ Гц, 1,8 Гц, 1H), 7,49 (дд, $J=8,2$ Гц, 2,1 Гц, 1H), 7,22 (д, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,12 (дд, $J=8,6$ Гц, 6,1 Гц, 1H), 6,96 (дд, $J=8,5$ Гц, 2,6 Гц, 1H), 6,89-6,78 (м, 2H), 5,10 (с, 2H), 4,05 (с, 2H), 3,31 (с, 3H), 3,00 (с, 1H), 2,77 (с, 1H), 1,63 (2, $J=5,5$ Гц, 6H).

Соединение 14 имеет следующие характеристики ЯМР:

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 7,85 (т, $J=4,5$ Гц, 2H), 7,70 (дд, $J=11,4$ Гц, 1,8 Гц, 1H), 7,50 (дд, $J=8,3$ Гц, 1,7 Гц, 1H), 7,35 (т, $J=8,2$ Гц, 1H), 7,09 (дд, $J=8,8$ Гц, 2,6 Гц, 1H), 7,03-6,80 (м, 3H), 5,35 (т, $J=5,3$ Гц, 1H), 4,73 (д, $J=4,1$ Гц, 2H), 4,56 (с, 1H), 3,80 (с, 2H), 3,38 (т, $J=6,4$ Гц, 1H), 3,23 (с, 3H), 1,21 (с, 6H).

Соединение 15 имеет следующие характеристики ЯМР:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,11 (д, $J=1,2$ Гц, 1H), 7,72-7,53 (м, 3H), 7,28 (дд, $J=18,0$ Гц, 4,9 Гц, 5H), 7,15 (дд, $J=8,3$ Гц, 2,1 Гц, 1H), 7,05 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 6,96 (с, 1H), 5,09 (с, 2H), 4,12 (с, 2H), 3,30 (с, 3H), 3,28 (с, 1H), 2,93 (с, 1H), 1,64 (с, 6H).

Соединение 16 имеет следующие характеристики ЯМР:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,09 (с, 1H), 7,60 (дд, $J=9,9$ Гц, 1,8 Гц, 1H), 7,39 (м, 2H), 7,23 (т, $J=8$ Гц, 1H), 7,18-7,06 (м, 2H), 7,00 (м, 1H), 6,89-6,81 (м, 2H), 5,10 (дд, $J=7,0$ Гц, 1,6 Гц, 2H), 4,06 (с, 2H), 3,30 (с, 3H), 2,92 (т, $J=7,0$ Гц, 1H), 2,70 (с, 1H), 1,64 (с, 6H).

Соединение 17 имеет следующие характеристики ЯМР:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,10 (с, 1H), 7,64-7,55 (м, 3H), 7,25 (м, 2H), 7,16-7,00 (м, 3H), 6,92 (с, 1H), 6,81 (д, $J=7,5$ Гц, 1H), 5,08 (дд, $J=7,1$ Гц, 1,7 Гц, 2H), 4,02 (с, 2H), 3,28 (с, 3H), 2,90 (т, $J=7,1$ Гц, 1H), 2,76 (с, 1H), 2,16 (д, $J=8,6$ Гц, 3H), 1,64 (с, 6H).

Соединение 18 имеет следующие характеристики ЯМР:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,12 (с, 1H), 7,70-7,59 (м, 3H), 7,45 (д, $J=8,4$ Гц, 2H), 7,24 (д, $J=8,0$ Гц, 2H), 7,16-7,07 (м, 1H), 6,85 (с, 1H), 5,10 (д, $J=5,6$ Гц, 2H), 4,31 (с, 2H), 3,30 (с, 3H), 3,07 (с, 1H), 2,94 (т, $J=7,0$ Гц, 1H), 1,55 (с, 6H).

Соединение 19 имеет следующие характеристики ЯМР:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,11 (д, $J=1,1$ Гц, 1H), 7,62 (ддд, $J=12,0$ Гц, 8,4 Гц, 1,8 Гц, 3H), 7,28-7,26 (м, 3H), 6,97 (с, 1H), 6,93-6,76 (м, 2H), 5,09 (с, 2H), 4,14 (с, 2H), 3,29 (ушир.с, 4H), 2,91 (с, 1H), 1,65 (с, 6H).

Соединение 20 имеет следующие характеристики ЯМР:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 8,08 (д, $J=1,1$ Гц, 1H), 7,57 (дд, $J=9,9$ Гц, 1,8 Гц, 1H), 7,38 (ддд, $J=10,3$ Гц, 9,2 Гц, 2,0 Гц, 2H), 7,23-7,17 (м, 2H), 7,18-7,01 (м, 3H), 6,89 (д, $J=0,7$ Гц, 1H), 5,09 (с, 2H), 4,14 (с, 2H), 3,37 (с, 1H), 3,30 (с, 3H), 2,92 (с, 1H), 1,64 (с, 6H).

Соединение 21 имеет следующие характеристики ЯМР:

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,97 (с, 1H), 7,47 (дд, $J=9,8$ Гц, 1,6 Гц, 1H), 7,18 (д, $J=10,6$ Гц, 1H), 7,12-7,04 (м, 2H), 6,96 (д, $J=7,9$ Гц, 2H), 6,90-6,81 (м, 1H), 6,79 (с, 1H), 5,13 (с, 2H), 4,94 (кв, $J=7,0$ Гц, 1H), 3,82 (с, 1H), 3,39 (д, $J=24,5$ Гц, 1H), 3,36 (с, 3H), 1,81 (д, $J=7,1$ Гц, 3H), 1,63 (с, 6H).

Стандартные физиологические, фармакологические и биохимические процедуры доступны для испытания соединений для определения тех, которые проявляют биологические воздействия, которые модулируют активность LXR α (LXR α и LXR β). Такие анализы включают, например, биохимические анализы, такие как анализы связывания, флуоресцентной поляризации, анализы пополнения соактиватора на основе FRET (см., в общем, Glickman et al., J. Biomolecular Screening (2002), vol. 7, № 1, pp. 3-10), а также анализы на основе клеток, включающие анализ сотрансфекции, использование LBD-Gal 4 химер и анализы взаимодействия белок-белок (см., Lehmann, et al., J. Biol. Chem. (1997), vol. 272, № 6, pp. 3137-3140).

Соединения настоящего изобретения показывают неожиданные преимущества над описанными ранее соединениями уровня техники, такими как соединения, описанные в РСТ публикации № WO 2007/002563. В анализах, таких как описаны ниже, было показано, что настоящие соединения имеют желаемый характер частичных агонистов LXR с повышенной силой действия в цельной крови человека и низкой LXR α эффективностью. В дополнение, соединения настоящего изобретения проявляют также метаболическую стабильность в микросомном анализе печени человека. Такие соединения должны быть более полезными в лечении, ингибировании или смягчении одного или более заболеваний или расстройств, которые описаны здесь.

Пример А. Анализ сцинтилляционной близости (SPA).

В SPA анализе проводятся измерения радиоактивного сигнала, генерируемого связыванием ^3H -24,25-эпоксихолестерина с LXR α -RXR α или LXR β -RXR α гетеродимерами. Основой анализа является использование SPA шариков, содержащих сцинтиллятор такой, который при связывании с рецептором несет меченый лиганд в близость с шариками, энергия от метки стимулирует сцинтиллятор излучать свет. Свет измеряют с использованием стандартного микропластинчатого сцинтилляционного счетчика. Способность лиганда связывать рецептор может быть измерена с помощью оценки степени, с которой соединение может конкурировать с радиомеченым лигандом с известным сродством с рецептором.

Требуемые материалы.

1. Меченый лиганд: ^3H -24,25-эпоксихолестерин (NEN Life Science Products/Perkin Elmer).
2. LXR α лизат: экспрессируемый бакуловирусом LXR α /RXR гетеродимер вместе с 6-HIS-tag, продуцируемой в виде сырого лизата.
3. LXR β лизат: экспрессируемый бакуловирусом LXR β /RXR гетеродимер вместе с 6-HIS-tag, продуцируемой в виде сырого лизата.
4. SPA шарики: Ysi медь HIS-tag SPA шарики (Amersham).
5. Планшета: 384-луночная планшета с несвязывающей поверхностью (Corning).
6. Буфер для разведения белкового лизата: (20 mM Трис-HCl pH 7,9, 500 mM NaCl, 5 mM имидазол).
7. 2× SPA буфер: (40 mM $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ pH 7,3, 100 mM NaCl, 0,05% Tween 20, 20% глицерин, 4 mM EDTA).
8. 2× SPA буфер без EDTA: (40 mM $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ pH 7,3, 100 mM NaCl, 0,05% Tween 20, 20% глицерин).

Исходные растворы.

0,5M $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ pH 7,3

0,5M EDTA pH 8,0

5M NaCl

10% Tween-20

Глицерин

Получение белковых лизатов.

Бакуловирусные экспрессионные плазмиды для человеческого RXR α (accession № NM_002957), LXR α (accession № U22662) и LXR β (accession № U07132) получали клонированием соответствующих кДНК полной длины в pBacPakhis2 вектор (Clontech, CA), следуя стандартным процедурам. Инсерция кДНК в pBacPakhis2 векторный полилинкер, создаваемый при слиянии в рамке считывания кДНК с N-концевой поли-His-tag, присутствующей в pBacPakhis1. Правильное клонирование подтверждали рестрикционным картированием и/или секвенированием.

Клеточные лизаты приготавливали инфицированием здоровых клеток Sf9 насекомых при плотности приблизительно $1,25 \times 10^6$ /мл при 27°C, в полном объеме 500 мл на 1 л центрифужные стаканы при культивировании в стандартных условиях. Для приготовления LXR $_{\alpha}$ лизата, клетки насекомых соинфицировали LXR $_{\alpha}$ экспрессионной кассетой при М.О.И. 2,0 и RXR экспрессионной кассетой при М.О.И. приблизительно 1,0. Для приготовления LXR $_{\beta}$ лизата клетки насекомых соинфицировали LXR $_{\beta}$ экспрессионной кассетой при М.О.И. приблизительно 2,0 и RXR экспрессионной кассетой при М.О.И. приблизительно 1,0. В обоих случаях клетки инкубировали в течение 48 ч при 27°C при постоянном встряхивании перед сбором.

После инкубирования клетки собирали центрифугированием и гранулировали. Гранулы клеток повторно суспендировали в двух объемах охлажденного льдом свежеприготовленного экстракционного буфера (20 mM Трис pH 8,0, 10 mM имидазола, 400 mM NaCl, содержащего одну таблетку EDTA ингибитора свободной протеазы (Roche Catalog № 1836170) на 10 мл экстракционного буфера).

Клетки медленно гомогенизировали на льду с использованием гомогенизатора Dounce с достижением 80-90% лизиса клеток. Гомогенат центрифугировали в предварительно охлажденном роторе (Ti50, или Ti70, или эквивалент) при 45000 об/мин в течение 30 мин при 4°C. Аликвоты супернатанта замораживали на сухом льду и хранили замороженными при -80°C до количественного определения и контроля качества. Аликвоты лизатов испытывали в SPA анализе для гарантии от партии к партии, и с помощью SDS-PAGE анализа после очистки с использованием Ni-NTA смолы (Qiagen) и перед использованием в анализах скрининга выверяли уровни концентрации белка и экспрессии.

Получение скрининговых реагентов.

Раствор [3 H]24,25-эпоксихолестерина (EC): на одну 384-луночную планшету (или 400 лунок) 21 мкл [3 H] EC (удельная активность 76,5 Ci/ммол., концентрация 3,2 MCi/мл) добавляли к 4,4 мл 2× SPA буфера с обеспечением конечной концентрации 200 nM. На каждую дополнительную 384-луночную планшету дополнительные 19,1 мкл [3 H] EC добавляли к 4,0 мл дополнительного 2× SPA буфера. Конечная концентрация [3 H] EC в лунке составляла 50 nM.

LXR $_{\alpha}$ лизат (приготовленный, как описано выше) разбавляли буфером для разведения белкового лизата. На 384-луночную планшету (или 200 лунок) приготавливали 1400 мкл разбавленного LXR $_{\alpha}$ лизата и 1120 мкл разбавленного LXR $_{\alpha}$ лизата приготавливали на каждую дополнительную 384-луночную планшету.

LXR $_{\beta}$ лизат (приготовленный, как описано выше) разводили буфером для разбавления белкового лизата. На 384-луночную планшету (или 200 лунок) приготавливали 1400 мкл разбавленного LXR $_{\beta}$ лизата и 1120 мкл разбавленного LXR $_{\beta}$ лизата приготавливали на каждую дополнительную 384-луночную планшету.

Раствор SPA шариков: для 384-луночной планшеты (или 400 лунок) смешивали вместе 3,75 мл 2× SPA буфера без EDTA, 2,25 мл воды и 1,5 мл Ysi His-tag SPA шариков (перед взятием хорошо встряхивали) смешивали вместе. На каждую дополнительную 384-луночную планшету смешивали вместе дополнительно 3,5 мл 2× SPA буфера без EDTA, 2,1 мл воды и 1,4 мл Ysi His-tag SPA шариков.

Процедура.

Соответствующие разбавления каждого соединения подготавливали на 96-луночной планшете и пипеткой добавляли в соответствующие лунки 384-луночной планшеты в количестве 3,5 мкл на лунку.

9,1 мкл [3 H] EC добавляли в каждую лунку колонки 2-23 многолуночной планшеты.

5 мкл разбавленного LXR $_{\alpha}$ лизата добавляли в каждую лунку колонки 2-23 в нечетные ряды многолуночной планшеты.

5 мкл разбавленного LXR $_{\beta}$ лизата добавляли в каждую лунку колонки 2-23 в четные ряды многолуночной планшеты.

17,5 мкл раствора SPA шариков добавляли в каждую лунку колонки 2-23 многолуночной планшеты.

Планшеты накрывали прозрачным уплотнителем и помещали в инкубатор при температуре окружающей среды приблизительно на 30 мин.

После инкубации планшеты анализировали с использованием люминесцентного пластинчатого считывателя (MicroBeta, Wallac) с использованием программы n ABASE 3H_384 DPM. Настройка для n ABASE 3H_384 DPM была

способ подсчета: DPM;

тип пробы (образца): SPA;

ParaLux способ: низкий фон;

время подсчета: 30 с.

Анализ на LXR $_{\alpha}$ и LXR $_{\beta}$ осуществляли идентичным образом. Определяемый показатель Ki представляет среднее по крайней мере двух независимых экспериментов ответной реакции на дозу. Сродство связывания для каждого соединения можно определить с помощью анализа нелинейной регрессии с использованием формулы конкуренции одного сайта для определения IC $_{50}$, где

$$Y = \text{Нижнее} + (\text{Верхнее} - \text{Нижнее}) / (1 + 10^{x - \log(\text{IC}_{50})})$$

Ki вычисляют затем с использованием уравнения Cheng и Prusoff, где

$K_i = IC_{50} / (1 + [\text{концентрация лиганда}] / K_d \text{ лиганда})$.

Для данного анализа обычно концентрация лиганда = 50 нМ и K_d ЕС для рецептора составляет 200 нМ по данным определения с помощью связывания насыщения.

Соединения изобретения продемонстрировали в данном анализе способность связываться с LXR_α и/или LXR_β .

Пример В. Анализ сотрансфекции.

Для измерения способности соединений активировать или ингибировать транскрипционную активность LXR в анализе на основе клеток использовали анализ сотрансфекции. Было показано, что LXR функционирует как гетеродимер с RXR . Для анализа сотрансфекции экспрессионные плазмиды для LXR_α и LXR_β вводят отдельно с помощью временной трансфекции в клетки млекопитающих наряду с плазмидой репортера люциферазы, которая содержит одну копию ДНК последовательности, которая связывается LXR - RXR гетеродимерами ($LXRE$; Willy, P. et al. 1995). $LXRs$ гетеродимеризуются с эндогенным RXR . Обработка трансфицированных клеток LXR агонистом увеличивает транскрипционную активность LXR , которая измеряется по увеличению активности люциферазы. Аналогично, LXR антагонистическую активность можно измерить с помощью определения способности соединения конкурентно ингибировать активность LXR агониста.

Требуемые материалы.

Клетки почек CV-1 африканской зеленой обезьяны.

Сотрансфекционные экспрессионные плазмиды, включающие полноразмерный LXR_α (pCMX-h LXR_α или LXR_β (pCMX-h LXR_β), репортерную плазмиду ($LXRE$ 1-Tk-люцифераза) и контрольный (вектор экспрессии pCMX-галактозидазы) (Willey et al. Genes & Development 9 1033-1045 (1995)).

Трансфекционный реагент, такой как FuGENE6 (Roche).

1× буфер лизиса клеток:

22,4 mM Трицин pH 8,0

0,56 mM EGTA pH 8,0

6,6 mM $MgSO_4$

0,6% Triton X-100

5,6% глицерин;

10× раствор субстрата люциферазы:

10 mM HEPES pH 6,5

2,75 mM D-люциферин

0,75 mM кофермент-A

3,7 mM ATP

96 mM DTT.

Получение реагентов скрининга.

Клетки CV-1 подготавливали за 24 ч до эксперимента путем помещения их в T-175 сосуды или 500 см² чашки для того, чтобы на день трансфекции достичь 70-80% слияния. Число клеток, подвергаемых трансфицированию, определяли по числу планшет, подвергаемых скринингу. Каждая лунка 384-луночной планшеты требует ~8000 клеток. Реагент трансфекции ДНК получали смешением требуемых плазмидных ДНК с катионным липидным реагентом трансфекции FuGENE6 (Roche), следуя инструкциям, предоставляемым с реагентом. Оптимальные количества ДНК определяли эмпирически на клеточную линию и размер сосуда, подвергаемого трансфекции. На каждый T175 см² сосуд смешивали и добавляли всего 20 мкг ДНК, 60 мкл Eugene 6 и 1 мл Optimem. Клетки затем инкубировали в течение по крайней мере 5 ч при 37°C для подготовки клеток для скрининга.

Реагент анализа люциферазы приготавливали перед использованием путем объединения:

1 ч. 10× раствора субстрата люциферазы,

9 ч. 1× буфера лизиса клеток.

Процедура.

Планшеты для анализа подготавливали распределением по 5 мкл соединения на лунку 384-луночной планшеты, достигая конечную концентрацию соединения 10 мкМ и не более 0,5% ДМСО. Среду отделяли от скрининговых клеток, клетки обрабатывали трипсином, собирали центрифугированием, подсчитывали и помещали на планшету при плотности приблизительно 8000 клеток на лунку на 384-луночной планшете, подготовленной выше, в объеме около 45 мкл. Планшеты для анализа, содержащие и соединения, и клетки для скрининга (50 мкл в общем объеме), инкубировали в течение 20 ч при 37°C.

После инкубации с соединениями среду удаляли от клеток и добавляли реагент анализа люциферазы (30 мкл/лунку). После нахождения в течение ~2 мин при температуре окружающей среды аналитические планшеты считывали на люминометре (PE Biosystems Northstar считыватель с инжекторами или эквивалент).

Анализ $LXR/LXRE$ сотрансфекции можно использовать для установления величин EC_{50}/IC_{50} в отношении силы и эффективности в процентах активности или ингибирования. Эффективность определяет активность соединения относительно высшего контроля ((N-(3-((4-фторфенил)-(нафталин-2-

сульфонил)амино)пропил)-2,2-диметилпропионамида)) или низшего контроля (ДМСО/наполнитель). Кривые ответной реакции на дозу производят по 10-точечной кривой с концентрациями, различающимися на 1/2 LOG единиц. Каждая точка представляет среднее от данных 4 лунок 384-луночной планшеты.

Данные результата данного анализа подгоняются к следующему уравнению, по которому можно найти величину EC_{50} : $Y = \text{Нижнее} + (\text{Верхнее} - \text{Нижнее}) / (1 + 10^{((\log EC_{50} - x) \cdot \text{Возвышение Склон})})$.

EC_{50}/IC_{50} , следовательно, определяется как концентрация, при которой агонист или антагонист вызывает ответную реакцию, которая составляет половину между верхней (максимум) и нижней (базовой) величинами. Представленные EC_{50}/IC_{50} величины являются средними от по крайней мере 2 и обычно 3 независимых экспериментов. Определение относительной эффективности или % контроля для агониста производится сравнением с максимальной ответной реакцией, достигаемой ((N-(3-(4-фторфенил)-(нафталин-2-сульфонил)амино)пропил)-2,2-диметилпропионамидом), которая измеряется индивидуально в каждом эксперименте ответной реакции на дозу.

Для анализа антагониста, чтобы вызвать ответную реакцию, в каждую лунку 384-лучной планшеты можно добавлять LXR агонист. Следовательно, определение % ингибирования для каждого антагониста представляет собой измерение ингибирования активности агониста. 100% ингибирование указывает на то, что активность конкретной концентрации LXR агониста снижена до базовых уровней, определяемых как активность в анализе в присутствии только ДМСО.

Соединения настоящего изобретения испытывали в LXR $_{\alpha}$ анализе, описанном только что выше, и было показано, что они обладают эффективностью, меньшей или равной 25% контрольного соединения.

Соединения настоящего изобретения испытывали в LXR $_{\beta}$ анализе, описанном только что выше, и было показано, что они обладают эффективностью, большей или равной 30% контрольного соединения.

Пример С. Анализ цельной крови человека.

Цельную человеческую кровь собирали в содержащих EDTA пробирках и 0,5 мл аликвоты сразу же смешивали в 96-луночной форме с соответствующей серией разбавленного испытуемого соединения в 0,5% ДМСО. Соединения инкубировали с кровью при 37°C при постоянном качании в течение 4 ч. После инкубации клетки лизировали в очищенном растворе для лизиса ABI нуклеиновой кислоты (Applied Biosystems catalog # 4305895) и замораживали при -80°C. После лизиса клеток всю РНК очищали с использованием ABI 6100 РНК преп. станции в соответствии с протоколом, предоставляемым производителем. Синтезировали кДНК и количественно определяли мРНК с использованием количественной ПЦР (Q-PCR) SYBR-Green в ABI Prism 7900HT системе определения последовательностей и реагентов от Quanta Bioscience Inc (Quanta Bioscience catalog # 95047 и 95055).

Таблица 2.1

Праймеры, используемые для количественного определения мРНК с помощью RT-PCR

Ген	Передний праймер	Обратный праймер
ABCA1	GGTGATGTTTCTGACCAATGTGA	TGTCCTCATACCAGTTGAGAGAC
ABCG1	GACTGCGTGTCTCTGCAAAATC	GATGGGGGCATGATGACAATG
L-30	GCTGGAGTCGATCAACTCTAGG	CCAATTTCGCTTTGCCTTGTC
B2M	GGCTATCCAGCGTACTCCAAA	CGGCAGGCATACTCATCTTTT

Количество каждой мРНК определяли с помощью метода ДДСТ (Michael W. Pfaffl. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Research, 2001, vol. 29, № 9 e45) и нормализовали до количества двух контрольных мРНК, т.е. рибосомного белка L-30 (L-30) и β 2-микроглобулина (B2M). Индуцирование ABCA1 и ABCG1 испытуемым соединением наносили на график в виде процента ссылочного соединения, 2-(4-(5-(5-циано-1-(2,4-дифторбензил)-6-оксо-4-(трифторметил)-1,6-дигидропиридин-2-ил)тиофен-2-ил)-3-метилфенил)уксусной кислоты, силу (EC_{50}) и активность (% MAX) вычисляли с помощью сигмоидной кривой ответной реакции, как функцию log концентрации трансформированного соединения с использованием программного обеспечения XLFit в соответствии с уравнением $y = A + ((B - A) / (1 + ((C/x)^D)))$. В качестве ссылочного соединения использовали полную ванночку LXR $_{\alpha}$ и LXR $_{\beta}$ агониста 2-(4-(5-(5-циано-1-(2,4-дифторбензил)-6-оксо-4-(трифторметил)-1,6-дигидропиридин-2-ил)тиофен-2-ил)-3-метилфенил)уксусной кислоты, (EC_{50} 1-2 мкМ) и его максимальную активность определяли в 100%.

Соединения настоящего изобретения испытывались в анализе, описанном только что выше, и было показано, что они обладают силой или мощностью обычно менее 1000 нМ, предпочтительно менее 100 нМ, более предпочтительно менее 20 нМ.

Пример D. Метаболическая стабильность при высоком количестве (НТ) на микросомах человека.

В анализе метаболической стабильности оценивают СYP-опосредуемую метаболическую стабильность in vitro с использованием микросом человеческой печени после десятиминутной инкубации.

Испытуемое соединение получают в виде 3,5 мМ исходного раствора в 100% ДМСО. Соединение разбавляют для получения 50 мкМ раствора ацетонитрила (ACN), содержащего 1,4% ДМСО, который затем используют как 100× исходный для инкубации с микросомами печени человека. Каждое соедине-

ние испытывают с двукратным повторением. Растворы соединения, NADPH и микросом печени объединяют для инкубирования в три стадии:

1) 152 мкл суспензии микросом печени, концентрация белка 1,1 мг/мл в 100 mM NaPi, pH 7,4, 5 mM MgCl₂ буфер, предварительно подогревают при 37°C;

2) 1,7 мкл 50 мкМ соединения (98,6% ACN, 1,4% ДМСО) добавляют в ту же пробирку и предварительно инкубируют при 37°C в течение 5 мин;

3) реакцию инициируют добавлением 17 мкл предварительно подогретого 10 mM раствора NADPH в 100 mM NaPi, pH 7,4.

Реакционные компоненты хорошо смешивают и 75 мкл сразу же переносят в 150 мкл гасящего/прекращающего раствора (временная точка ноль, T₀). Реакционные смеси инкубируют при 37°C в течение 10 мин, а затем дополнительную 75 мкл аликвоту переносят в 150 мкл раствора для гашения. В качестве гасящего раствора для прекращения метаболических реакций используют ацетонитрил, содержащий 100 мкМ DMN (УФ-стандарт для контроля качества инъекции).

Погашенные смеси центрифугируют при 1500 об/мин (~500×g) в Allegra X-12 центрифуге, SX4750 ротор (Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA) в течение 15 мин, гранулируя денатурированные микросомы. Экстракт супернатанта в объеме 90 мкл, содержащий смесь исходного соединения и его метаболитов, затем переносят на отдельную 96-луночную планшету для УФ-LCMS-MS анализа для определения процента исходного соединения, которое остается в смеси.

UV-LC/MS-MS анализ образца (пробы) - предварительный анализ структурной целостности.

Предварительный анализ структурной целостности метаболической стабильности используют для оценки чистоты анализируемых соединений. Соединения получают на 96-луночных планшетах в виде 57 мкл 3,5 mM ДМСО раствора. 3,5 mM исходных растворов соединения в ДМСО разбавляют 18-кратно раствором, содержащим равные объемы ацетонитрила, изопропанола и MilliQ-H₂O. Получающиеся в результате растворы (200 мкМ) анализируют на структурную целостность с помощью LC-UV/MS на Thermo LCQ Deca XP Plus масс-спектрометре с ионной ловушкой с использованием колонки Waters XBridge C18, 5 мкм, 2×50 мм с Waters Sentry 2,1 мм охранной колонкой и LC условий, описанных в таблице ниже, с 5 мкл инъекцией и скоростью потока 1 мл/мин. Полученные данные отражают чистоту по данным УФ-поглощения при 220 нм. Приводятся только результаты с соединениями с чистотой выше 50%.

Метаболическая стабильность - структурная целостность HPLC градиента*

Градиент время (мин)	A %	B%
0,00	100	0
4,00	0	100
5,00	0	100
5,10	100	0
6,00	100	0

*Подвижная фаза для предварительного анализа структурной целостности:

(A) 98% вода, 2% ацетонитрил с 10 mM ацетатом аммония;

(B) 10% вода, 90% ацетонитрил с 10 mM ацетатом аммония.

Анализ образца - инкубированные образцы.

Оптимизацию MS/MS условий проводят на Thermo TSQ Quantum triple-quadrupole масс-спектрометре, снабженном нагреваемым-электрораспылительным (H-ESI) источником, с автоматизированным вливанием с получением SRM транзиций и их соответствующих величин энергии столкновения. Растворы соединения в концентрации 20 мкМ в 1:1 смеси метанол:вода вливают при скорости потока 90 мкл/мин, затем объединяют с подвижной фазой со скоростью потока 50 мкл/мин перед введением в источник. Все соединения оптимизировали сначала с использованием подвижной фазы А и В (50% А и 50% В), и, если необходимо, с использованием подвижной фазы С и D (также с составом 50:50). Оптимизированные параметры, включая полярность, SRM транзицию и энергию столкновения, хранят в Microsoft Access базе данных.

Масс-спектрометрические условия, получаемые после автоматизированного вливания, используют для анализа инкубационных образцов от анализа метаболической стабильности. Инжекционный объем составляет 5 мкл, а скорость потока - 0,8 мл/мин. Используемый градиент показан ниже в таблице. Все образцы инжестируют сначала с использованием градиента подвижной фазы А и В. Если необходимо (например, по хроматографическим причинам), образцы повторно инжестируют с тем же градиентом, но с использованием подвижной фазы С и D. Все параметры LC-MS/MS анализа захватываются электронно в файлах необработанных данных.

Метаболическая стабильность - градиент анализа образцов*

Градиент время (мин)	A % (или C%)	B% (или D%)
0.00	95	5
0.20	95	5
0.30	0	100
1.05	0	100
1.10	95	5
1.50	95	5

*Подвижная фаза для анализа реакционных образцов:

(A) 98% вода, 2% ацетонитрил с 0,1% муравьиной кислотой,

(B) 2% вода, 98% ацетонитрил с 0,1% муравьиной кислотой,

(C) 0,1% гидроксид аммония в воде,

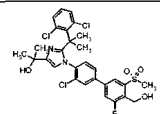
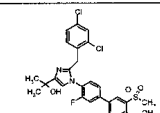
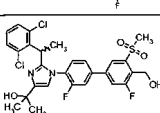
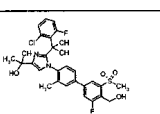
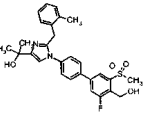
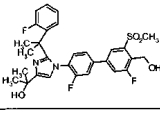
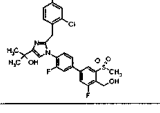
(D) 0,1% гидроксид аммония в ацетонитриле

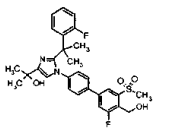
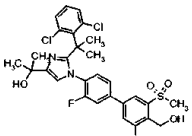
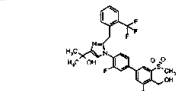
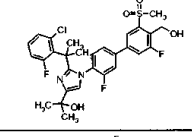
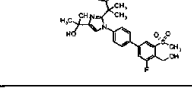
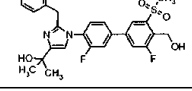
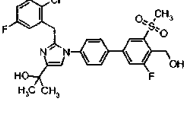
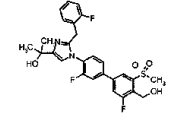
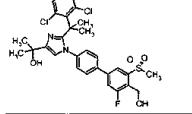
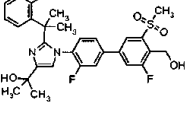
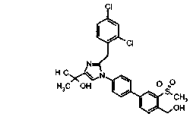
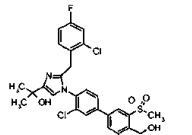
Пик интеграцию выполняют с Xcalibur™ программным обеспечением. Вычисление остающегося процента выполняют при сравнении LC-MS/MS площадей пика от T_{10мин} образцов с данными от T_{10мин} образцов для каждого соединения.

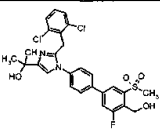
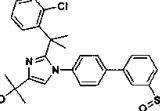
Соединения настоящего изобретения испытывали в анализе, описанном только что выше, и было показано, что они имеют больше чем 80% исходного соединения, остающегося через 10 мин.

В следующей табл. 1 представлены результаты анализа LXR/LXRE сотрансфекции, в котором измеряют LXR_α EC₅₀ и эффективность, анализа цельной крови человека (hWBA), в котором измеряют способность соединений связываться с LXR и индуцировать ABCA1 экспрессию генов относительно ссылочного соединения, и анализа метаболической стабильности микросом. EC₅₀ величины даны в интервалах, где A составляет ≤100 нМ, B составляет от 101 до <1000 нМ и C составляет >1000 нМ.

Таблица 1

Структура	#	LXR _α EC ₅₀ (нМ)	LXR _α Eff (%)	hWBA hABCA1 L30 EC ₅₀ (нМ)	hWBA hABCA1 L30 Max F (%)	Микросомы человека, % остающихся
	3	A	6	A	16	>80%
	11	C	---	A	16	>80%
	21	A	18	A	17	>80%
	2	A	10	A	18	>80%
	17	B	13	A	20	>80%
	8	A	10	A	23	>80%
	14	A	15	A	24	>80%

Структура	#	LXR α EC50 (нМ)	LXR α Еff (%)	hWBA hABCA1 L30 EC50 (нМ)	hWBA hABCA1 L30 Max P (%)	Микросомы человека, % оставшихся
	1	B	13	A	28	>80%
	9	A	20	A	28	>80%
	12	A	13	A	32	>80%
	7	A	15	A	33	>80%
	4	A	12	A	34	>80%
	20	B	15	A	35	>80%
Структура	#	LXR α EC50 (нМ)	LXR α Еff (%)	hWBA hABCA1 L30 EC50 (нМ)	hWBA hABCA1 L30 Max P (%)	Микросомы человека % оставшихся
	19	C	---	A	35	>80%
	16	A	19	A	41	>80%
	5	A	25	A	43	>80%
	6	A	25	A	35	>80%
	15	A	8	A	47	>80%
	13	A	18	A	50	>80%

Структура	#	LXR α EC50 (нМ)	LXR α Eff (%)	hWBA hABCA1 L30 EC50 (нМ)	hWBA hABCA1 L30 Max P (%)	Микросомы человека, % остающихся
	18	A	17	A	51	>80%
	Соединение № 19, таблица 1, WO 2007/002563	B	38	C	55	>80%

Представленные выше данные иллюстрируют неожиданно желательный характер частичного LXR агониста, увеличенную силу или мощность в цельной крови человека, низкую LXR α эффективность и метаболическую стабильность соединений настоящего изобретения в микросомном анализе печени человека в сравнении с соединениями, описанными ранее в технике, такими, как описаны в РСТ публикации № WO 2007/002563.

Пример Е. Мощность *in vivo* и максимум ABCG1 индукции на обезьянах Cynomolgus.

Соединения настоящего изобретения испытывали на их способность индуцировать мРНК в отношении LXR гена мишени ABCG1 на клетках крови, когда их вводили орально обезьянам cynomolgus.

Из испытуемых соединений составляли рецептуру в 0,5% карбоксиметилцеллюлозе (СМЦ, Sigma) и 2% Tween 80 (Sigma) при растирании. Каждая группа обработки содержала по три самца обезьян, каждая весом 3,0-6,0 кг в начале исследования. Каждое утро из испытуемых соединений составляли свежие рецептуры в носителе, и животным, которых держали в предшествующую ночь в голоде, давали дозу лекарства между 7 и 7:30 до полудня с помощью желудочного зонда. Для базовых определений мРНК клеток крови 1 мл венозной крови собирали в сухую пробирку с EDTA и добавляли 1 об. солевого раствора Дульбекко с фосфатным буфером и 2 об. очистительного лизисного раствора нуклеиновой кислоты (Applied Biosystems, Inc.). Образцы замораживали при -80°C перед отделением РНК и анализом. Испытуемые соединения дозировали после сбора базового образца. Через 5 ч после введения дозы, венозную кровь собирали и обрабатывали, как описано выше для РНК определения. Собирали также дополнительно 0,5 мл крови и анализировали на концентрации соединения в плазме.

Отделение РНК. Замороженным образцам давали возможность оттаять при комнатной температуре, а затем помещали на лед. Всю РНК отделяли на ABI 6100 с использованием предварительно заполненного протокола согласно инструкциям производителя (ABI Manual #4332809 Rev. B).

Синтез кДНК и реакции Q-PCR. qScript комплект синтеза кДНК от Quanta Biosciences, Inc. использовали для генерирования первой цепи кДНК от каждого общего РНК образца. Осуществляли 20 мкл реакции на 96-луночных Eppendorf AG twin-tec PCR планшетах на MJ Research, Inc. модели PTC-200 ДНК инструмента. Для каждой реакции использовали приблизительно 500 нг всей РНК. Реакционные смеси составляли следующим образом: 4 мкл 5X q-Script реакционной смеси плюс 3-5 мкл свободной от нуклеазы воды плюс 1 мкл q-Script обратной транскриптазы плюс 10-12 мкл РНК. После смешения реакционные смеси центрифугировали при 3750 об/мин в течение 2 мин при комнатной температуре, и реакции проводили по "q-Script" протоколу (25°C в течение 5 мин, затем при 42°C в течение 30 мин, а затем при 85°C в течение 5 мин) в MJ Research термоциклере. Каждую реакционную смесь разбавляли 30 мкл свободной от нуклеазы воды и сразу же использовали для SYBR-green Q-PCR или хранили при -20°C. SYBR-green Q-PCR реакции проводили следующим образом. Приготавливали реакционные смеси для LXR гена мишени, ABCG1 и внутреннего стандарта нормализованного гена рибосомного белка L30 с использованием утвержденных направлений праймера вперед/назад [ABCG1 (X-Mmul-ABCG1-F1 и X-Mmul-ABCG1-R1); рибосомного белка L30 (SYBR-hL30-F1 и SYBR-hL30-R1)]. Информацию о направлениях последовательностей данного праймера получали из "Primer Bank" Web Site (<http://pga.mgh.harvard.edu/primerbank/index.html>) для L30 (Primer Bank # 4506631a1), и от Exelixis, Inc. (South San Francisco, California, USA) для ABCG1 (Mmul_ABCG1.TaqMan F1/R1).

Последовательности праймера

Mmul_ABCG1.TaqMan.F1 5'-ACGCAGACAGCACTGGTGAA-3'

Mmul_ABCG1.TaqMan.R1 5'-CTTCCCTCCACCTGGAACCT-3'

hL30-F1 5'-GCTGGAGTCGATCAACTCTAGG-3'

hL30-R2 5'-CCAATTTTCGCTTTGCCTTGTC-3'

SYBR-Green реакции выполняли следующим образом. Для реакции 10 мкл 2X PowerSYBR Green Supermix (Applied Biosystems Catalog # 437659) плюс 2 мкл 10 мМ Gene Specific Forward/Reverse Primer Mix (конечная концентрация праймеров 500 нМ каждый)+4 мкл воды смешивали вместе с 4 мкл разбавленной RT реакционной смеси. Реакционные смеси центрифугировали при 3750 об/мин в течение 2 мин

при комнатной температуре и реакции выполняли на Applied Biosystems модель 7900HT SDS-Taqman системе.

Вычисление относительных мРНК количеств, и мощности соединений *in vivo* и максимальные активности. Относительное количество ABCG1 мРНК вычисляли с использованием второго производного сравнительного Ct метода ($2^{-\Delta\Delta C_t}$). Количественное определение проводили после нормализации к мРНК рибосомному белку L30. Каждый образец испытывали двукратно, и для вычисления использовали среднее Ct.

Вычисление мощности соединений *in vivo* на обезьянах *synomolgus*. Концентрацию испытуемого соединения в плазме от каждого индивидуального животного через 5 ч после введения дозы наносили на график против кратной индукции против базового значения ABCG1 мРНК в кровяных клетках для каждого животного через 5 ч после введения дозы для всех групп доз. Данные от всех дозовых групп наносили на тот же график для каждого соединения. Мощность *in vivo* (EC_{50}) и максимальную индукцию ABCG1 мРНК для каждого соединения определяли с помощью нелинейной кривой с использованием сигмоидного уравнения ответной реакции на дозу (Graphpad Prism 4.03 программное обеспечение).

Количественное определение концентраций соединения в плазме с помощью LC/MS/MS. Ниже даны подробности жидкостной хроматографии с биоаналитическими методами на основе tandemной масс-спектрометрии (LC/MS/MS), используемыми для количественного определения испытуемых соединений в плазме обезьян *synomolgus*.

Анализ LC/MS/MS испытуемого соединения проводили против стандартной кривой в интервале от 1 до 5000 нМ. Стандартные кривые наносили с линейной регрессией, индексированной в противоположность возведенную в квадрат ($1/x^2$). Стандарты анализировали однократно. Образцы контроля качества приготавливали в чистом биологическом носителе при 3 концентрациях в интервале стандартной кривой и анализировали в виде копий в каждом аналитическом наборе. Определенные концентрации в более чем 75% QCs были в пределах 20% их номинальных значений.

Получение образцов или проб проводили в Janus 8-конечных и Janus Mini 96-конечных автоматических жидких манипуляторах. Аликвоты (50 мкл) биологического носителя (плазма) из исследований *in vivo* и стандарт/QC образцы обрабатывали 1М нерегулируемым (50 мкл) карбонатом аммония в воде с pH 9,2, содержащем 200 нМ двух внутренних стандартов (IS), затем 300 мкл метил-трет-бутилового эфира (MTBE) и распределяли с помощью жидкость-жидкостной экстракции (LLE) с использованием сорока повторений наполнение-вытеснение в течение приблизительно 3 мин. Водный и органический слои затем центрифугировали в течение 2 мин при 3900 об/мин. Растворитель экстракции верхнего органического слоя MTBE (250 мкл) удаляли в еще одну чистую 96-луночную планшету и помещали в азотный испаритель на 15 мин при 40°C досуха. Для пересоставления сухих экстрактов использовали аликвоты (100 мкл) с подвижной фазой, состоящей из 1:1 смеси ацетонитрил/вода. 10 мкл аликвоту инжестировали сначала на экстракционную колонку высокоэффективной турбопроточной жидкостной хроматографии (HTLC), затем элюировали на вторую колонку высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) для анализа на основе LC/MS/MS.

Системой LC, используемой для всех анализов, была Aria TX-2 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) HPLC система, состоящая из 8 Shimadzu LC10AD насосов с 2 SCL-10AVP System Controllers (Columbia, MD, USA) и двухзахватным CTC Analytics HTS PAL автопробоотборником (Швейцария), снабженным градиентной с естественной тягой, которая поддерживала температуру образцов во время анализа при 10°C. Наполнителем для используемой для HPLC on-line экстракционной колонки был Cyclone-P смешанный полимер (0,5×50 мм, 50 мкМ частицы, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), хранящийся при комнатной температуре. Используемой HPLC C18 аналитической колонкой была XBridge C18 (2,1 мм × 50 мм, 5 мкМ частицы, Waters Corporation, Milford, MA, USA), хранящаяся при комнатной температуре. Подвижную фазу, которая состояла из 0,1% муравьиной кислоты в воде (A) и 0,1% муравьиной кислоты в ацетонитриле (B) доставляли со скоростью потока 1,5 мл/мин к HTLC экстракционной колонке и при 0,5 мл/мин к HPLC C18 аналитической колонке. Данные скорости потока меняются во время стадии переноса между 0,5-1,0 мин. Регистрировали время удерживания для испытуемых соединений и внутренних стандартов. Общее время анализа составляло 5,0 мин. Градиенты суммированы в следующих таблицах.

Градиент подвижной фазы для HPLC C18 XBridge аналитической колонки

Время (мин)	%A	%B	Скорость потока (мл/мин)	Кривая
0 (начальное)	95	5	0,5	изократная
0,50	95	5	0,2	изократная
1,00	95	5	0,3	изократная

1,10	95	5	0,5	изократная
2,00	5	95	0,5	линейная
2,50	5	95	0,5	линейная
2,60	95	5	0,5	ступенчатая

Градиент подвижной фазы для HTLC on-line экстракционной Cyclone-P колонки

Время (мин)	%A	%B	Скорость потока (мл/мин)	Кривая
0 (начальное)	100	0	1,5	изократная
0,50	100	0	0,2	изократная
1,00	100	0	0,2	изократная

Градиент подвижной фазы для HPLC C18 XBridge аналитической колонки

Время (мин)	%A	%B	Скорость потока (мл/мин)	Кривая
1,10	0	100	1,5	ступенчатая
2,00	0	100	1,5	изократная
2,10	50	50	1,5	ступенчатая
2,50	50	50	1,5	изократная
2,60	100	0	1,5	ступенчатая

Масс-спектрометром, используемым для всех анализов был масс-спектрометр Finnigan Quantum Ultra tandem (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), снабженный нагреваемой электрораспылением поверхностью раздела, работающий способами как положительной, так и отрицательной ионизации. В качестве оболочки использовали азот ультравысокой чистоты (UHP) и вспомогательные газы при скоростях потока 55 фунт/кв.дюйм для оболочного и 25 единиц для вспомогательного газа. Температура десольватации составляла 350°C и температурный источник имел 350°C. Определение каждого анализа выполняли с помощью выбранного реакционного мониторинга (SRM). Для количественного определения испытуемого соединения и внутреннего стандарта использовали способ положительной ионизации. UHP аргон под давлением $1,5 \times 10^{-3}$ Торр в ячейке столкновения квадруполь 2. Регистрировали подверженные мониторингу транзиции для соединения настоящего изобретения и его внутреннего стандарта.

Мощность in vivo испытуемых соединений на обезьянах cynomolgus и максимум ABCG1 индукции, получаемые из графиков концентрации соединения в плазме через 5 ч после введения дозы против кратной мРНК индукции через 5 ч после введения дозы показаны в табл. 2 ниже.

Таблица 2

Соединение	EC ₅₀ ±S.E. (нМ)	Максимальная ABCG1 индукция (кратная против базового значения ± S.E.)
Соединение № 19, таблица 1, WO 2007/002563	630±168	12,4±1,8
Пример 4 настоящего изобретения	141±53	5,9±0,8
Пример 9 настоящего изобретения	11±6	8,9±0,9

Соединения примеров 4 и 9 настоящего изобретения являются примерно в четыре и шестьдесят раз более сильными, чем соединение, известное из уровня техники, после введения дозы обезьянам cynomolgus. Аналогичным образом, соединения примеров 4 и 9 индуцируют ABCG1 мРНК в крови до максимума, кратного примерно шести и девяти, по сравнению с примерно двенадцатикратным для известного соединения, демонстрируя тем самым частичную LXR активность в крови обезьян cynomolgus.

Очевидно понятно, что примеры и воплощения, описанные здесь, даны только для иллюстративных целей и что в свете изложенного понятные специалистам в данной области различные модификации и изменения должны быть включены в существо и сферу действия данной заявки и в объем прилагаемых

пунктов формулы изобретения. Все указанные публикации, патенты и патентные заявки включены в заявку для всех целей путем ссылки на них.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, выбранные из

№	Название
1	2-(1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-(2-фторфенил) пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
2	2-(2-(2-(2-хлор-6-фторфенил) пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-3-метил-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
3	2-(1-(3-хлор-3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил) пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
4	2-(2-(2-(2-хлор-3-фторфенил) пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
5	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил) пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
6	2-(2-(2-(2-хлорфенил) пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-гидроксиметил-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
7	2-(2-(2-(2-хлор-6-фторфенил) пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
8	2-{1-(3,3'-дифтор-4'-гидроксиметил-5'-метансульфонил бифенил-4-ил)-2-[2-(2-фторфенил) пропан-2-ил]-1Н-имидазол-4-ил} пропан-2-ол;
9	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил) пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
10	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил) пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) [$^{13}\text{CD}_3$] ₂ пропан-2-ол;

11	2-(2-(2,4-дихлорбензил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
12	2-(1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-(трифторметил)бензил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
13	2-(1-(3-хлор-3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-хлор-4-фторбензил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
14	2-(2-(2-хлор-4-фторбензил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
15	2-(2-(2,4-дихлорбензил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
16	2-(1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-фторбензил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
17	2-(1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-метилбензил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
18	2-(2-(2,6-дихлорбензил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
19	2-[2-(2-хлор-5-фторбензил)-1-(3'-фтор-4'-гидроксиметил-5'-метансульфонилбифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил]пропан-2-ол;
20	2-[2-(2-хлорбензил)-1-(3,3'-дифтор-4'-гидроксиметил-5'-метансульфонилбифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил]пропан-2-ол; и
21	2-{2-[1-(2,6-дихлорфенил)этил]-1-[3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил]-1Н-имидазол-4-ил}пропан-2-ол.

2. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, выбранные из

№	Название
1	2-(1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-(2-фторфенил) пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
2	2-(2-(2-(2-хлор-6-фторфенил) пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-3-метил-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
3	2-(1-(3-хлор-3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил) пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
4	2-(2-(2-(2-хлор-3-фторфенил) пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
5	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил) пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
6	2-(2-(2-(2-хлорфенил) пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
7	2-(2-(2-(2-хлор-6-фторфенил) пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
8	2-{1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-метансульфонилбифенил-4-ил)-2-[2-(2-фторфенил) пропан-2-ил]-1Н-имидазол-4-ил} пропан-2-ол;
9	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил) пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) пропан-2-ол;
10	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил) пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) { $(^{13}\text{CD}_3)_2$ } пропан-2-ол; и
21	2-{2-[1-(2,6-дихлорфенил) этил]-1-[3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил) бифенил-4-ил]-1Н-имидазол-4-ил} пропан-2-ол.

3. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, выбранные из

№	Название
11	2-(2-(2,4-дихлорбензил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
12	2-(1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-(трифторметил)бензил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
13	2-(1-(3-хлор-3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-хлор-4-фторбензил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
14	2-(2-(2-хлор-4-фторбензил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
15	2-(2-(2,4-дихлорбензил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
16	2-(1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-фторбензил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
17	2-(1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-метилбензил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
18	2-(2-(2,6-дихлорбензил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
19	2-[2-(2-хлор-5-фторбензил)-1-(3'-фтор-4'-гидроксиметил-5'-метансульфонилбифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил]пропан-2-ол; и
20	2-[2-(2-хлорбензил)-1-(3,3'-дифтор-4'-гидроксиметил-5'-метансульфонилбифенил-4-ил)-1H-имидазол-4-ил]пропан-2-ол.

4. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль по п.1, выбранные из

№	Название
3	2-(1-(3-хлор-3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
4	2-(2-(2-(2-хлор-3-фторфенил)пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
5	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
9	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол;
10	2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил) [($^{13}\text{CD}_3$) ₂] пропан-2-ол; и
21	2-{2-[1-(2,6-дихлорфенил)этил]-1-[3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил]-1Н-имидазол-4-ил}пропан-2-ол.

5. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, которое представляет собой 2-(1-(3-хлор-3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол.

6. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, которое представляет собой 2-(2-(2-(2-хлор-3-фторфенил)пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол.

7. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, которое представляет собой 2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3'-фтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол.

8. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, которое представляет собой 2-(2-(2-(2,6-дихлорфенил)пропан-2-ил)-1-(3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил)-1Н-имидазол-4-ил)пропан-2-ол.

9. Соединение или его фармацевтически приемлемая соль, которое представляет собой 2-{2-[1-(2,6-дихлорфенил)этил]-1-[3,3'-дифтор-4'-(гидроксиметил)-5'-(метилсульфонил)бифенил-4-ил]-1Н-имидазол-4-ил}пропан-2-ол.

10. Фармацевтическая композиция для лечения, ингибирования или смягчения симптомов заболевания или расстройства, которое модулируется или на которое иным образом влияет активность LXR, или при которых вовлечена активность X рецепторов печени (LXR), включающая соединение по любому из пп.1-9 и один или более фармацевтически приемлемых носителей.

11. Способ лечения заболевания или расстройства, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-9, в котором заболеванием или расстройством является атеросклероз, инсулинорезистентность, остеоартрит, инсульт, гипергликемия, дислипидемия, псориаз, возрастное и связанное с УФ-действием появление морщин на коже, диабет, рак, болезнь Альцгеймера, воспаление, иммунологические расстройства, липидные расстройства, ожирение, макулярная дегенерация, состояния, характеризующиеся нарушенной функцией эпидермального барьера, состояния нарушенной дифференциации или избыточной пролиферации эпидермиса или мукозной мембраны или сердечно-сосудистые расстройства.

12. Способ по п.11, в котором заболеванием или расстройством является атеросклероз, диабет, болезнь Альцгеймера или дислипидемия.

13. Способ по п.11, в котором заболеванием или расстройством является атеросклероз.

14. Способ по п.11, в котором заболеванием или расстройством является диабет.

15. Способ по п.11, в котором заболеванием или расстройством является болезнь Альцгеймера.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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