

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 038665

(13) B1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента

2021.09.30

(21) Номер заявки

201890899

(22) Дата подачи заявки

2016.10.07

(51) Int. Cl. A61K 31/56 (2006.01)

A61K 31/57 (2006.01)

A61K 31/575 (2006.01)

C07J 43/00 (2006.01)

C07J 9/00 (2006.01)

### (54) МОДУЛЯТОРЫ ФАРНЕЗОИДНОГО Х-РЕЦЕПТОРА

(31) 62/238,246

(32) 2015.10.07

(33) US

(43) 2018.09.28

(86) PCT/US2016/055980

(87) WO 2017/062763 2017.04.13

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
ИНТЕРСЕПТ ФАРМАСЮТИКАЛЗ,  
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

Пелличари Роберто, Джойелло  
Антимо (IT)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(56) VANDENHEUVEL. Gas-liquid chromatographic studies of reactions and structural relationships of steroids: II. Positions 3, 11 and 20 in the pregnane series. Journal of Chromatography A, 103 (1), 113-134, 1975 [retrieved on 27 January 2017]; Retrieved from the Internet. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967300838066> entire document

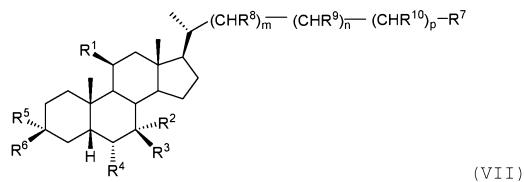
PUBCHEM, Substance Record for SID 85207872 Create Date: 2009-09-28 [retrieved on 15 November 2016]; Retrieved from the Internet: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/85207872> entire document

PUBCHEM, Substance Record for SID 236277322 Create Date: 2015-02-15 [retrieved on 15 November 2016]; Retrieved from the Internet: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/substance/236277322> entire document

US-A1-20120283234

US-A1-20100093687

(57) В изобретении представлено соединение формулы VII или его фармацевтически приемлемая соль, или тауриновый, глициновый и сарказиновый конъюгаты, где R<sup>1</sup>-R<sup>10</sup>, m, n и p определены в данном документе. Настоящее изобретение в целом относится к модуляторам FXR и к применению указанных соединений.



B1

038665

038665 B1

### Уровень техники

Фарнезоидный X-рецептор (FXR) представляет собой ядерный рецептор, который функционирует в качестве сенсора желчных кислот, контролирующего гомеостаз желчных кислот. FXR экспрессируется в различных органах и, как показано, задействован во многих заболеваниях и состояниях, таких как заболевания печени, заболевания легких, заболевания почек, заболевания кишечника и заболевания сердца, и биологических процессах, в том числе метаболизме глюкозы, метаболизме инсулина и метаболизме липидов. Многие естественные желчные кислоты являются модуляторами FXR и они способны регулировать FXR-опосредованные заболевания и состояния (Gioiello, et al., 2014 Curr. Top. Med. Chem. 14, 2159). Например, естественные желчные кислоты, такие как хенодезоксихолевая кислота (CDCA), дезоксихолевая кислота (DCA), литохолевая кислота (LCA) и таурин, а также их глициновые конъюгаты выступают в качестве лигандов FXR.

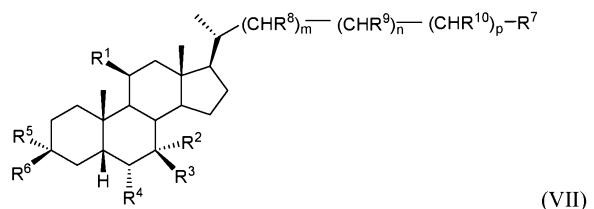
Производные естественных желчных кислот также были описаны в качестве модуляторов FXR. В европейском патенте № 0312867 описаны 6-метильные производные естественных желчных кислот, такие как урсодезоксихолевая кислота, урсохолевая кислота, хенодезоксихолевая кислота и холевая кислота. В WO 2002/75298 раскрыты 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -дигидрокси-6 $\alpha$ -этил-5 $\beta$ -холан-24-овая кислота (далее в данном документе также называемая 6-этил-хенодезоксихолевой кислотой, или 6-ECDCA), ее соли, сольваты и конъюгаты с аминокислотами в качестве модуляторов FXR, которые можно применять для предупреждения или лечения FXR-опосредованных заболеваний или состояний.

Тем не менее, хорошо известно, что естественные желчные кислоты и производные желчных кислот модулируют не только другие рецепторы ядерных гормонов, но также являются модуляторами для G-белок-связанного рецептора (GPCR) TGR5. Селективность рецептора является проблемой применимельно к разработке терапевтического соединения, направленного на модулирование рецептора ядерного гормона, например FXR. Неселективное терапевтическое соединение может обеспечивать повышенный риск побочных эффектов. Другие препятствия, которые необходимо преодолеть при разработке терапевтического соединения, включают непригодный фармакокинетический профиль, проблемы безопасности, такие как токсичность (например, для печени) и нежелательные взаимодействия между лекарственными средствами.

Таким образом, остается потребность в дополнительных селективных модуляторах FXR, пригодных для разработки лекарственного средства, например соединения, которое является селективным в отношении других ядерных рецепторов и/или не активирует в значительной степени GPCR TGR5 желчных кислот.

### Краткое описание

Целью настоящего изобретения является обеспечение соединений, которые модулируют FXR. В одном аспекте в настоящем изобретении представлено соединение формулы VII



или его фармацевтически приемлемая соль, или тауриновый, глициновый и сарказиновый конъюгаты, где

R<sup>1</sup> представляет собой OH или галоген;

каждый из R<sup>2</sup> и R<sup>3</sup> независимо представляет собой H, OH, галоген или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, необязательно замещенный одним или несколькими из галогена или OH, или R<sup>2</sup> и R<sup>3</sup>, взятые вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют карбонил;

R<sup>4</sup> представляет собой H, галоген, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, необязательно замещенный одним или несколькими из галогена или OH, алкенил, выбранный из винила, аллила, 1-бутенила, 2-бутенила, 3-бутенила и 2-гексенила, или алкинил, выбранный из этинила, 2-пропинила, 5-бут-1-ен-3-инила и 3-гексинила;

каждый из R<sup>5</sup> и R<sup>6</sup> независимо представляет собой H, OH, галоген, или R<sup>5</sup> и R<sup>6</sup>, взятые вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют карбонил;

R<sup>7</sup> представляет собой OH, OSO<sub>3</sub>H, SO<sub>3</sub>H, OSO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>H, C(O)NHOH, тетразолил, оксадиазолил, тиадиазолил, 5-оксо-1,2,4-оксадиазолил, 5-оксо-1,2,4-тиадиазолил, оксазолидин-дионил, тиазолидин-дионил, 3-гидроксизоксазолил, 3-гидроксизотиазолил или 2,4-дифтор-3-гидроксифенил;

каждый из R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup> и R<sup>10</sup> независимо представляет собой H, OH, галоген или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, необязательно замещенный одним или несколькими заместителями, выбранными из галогена или OH;

m равняется 0, 1 или 2;

n равняется 0 или 1 и

p равняется 0 или 1.

В другом варианте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции для лечения заболевания, опосредованного FXR и выбранного из сердечно-сосудистого заболевания, хронического заболевания печени, нарушения липидного обмена, заболевания желудочно-кишечного тракта, заболевания почек, метаболического заболевания, рака и неврологического заболевания, содержащей соединение указанной выше формулы VII или его фармацевтически приемлемую соль, или тауриновый, глициновый и саркозиновый конъюгаты и фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное средство.

В ещё одном варианте настоящее изобретение относится к способу лечения или предупреждения заболевания или состояния у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение эффективного количества соединения указанной выше формулы VII или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового и саркозинового конъюгата, где это заболевание или состояние опосредовано FXR и выбрано из сердечно-сосудистого заболевания, хронического заболевания печени, нарушения липидного обмена, заболевания желудочно-кишечного тракта, заболевания почек, метаболического заболевания, рака и неврологического заболевания.

### Определения

Определенные термины, используемые в описании и формуле изобретения, собраны в данной части.

Применяемый в данном документе термин "алкил" относится к насыщенному углеводородному фрагменту с прямой или разветвленной цепью. Термин "C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил" относится к углеводородному фрагменту с прямой или разветвленной цепью, содержащему 1, 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода. "C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-алкил" относится к углеводородному фрагменту с прямой или разветвленной цепью, содержащему 1, 2, 3 или 4 атома углерода, включая метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил.

Термин "алкенил" относится к углеводородному фрагменту с прямой или разветвленной цепью, содержащему по меньшей мере одну углерод-углеродную двойную связь. Как транс-, так и цис-изомеры углерод-углеродной двойной связи охвачены термином "алкенил". Примеры алкенильных фрагментов включают без ограничения винил, аллил, 1-бутенил, 2-бутенил, 3-бутенил и 2-гексенил.

Как используется в данном документе, "алкинил" относится к углеводородному фрагменту с прямой или разветвленной цепью, содержащему по меньшей мере одну углерод-углеродную тройную связь. Примеры алкинильных фрагментов включают без ограничения этинил, 2-пропинил, 5-бут-1-ен-3-инил и 3-гексинил.

Термин "алcoxси" относится к насыщенному углеводороду с прямой или разветвленной цепью, ковалентно связанным с атомом кислорода. Примеры алcoxсифрагментов включают без ограничения метокси, этокси, изопропилокси, н-пропокси, н-бутокси, трет-бутокси и пентокси.

Применяемый в данном документе термин "галоген" относится к фтору, брому, хлору и йоду.

Термин "необязательно замещенный" относится к указанному фрагменту, который может быть замещен или не замещен, и при замещении означает моно-, ди- или тризамещенный, например 1, 2 или 3 заместителями. В некоторых случаях заместитель представляет собой галоген или OH.

Как используется в данном документе, "карбоцикл", "карбоциклический" или "карбоциклическое кольцо" предназначены для включения любого стабильного моноциклического или бициклического кольца, содержащего определенное число атомов углерода, любое из которых может быть насыщенным, ненасыщенным или ароматическим. Карбоциклическое кольцо включает циклоалкил и арил. Например, C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>-карбоциклическое кольцо предназначено для включения моноциклического или бициклического кольца, содержащего 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода. Примеры карбоциклов включают без ограничения циклопропил, циклобутил, циклобутенил, циклопентил, циклопентенил, циклогексил, циклогептенил, циклогептил, циклогептенил, адамантил, циклооктил, циклооктенил и фенил.

Как используется в данном документе, "гетероцикл", "гетероциклический" или "гетероциклическая группа" включают любую кольцевую структуру (насыщенную, ненасыщенную или ароматическую), которая содержит по меньшей мере один кольцевой гетероатом (например, N, O или S). Гетероцикл включает гетероциклоалкил и гетероарил. Примеры гетероциклов включают без ограничения морфолин, пирролидин, тетрагидротиофен, пиперидин, пиперазин, оксетан, пиран, тетрагидропиран, азетидин и тетрагидрофуран. Примеры гетероциклических групп включают без ограничения бензимидазолил, бензофуранил, бензотиофуранил, тетрагидрофуран, фуранил, фуразанил, имидазолидинил, имидазолинил, имидазолил, 1Н-индазолил, индоленил, индоинил, индолизинил, индолил, 3Н-индолил, изатиноил, изобензофуранил, изоиндазолил, изоиндолинил, изоиндолил, изохинолинил, изотиазолил, изоксазолил, метилендиоксифенил, морфолинил, пиридинил, пиридил и пирамидинил. Применяемый в данном документе термин "циклоалкил" относится к насыщенной или ненасыщенной неароматической углеводородной моно-или многокольцевой (например, конденсированной, мостиковой или спирокольцевой) системе, содержащей 3-10 атомов углерода (например, C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). Примеры циклоалкила включают без ограничения циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил, циклопентенил, циклогексенил и циклогептенил.

Термин "гетероциклоалкил" относится к насыщенной или ненасыщенной неароматической 3-8-членной моноциклической или бициклической (конденсированной, мостиковой или спирокольцевой)

системе, содержащей один или несколько гетероатомов (таких как O, N или S), если не указано иное. Примеры гетероциклоалкильных групп включают без ограничения пиперидинил, пиперазинил, пирролидинил, диоксанил, тетрагидрофуранил, изоиндолинил, индолинил, имидазолидинил, пиразолидинил, оксазолидинил, изоксазолидинил, триазолидинил, тетрагидрофуранил, оксиранил, азетидинил, оксетанил, тиетанил, 1,2,3,6-тетрагидропиридинил, тетрагидропиранил, дигидропиранил, пиранил, морфолинил и тетрагидротиопиранил и т.п.

Как используется в данном документе, любой указанный фрагмент, который включает без ограничения алкил, алкенил, алкинил, алcoxи, карбоциклическое кольцо, гетероциклическое кольцо, циклоалкил, гетероциклоалкил и т.д., может быть необязательно замещен.

Термин "модулятор FXR" относится к любому соединению, которое взаимодействует с рецептором FXR. Взаимодействие не ограничено действием соединения в качестве антагониста, агониста, частичного агониста или обратного агониста рецептора FXR. В одном варианте осуществления соединение по настоящему изобретению действует в качестве антагониста рецептора FXR. В другом аспекте соединение по настоящему изобретению действует в качестве агониста рецептора FXR. В другом аспекте соединение по настоящему изобретению действует в качестве частичного агониста рецептора FXR. В другом аспекте соединение по настоящему изобретению действует в качестве обратного агониста рецептора FXR.

Применяемый в данном документе термин "конъюгаты с аминокислотами" относится к конъюгатам соединения по настоящему изобретению с любой подходящей аминокислотой. Таурин (-NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>H), глицин (-NHCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H) и сарказин (-N(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H) являются примерами конъюгатов с аминокислотами. Подходящие конъюгаты с аминокислотами соединений обладают дополнительным преимуществом повышенной целостности в желчи или кишечном соке. Подходящие аминокислоты не ограничены таурином, глицином и сарказином.

Как используется в данном документе, фраза "фармацевтически приемлемые соли" относится к производным соединения по настоящему изобретению, где исходное соединение модифицировано путем образования его кислых или основных солей. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают без ограничения соли минеральных или органических кислот основных остатков, таких как амины; щелочные или органические соли кислотных остатков, таких как карбоновые кислоты; и т.п. Фармацевтически приемлемые соли включают стандартные нетоксичные соли или соли четвертичного аммония исходного соединения, образованные, например, с помощью нетоксичных неорганических или органических кислот. Например, такие стандартные нетоксичные соли включают без ограничения соли, образованные с помощью неорганических и органических кислот, выбранных из 2-ацетоксибензойной, 2-гидроксиэтансульфоновой, уксусной, аскорбиновой, бензолсульфоновой, бензойной, бикарбоновой, карбоновой, лимонной, этилендиаминететрауксусной, этандисульфоновой, фумаровой, глукогептоновой, глуконовой, глутамовой, гликоловой, гликолиларсаниловой, гексилрезорциновой, гидрабамовой, бромистоводородной, хлористоводородной, йодистоводородной, гидроксималеиновой, гидроксинафтойной, изетионовой, молочной, лактобионовой, лаурисульфоновой, малеиновой, яблочной, миндальной, метансульфоновой, напсиловой, азотной, щавелевой, памовой, пантотеновой, фенилуксусной, фосфорной, полигалактуроновой, пропионовой, салициловой, стеариновой, субуксусной, янтарной, сульфамовой, сульфаниловой, серной, дубильной, винной и толуолсульфоновой кислот.

Фраза "фармацевтически приемлемый носитель" известна в данной области и включает, например, фармацевтически приемлемые материалы, композиции или среды-носители, такие как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное средство, растворитель или инкапсулирующий материал, задействованные в переносе или транспортировке любой заявленной композиции из одного органа или части тела к другому органу или части тела. Каждый носитель является "приемлемым" с точки зрения сопоставимости с другими ингредиентами заявленной композиции и отсутствия вреда для пациента. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемый носитель является апирогенным. Некоторые примеры материалов, которые могут выступать в качестве фармацевтически приемлемых носителей, включают следующее: (1) сахара, такие как лактоза, глукоза и сахароза; (2) крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; (3) целлюлозу и ее производные, такие как натрия карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; (4) порошкообразная трагакантовая камедь; (5) мальтоза; (6) желатин; (7) тальк; (8) вспомогательные средства, такие как масло какао и суппозиторные воски; (9) масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, подсолнечное масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; (10) гликоли, такие как пропиленгликоль; (11) полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; (12) сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; (13) агар; (14) буферные средства, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; (15) альгиновую кислоту; (16) апирогенную воду; (17) изотонический солевой раствор; (18) раствор Рингера; (19) этиловый спирт; (20) фосфатно-буферные растворы и (21) другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических составах.

"Композиция" или "фармацевтическая композиция" представляет собой состав, содержащий соединение по настоящему изобретению или его соль, сольват или конъюгат с аминокислотой. Согласно одному варианту осуществления фармацевтическая композиция находится в виде нерасфасованной или единичной лекарственной формы. Единичная лекарственная форма представляет собой любую из мно-

жества форм, в том числе, например, капсулу, пакет для IV-вливания, таблетку, одноцилиндровый насос в аэрозольном ингаляторе или флакон. Количество активного ингредиента (например, состава на основе соединения по настоящему изобретению или его солей) в стандартной дозе композиции представляет собой эффективное количество и варьирует в соответствии с конкретным применяемым лечением. Специалисту в данной области будет понятно, что может быть необходимым проведение стандартных изменений дозы в зависимости от возраста и состояния пациента. Доза также будет зависеть от пути введения. Рассматриваются различные пути в том числе пероральный, глазной, офтальмический, пульмональный, ректальный, парентеральный, трансдермальный, подкожный, внутривенный, внутримышечный, внутрибрюшинный, интраназальный и т.п. Лекарственные формы для местного нанесения или трансдермального введения соединения по настоящей заявке включают порошки, спреи, мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, растворы, пластыри и средства для ингаляции. В другом варианте осуществления активное соединение смешивают в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и с другими консервантами, буферами или газами-вытеснителями, которые являются необходимыми.

Термин "лечение", применяемый в данном документе, относится к облегчению, ослаблению, снижению, устранению, модулированию или нейтрализации, т.е. обеспечению регрессии заболевания или состояния.

Термин "предупреждение", применяемый в данном документе, относится к полному или практически полному купированию заболевания или состояния, возникающих у пациента или субъекта, в частности, если пациент или субъект предрасположен или подвержен риску возникновения у него заболевания или состояния. Предупреждение также может включать подавление, т.е. остановку развития заболевания или состояния, и облегчение или нейтрализацию, т.е., обеспечение регрессии заболевания или состояния, например, если заболевание или состояние уже может быть диагностировано.

Фраза "снижение риска", применяемая в данном документе, относится к снижению вероятности или возможности возникновения заболевания центральной нервной системы, воспалительного заболевания и/или метаболического заболевания, возникающих у пациента, особенно если субъект предрасположен к их возникновению.

"Эффективное количество" соединения по настоящему изобретению или комбинации соединений представляет собой количество (содержание или концентрацию) соединения или соединений. В одном варианте осуществления, если терапевтически эффективное количество соединения вводят субъекту, нуждающемуся в лечении, то симптомы, возникающие при заболевании, нейтрализуются немедленно или после введения соединения один или несколько раз. Количество соединения, подлежащее введению субъекту, будет зависеть от конкретного нарушения, способа введения, совместно вводимых соединений, если таковые имеются, и характеристик субъекта, таких как общее состояние здоровья, другие заболевания, возраст, пол, генотип, вес тела и переносимость лекарственных средств. Специалист в данной области будет способен определить соответствующие дозы в зависимости от данных и других факторов.

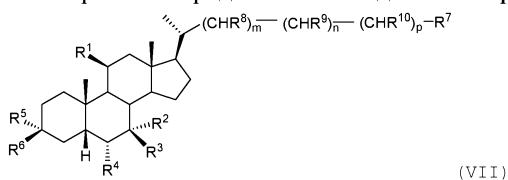
Термин "профилактически эффективное количество" означает количество (содержание или концентрацию) соединения по настоящему изобретению, или комбинации соединений, которые вводят для предупреждения или снижения риска возникновения заболевания другими словами, в количестве, необходимом для обеспечения предупреждающего или профилактического эффекта. Количество соединения по настоящему изобретению, подлежащее введению субъекту, будет зависеть от конкретного нарушения, способа введения, совместно вводимых соединений, если таковые имеются, и характеристик субъекта, таких как общее состояние здоровья, другие заболевания, возраст, пол, генотип, вес тела и переносимость лекарственных средств. Специалист в данной области будет способен определить соответствующие дозы в зависимости от данных и других факторов.

"Субъект" включает млекопитающих, например, людей, домашних животных (например, собак, кошек, птиц и т.п.), сельскохозяйственных животных (например, коров, овец, свиней, лошадей и т.п.) и лабораторных животных (например, крыс, мышей, морских свинок и т.п.). Как правило, субъектом является человек.

Применяемый в данном документе термин фарнезоидный X-рецептор, или FXR, относится ко всем формам такого рецептора, встречающимся у млекопитающих, включая, например, альтернативные сплайсированные изоформы и встречающиеся в природе изоформы (см., например, Huber et al., Gene 290:35-43 (2002)). Иллюстративные виды FXR включают без ограничения FXR крысы (№ доступа GenBank NM 021745), FXR мыши (№ доступа GenBank NM 009108) и FXR человека (№ доступа GenBank NM 005123).

#### Соединения по настоящему изобретению

В одном аспекте в настоящем изобретении представлено соединением формулы VII



или его фармацевтически приемлемой солью, или тауриновым, глициновым или саркозиновым конъюгатом, где

$R^1$  представляет собой OH или галоген;

каждый из  $R^2$  и  $R^3$  независимо представляет собой H, OH, галоген или  $C_1$ - $C_6$ -алкил, необязательно замещенный одним или несколькими из галогена или OH, или  $R^2$  и  $R^3$ , взятые вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют карбонил;

$R^4$  представляет собой H, галоген,  $C_1$ - $C_6$ -алкил, необязательно замещенный одним или несколькими из галогена или OH, алкенил, выбранный из винила, аллила, 1-бутенила, 2-бутенила, 3-бутенила и 2-гексенила, или алкинил, выбранный из этинила, 2-пропинила, 5-бут-1-ен-3-инила и 3-гексинила;

каждый из  $R^5$  и  $R^6$  независимо представляет собой H, OH, галоген, или  $R^5$  и  $R^6$ , взятые вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют карбонил;

$R^7$  представляет собой OH,  $OSO_3H$ ,  $SO_3H$ ,  $OSO_2NH_2$ ,  $SO_2NH_2$ ,  $OPO_3H_2$ ,  $PO_3H_2$ ,  $CO_2H$ ,  $C(O)NHOH$ , тетразолил, оксадиазолил, тиадиазолил, 5-оксо-1,2,4-оксадиазолил, 5-оксо-1, 2,4-тиадиазолил, оксазолидин-дионил, тиазолидин-дионил, 3-гидроксизоксазолил, 3-гидроксизотиазолил или 2,4-дифтор-3-гидроксифенил;

каждый из  $R^8$ ,  $R^9$  и  $R^{10}$  независимо представляет собой H, OH, галоген или  $C_1$ - $C_6$ -алкил, необязательно замещенный одним или несколькими заместителями, выбранными из галогена или OH;

$m$  равняется 0, 1 или 2;

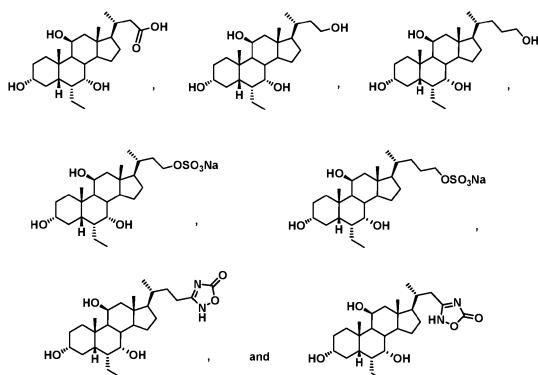
$n$  равняется 0 или 1; и

$p$  равняется 0 или 1.

В предпочтительном варианте указанного выше соединения по настоящему изобретению  $R^7$  представляет собой OH,  $OSO_3H$ ,  $OSO_2NH_2$ ,  $OPO_3H_2$ ,  $CO_2H$ , тетразолил, оксадиазолил, тиадиазолил, 5-оксо-1,2,4-оксадиазолил, 5-оксо-1,2,4-тиадиазолил, оксазолидиндионил, тиазолидиндионил, 3-гидроксизоксазолил, 3-гидроксизотиазолил или 2,4-дифтор-3-гидроксифенил.

В предпочтительном варианте указанного выше соединения по настоящему изобретению  $R^4$  находится в  $\alpha$ -положении.

В другом предпочтительном варианте указанного выше соединения по настоящему изобретению соединение выбрано из



#### Фармацевтические композиции

"Фармацевтическая композиция" представляет собой состав, содержащий одно или несколько соединений по настоящему изобретению в форме, пригодной для введения субъекту. Согласно одному варианту осуществления фармацевтическая композиция находится в виде нерасфасованной или единичной лекарственной формы. Может быть предпочтительным составление композиций в виде стандартной лекарственной формы для облегчения введения и обеспечения равномерности дозирования. Стандартная лекарственная форма, как используется в данном документе, означает физически обособленные единицы, пригодные в качестве единичных доз для субъекта, лечение которого осуществляется; при этом каждая единица содержит предварительно определенное количество активного реагента, рассчитанное для получения требуемого терапевтического эффекта, совместно с требуемым фармацевтическим носителем. Технические требования к единичным лекарственным формам прописаны уникальными характеристиками активных реагентов, а также конкретным терапевтическим эффектом, который должен быть достигнут, и ограничениями, присущими области получения такого активного средства для лечения индивидуумов, и непосредственно зависят от них.

Возможные составы включают составы, пригодные для перорального, сублингвального, буккального, парентерального (например, подкожного, внутримышечного или внутривенного), ректального, местного, в том числе чрескожного, интраназального и ингаляционного введения. Наиболее подходящие средства введения для конкретного пациента будут зависеть от природы и тяжести заболевания, подлежащего лечению, или природы применяемой терапии и от природы активного соединения, но, где это возможно, для предупреждения и лечения FXR-опосредованных заболеваний и состояний можно применять пероральное введение. Составы, пригодные для перорального введения, могут быть представлены в

виде отдельных единиц, таких как таблетки, капсулы, саше, пастилки для рассасывания, при этом каждая из них содержит предварительно определенное количество активного соединения; в виде порошков или гранул; в виде растворов или суспензий в водных или неводных жидкостях; или в виде эмульсий типа масло в воде или вода в масле. Составы, пригодные для сублингвального или буккального введения включают пастилки для рассасывания, содержащие активное соединение и, как правило, ароматизированную основу, например, сахар и акациевую камедь или трагакант, и пастилки, содержащие активное соединение в инертной основе, такой как желатин и глицерин или сахарозу и акациевую камедь.

Составы, пригодные для парентерального введения, обычно содержат стерильные водные растворы, содержащие предварительно определенную концентрацию активного соединения; раствор может быть изотоничен с кровью предполагаемого получателя. Дополнительные составы, пригодные для парентерального введения, включают составы, содержащие физиологически пригодные сорасторовители и/или комплексообразователи, например, поверхностно-активные вещества и циклодекстрины. Эмульсии типа масло-в-воде также являются пригодными составами для составов для парентерального введения. Несмотря на то, что такие растворы можно вводить внутривенно, их также можно вводить посредством подкожной или внутримышечной инъекции.

Составы, пригодные для ректального введения могут быть представлены в виде суппозиториев с единичной дозой, содержащих активный ингредиент в одном или нескольких твердых носителях, образующих основу суппозитория, например, масло какао.

Составы, пригодные для местного или интраназального применения включают мази, кремы, лосьоны, пасты, гели, растворы для распыления, аэрозоли и масла. Пригодные носители для таких составов включают вазелиновое масло, ланолин, полиэтиленгликоли, спирты и их комбинации.

Составы по настоящему изобретению можно получать посредством любого пригодного способа, обычно путем однородного и тщательного смешивания активного соединения с жидкостями или тонкоизмельченными твердыми носителями или и тем, и другим, в необходимых пропорциях, а затем, при необходимости, придание полученной в результате смеси необходимой формы.

Например, таблетку можно получать путем прессования однородной смеси, содержащей порошок или гранулы активного ингредиента и один или несколько необязательных ингредиентов, таких как связующее, смазывающее средство, инертный разбавитель или поверхностно-активное диспергирующее средство, или путем формования однородной смеси порошкообразного активного ингредиента и инертного жидкого разбавителя. Подходящие составы для введения путем ингаляции включают пылеобразные вещества с тонкодисперсными частицами или аэрозоли, которые могут быть образованы посредством различных типов дозирующих находящихся под давлением аэрозольных баллонов, небулялизеров или инсуффляторов.

Для пульмонального введения через полость рта размер частиц порошка или капель обычно находится в диапазоне 0,5-10 мкм, или может составлять приблизительно 1-5 мкм, для обеспечения доставки в бронхиальное дерево. Для введения через назальную полость можно применять размер частиц в диапазоне 10-500 мкм для обеспечения удержания в полости носа.

Дозирующие ингаляторы представляют собой аэрозольные дозаторы под давлением, обычно содержащие суспендированный или растворенный состав активного ингредиента в сжиженном газо-вытеснителе. Во время применения данные устройства высвобождают состав через клапан, приспособленный для доставки дозированного объема, обычно от 10 до 150 мкм с получением тонкодисперсного распыленного состава, содержащего активный ингредиент. Подходящие газы-вытеснители включают определенные хлорофторуглеродные соединения, например дихлордифторметан, трихлордифторметан, дихлортетрафторэтан и их смеси. Состав может дополнительно содержать один или несколько сорасторовителей, например этианольные поверхностно-активные вещества, например олеиновую кислоту или сорбитан триолеат, антиоксиданты и подходящие ароматизирующие средства.

Небулялизеры представляют собой коммерчески доступные устройства, которые трансформируют растворы или суспензии активного ингредиента в терапевтический аэрозоль либо посредством ускорения сжатого воздуха, как правило, воздуха или кислорода, через узкое диффузионное отверстие, либо посредством ультразвуковой активации. Подходящие составы для применения в небулязерах состоят из активного ингредиента в жидком носителе и содержат не более 40% вес./вес. состава, предпочтительно не более 20% вес./вес. Носителем, как правило, является вода или разбавленный водный раствор спирта, предпочтительно выполненный изотоничным с физиологическими жидкостями посредством добавления, например, хлорида натрия. Необязательные добавки включают консерванты, если состав получен не стерильным, например, метилгидроксибензоат, антиоксиданты, ароматизирующие средства, летучие масла, буферные средства и поверхностно-активные вещества.

Подходящие составы для введения посредством инсуффляции включают мелко измельченные порошки, которые могут быть доставлены посредством инсуффлятора или вносятся в полость носа посредством вдыхания через нос. В инсуффляторе порошок содержится в капсулах или картриджах, обычно выполненных из желатина или пластика, которые либо прокалываются, либо открываются *in situ* и порошок доставляется по воздуху, проходящему через устройство при ингаляции или посредством насоса с ручным управлением. Порошок, применяемый в инсуффляторе, состоит либо только из активного ингредиента.

диента, либо из порошковой смеси, содержащей активный ингредиент, подходящий порошковый разбавитель, например, лактозу, и необязательно поверхностно-активное вещество. Активный ингредиент обычно составляет от 0,1 до 100% вес./вес. состава.

В следующем варианте осуществления в настоящем изобретении представлена фармацевтическая композиция, содержащая в качестве активного ингредиента соединение по настоящему изобретению вместе и/или в смеси по меньшей мере с одним фармацевтическим носителем или разбавителем. Данные фармацевтические композиции можно применять для предупреждения или лечения представленных выше заболеваний или состояний.

Носитель является фармацевтически приемлемым и должен быть совместим, т.е. не иметь вредного воздействия на другие ингредиенты в композиции. Носитель может быть твердым или жидким и предпочтительно составлен в виде состава стандартной дозы, например, таблетки, которая может содержать от 0,05 до 95% по весу активного ингредиента. При необходимости, другие физиологически активные ингредиенты также могут быть введены в фармацевтические композиции по настоящему изобретению.

Помимо ингредиентов, конкретно упомянутых выше, составы по настоящему изобретению могут включать другие средства, известные специалистам в области фармацевтики, учитывая тип состава. Например, составы, пригодные для перорального введения, могут включать ароматизирующие средства, а составы, пригодные для интраназального введения могут включать отдушки.

В одном из вариантов осуществления в настоящем изобретении представлена фармацевтическая композиция для лечения заболевания, опосредованного FXR и выбранного из сердечно-сосудистого заболевания, хронического заболевания печени, нарушения липидного обмена, заболевания желудочно-кишечного тракта, заболевания почек, метаболического заболевания, рака и неврологического заболевания, содержащая указанное выше соединение формулы VII или его фармацевтически приемлемую соль, или тауриновый, глициновый и саркозиновый конъюгаты и фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное средство.

### Способы лечения

Соединения по настоящему изобретению пригодны для терапии субъектов, например, млекопитающих, в том числе людей. В частности, соединения по настоящему изобретению пригодны для способа лечения или предупреждения заболевания или состояния у субъекта, включающего введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или саркозинового конъюгата. При этом заболевание или состояние опосредовано FXR (например, FXR играет роль в начале или прогрессировании заболевания или состояния) и выбрано из сердечно-сосудистого заболевания, хронического заболевания печени, нарушения липидного обмена, заболевания желудочно-кишечного тракта, заболевания почек, метаболического заболевания, рака и неврологического заболевания. Более конкретно, заболевание представляет собой хроническое заболевание печени, выбранное из первичного билиарного цирроза (PBC), церебросухожильного ксантоматоза (CTX), первичного склерозирующего холангита (PSC), холестаза, вызванного лекарственными средствами, внутрипеченочного холестаза беременных, связанного с парентеральным питанием холестаза (PNAC), связанного с чрезмерным ростом бактерий или сепсисом холестаза, аутоиммунного гепатита, хронического вирусного гепатита, алкогольной болезни печени, неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD), неалкогольного стеатогепатита (NASH), связанной с трансплантацией печени болезни "трансплантат против хозяина", регенерации печени живого донора, врожденного фиброколангиикостоза печени, холедохолитиаза, гранулематозного заболевания печени, внутри- или внепеченочного злокачественного новообразования, синдрома Шегрена, саркоидоза, болезни Вильсона, болезни Гоше, гемохроматоза и дефицита альфа-1-антитрипсина.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения или предупреждения сердечнососудистого заболевания у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольваты или конъюгата с аминокислотой. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения сердечно-сосудистого заболевания. В одном варианте осуществления сердечно-сосудистое заболевание выбрано из атеросклероза, артериосклероза, дислипидемии, гиперхолестеринемии, гиперлипидемии, гипертриглицеридемии.

Термин "гиперлипидемия" относится к наличию аномально повышенного уровня липидов в крови. Гиперлипидемия может возникать по меньшей мере в трех формах: (1) гиперхолестеринемия, т.е., повышенный уровень холестерина; (2) гипертриглицеридемия, т.е., повышенный уровень триглицеридов; и (3) объединенная гиперлипидемия, т.е., комбинация гиперхолестеринемии и гипертриглицеридемии.

Термин "дислипидемия" относится к аномальному уровню липопротеинов в плазме крови, включая как пониженные и/или повышенные уровни липопротеинов (например, повышенные уровни LDL, VLDL и пониженные уровни HDL).

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу, выбранному из снижения уровней холестерина или модулирования метаболизма холестерина, катаболизма, поглощения пищевого холестерина и обратный транспорт холестерина у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фар-

мацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или саркозинового конъюгата.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения или предупреждения заболевания, негативно воздействующего на уровень холестерина, триглицерида или желчных кислот у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или саркозинового конъюгата.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу снижения количества триглицеридов у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или саркозинового конъюгата.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения или предупреждения заболевания, связанного с повышенным уровнем холестерина у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольваты или конъюгата с аминокислотой. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения заболевания, связанного с повышенным уровнем холестерина у субъекта. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения заболевания, связанного с повышенным уровнем холестерина у субъекта. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу предупреждения заболевания, связанного с повышенным уровнем холестерина у субъекта. В одном варианте осуществления заболевания выбрано из ишемической болезни сердца, стенокардии, заболевания сонной артерии, инсультов, артериосклероза головного мозга и ксантомы.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения или предупреждения расстройства липидного обмена у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или саркозинового конъюгата. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения расстройства липидного обмена. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу предупреждения расстройства липидного обмена.

Расстройства липидного обмена представляют собой термин для нарушений, связанных с холестерином и триглицеридами. Нарушения, связанные с липидами, связаны с повышенным риском сосудистого заболевания и, в частности, сердечных приступов и инсультов. Нарушения, связанные с расстройствами липидного обмена, представляют собой комбинацию генетической предрасположенности, а также природы пищевого рациона. Множество расстройств липидного обмена связаны с наличием лишнего веса. Расстройства липидного обмена также могут быть связаны с другими заболеваниями, в том числе с диабетом, метаболическим синдромом (иногда называемым синдромом резистентности к инсулину), гипоактивной щитовидной железой или результатом некоторых лекарственных препаратов (таких как препараты, применяемые для схем для предотвращения отторжения у людей, у которых были трансплантации органов).

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения или предупреждения одного или нескольких симптомов заболевания, негативно воздействующего на метаболизм липидов (т.е. липодистрофии) у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или саркозинового конъюгата. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения одного или нескольких симптомов заболевания, негативно воздействующего на метаболизм липидов. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу предупреждения одного или нескольких симптомов заболевания, негативно воздействующего на метаболизм липидов.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу снижения накопления липидов у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или саркозинового конъюгата.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения или предупреждения хронического заболевания печени у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или саркозинового конъюгата.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения хронического заболевания печени. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу предупреждения хронического заболевания печени. В одном варианте осуществления хроническое заболевание печени выбрано из первичного билиарного цирроза (PBC), церебросухожильного ксантоматоза (CTX), первичного склерозирующего холангита (PSC), холестаза, вызванного лекарственными средствами, внутрипеченочного холестаза беременных, связанного с парентеральным питанием холестаза (PNAC), связанного с ростом бактерий или сепсисом холестаза, аутоиммунного гепатита, хронического вирусного гепатита, алкогольной болезни печени, неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD), неалкогольного стеатогепатита (NASH), связанной с трансплантацией печени болезни "трансплантат

против хозяина", регенерации печени живого донора, врожденного фиброхолангокистоза печени, холедохолитиаза, гранулематозного заболевания печени, внутри- или внепечечночного злокачественного новообразования, синдрома Шегрена, саркоидоза, болезни Вильсона, болезни Гуше, гемохроматоза и альфа дефицита ингибитора 1-трипсина.

В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу лечения или предупреждения одного или нескольких симптомов холестаза, в том числе осложнений холестаза у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или саркозинового конъюгата.

В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу лечения одного или нескольких симптомов холестаза. В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к предупреждению одного или нескольких симптомов холестаза.

Холестаз обычно вызван факторами внутри печени (внутрипеченочными) или вне печени (внепеченочными) и приводит к накоплению желчных солей, желчного пигмента билирубина, и липидов в кровотоке вместо нормального выведения. Внутрипеченочный холестаз характеризуется распространенным закупориванием небольших каналов или нарушениями, таким как гепатит, который нарушает способность организма выводить желчь. Внутрипеченочный холестаз также может быть вызван алкогольной болезнью печени, первичным билиарным циррозом, раком, который распространялся (метастазировал) из другой части организма, первичным склерозирующим холангитом, камнями в желчном пузыре, желчной коликой и острым холециститом. Он также может возникнуть как осложнение вследствие хирургического вмешательства, серьезной травмы, муковисцидоза, инфекции или внутривенного питания или может быть вызван применением лекарственных средств. Холестаз также может возникать в качестве осложнения беременности и часто развивается в течение второго и третьего триместра.

Внепеченочный холестаз наиболее часто вызван холедохолитиазом (камнями в желчных протоках), доброкачественными билиарными структурами (незлокачественное сужение общего протока), холангиикарциномой (карциномой из эпителия протоков) и карциномой поджелудочной железы. Внепеченочный холестаз может возникать как побочный эффект многих лекарственных препаратов.

Соединение по настоящему изобретению можно применять для лечения и предупреждения одного или нескольких симптомов внутрипеченочного или внепеченочного холестаза, включая без ограничения атрезию желчных протоков, холестаз беременных, неонатальный холестаз, холестаз, вызванный лекарственными средствами, холестаз, возникающий при заражении гепатитом С, хроническое холестатическое заболевание печени, такое как первичный билиарный цирроз (PBC) и первичный склерозирующий холангит (PSC).

В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу повышения регенерации печени у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или саркозинового конъюгата.

В одном варианте осуществления способ представляет собой повышение регенерации печени для трансплантации печени.

В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу лечения или предупреждения фиброза у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольвата или конъюгата с аминокислотой. В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу лечения фиброза. В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу предупреждения фиброза.

Соответственно, применяемый в данном документе термин фиброз относится ко всем признанные фиброзные нарушения, в том числе фиброз в связи с патологическими состояниями или заболеваниями, фиброз в связи с физической травмой ("травматический фиброз"), фиброз в связи с радиационным повреждением и фиброз в связи с воздействием химиотерапии. Применяемый в данном документе термин "фиброз органов" включает без ограничения фиброз печени, фиброз почек, фиброз легкого и фиброз кишечника. "Травматический фиброз" включает без ограничения фиброз, вторичный по отношению к хирургии (хирургическое рубцевание), случайная физическая травма, ожоги и гипертрофическое рубцевание.

Применяемый в данном документе "фиброз печени" включает фиброз печени в связи с любой причиной, в том числе без ограничения вирусный фиброз печени, например, который вызван вирусом гепатита В или С; воздействием алкоголя (алкогольная болезнь печени), определенных фармацевтических соединений, включая без ограничения метотрексат, некоторых химиотерапевтических средств и длительный прием мышьяковистых препаратов или витамина А в очень больших дозах, окислительного стресса, лучевой терапией рака или определенными промышленными химикатами, включая без ограничения тетрахлорид углерода и диметилнитрозамина; и заболеваниями, такими как первичный билиарный цирроз, первичный склерозирующий холангит, жировая дегенерация печени, ожирение, неалкогольный стеатогепатит, муковисцидоз, гемохроматоз, аутоиммунный гепатит и стеатогепатит. Существующая в

настоящее время терапия фиброза печени прежде всего направлена на удаление возбудителя заболевания, например, удаление избыточного железа (например, в случае гемохроматоза), снижение вирусной нагрузки (например, в случае хронического вирусного гепатита) или устранение или уменьшение воздействия токсинов (например, в случае алкогольной болезни печени).

Противовоспалительные лекарственные средства, такие как кортикоиды и колхицин, также известны для применения в лечении воспаления, которое может привести к фиброзу печени. Как известно в данной области, фиброз печени может быть клинически классифицирован на пять степеней тяжести (S0, S1, S2, S3 и S4), обычно на основании гистологического исследования биопсийного образца. S0 указывает на отсутствие фиброза, тогда как S4 указывает на цирроз. Хотя существуют различные критерии установления тяжести фиброза печени, в целом на ранних стадиях фиброза выявляются отдельные локализованные области рубцевания в одном портале (зоне) печени, тогда как более поздние стадии фиброза идентифицируются как мостиковый фиброз (рубцевание, которое пересекает зоны печени).

В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу лечения или предупреждения фиброза органов у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или сарказинового конъюгата.

В одном варианте осуществления фиброз представляет собой фиброз печени.

В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу лечения или предупреждения желудочно-кишечного заболевания у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или сарказинового конъюгата.

В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу лечения желудочно-кишечного заболевания. В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу предупреждения желудочно-кишечного заболевания. В одном варианте осуществления желудочно-кишечное заболевание выбрано из воспалительного заболевания кишечника (IBD), синдрома раздраженного кишечника (IBS), чрезмерного развития микрофлоры, малабсорбции, пострадиационного колита и микроскопического колита. В одном варианте осуществления воспалительное заболевание кишечника выбрано из болезни Крона и язвенного колита.

В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу лечения или предупреждения заболевания почек у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или сарказинового конъюгата.

В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу лечения заболевания почек. В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу предупреждения заболевания почек. В одном варианте осуществления заболевание почек выбрано из диабетической нефропатии, фокально-сегментарного гломерулосклероза (FSGS), гипертонического нефросклероза, хронического гломерулонефрита, хронической посттрансплантационной нефропатии, хронического интерстициального нефрита и поликистозного заболевания почек.

В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу лечения или предупреждения метаболического заболевания у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или сарказинового конъюгата.

В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу лечения заболевания почек. В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу предупреждения заболевания почек. В одном варианте осуществления метаболическое заболевание выбрано из резистентности к инсулину, гипергликемии, сахарного диабета, диажирения и ожирения. В одном варианте осуществления сахарный диабет представляет собой диабет I типа. В одном варианте осуществления сахарный диабет представляет собой диабет II типа.

Сахарный диабет, зачастую называемый диабетом, относится к заболеванию или состоянию, которое обычно характеризуется метаболические дефекты в выработке и утилизации глюкозы, что приводит к неспособности поддерживать уровень сахара в крови в организме.

В случае диабета II типа, заболевание характеризуется резистентностью к инсулину, при которой инсулин теряет способность проявлять свои биологические эффекты в широком диапазоне концентраций. Эта устойчивость к чувствительности к инсулину приводит к недостаточной активации инсулина при поглощении глюкозы, окислению и хранению в мышцах, а также недостаточному подавлению инсулином липолиза в жировой ткани и выработке глюкозы и секреции в печени. В результате возникает повышенный уровень глюкозы в крови, который называется "гипергликемия". Неконтролированная гипергликемия связана с повышенной и преждевременной смертностью в связи с повышенным риском микросудистых и макросудистых заболеваний, в том числе ретинопатии (ухудшение или потеря зрения из-за повреждения кровеносных сосудов в глазах); нейропатии (повреждение нервов и проблемы с ногами из-за повреждения кровеносных сосудов нервной системы); и нефропатии (заболевания почек из-за повреждения кровеносных сосудов в почках), повышенного кровяного давления, нарушения мозгово-

го кровообращения и ишемической болезни сердца. Таким образом, контроль гомеостаза глюкозы является критически важным подходом к лечению диабета.

Была выдвинута гипотеза, что резистентность к инсулину объединяет кластеризацию гипертонии, непереносимость глюкозы, гиперинсулинемию, повышенные уровни триглицеридов и сниженный холестерин HDL, и центральное и общее ожирение. Ассоциация резистентности к инсулину с непереносимостью глюкозы, увеличением уровня триглицеридов в плазме и снижением концентрации холестерина липопротеинов высокой плотности, гипертонией, гиперурикемией, более плотными липопротеинами низкой плотности и более высокими уровнями циркуляции ингибитора-активатора плазминогена-1 была названа "синдром X". Соответственно, представлены способы лечения или предупреждения любых нарушений, связанных с резистентностью к инсулину, в том числе кластер заболеваний, состояний или нарушений, которые составляют "синдром X". В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу лечения или предупреждения метаболического синдрома у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольваты или коньюгата с аминокислотой. В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу лечения метаболического синдрома. В другом варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу предупреждения метаболического синдрома.

В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу лечения или предупреждения рака у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, сольваты или коньюгата с аминокислотой. В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу лечения рака. В одном варианте осуществления настоящего изобретение относится к способу предупреждения рака. В одном варианте осуществления рака выбран из гепатоцеллюлярной карциномы, колоректального рака, рака желудка, рака почек, рака предстательной железы, рака надпочечников, рака поджелудочной железы, рака молочной железы, рака мочевого пузыря, рака слюнных желез, рака яичников, рака тела матки и рака легких. В одном варианте осуществления рака представляет собой гепатоцеллюлярную карциному. В одном варианте осуществления рака представляет собой колоректальный рак. В одном варианте осуществления рака представляет собой рак желудка. В одном варианте осуществления рака представляет собой рак почек. В одном варианте осуществления рака представляет собой рак предстательной железы. В одном варианте осуществления рака представляет собой рак надпочечников. В одном варианте осуществления рака представляет собой рак поджелудочной железы. В одном варианте осуществления рака представляет собой рак молочной железы. В одном варианте осуществления рака представляет собой рак мочевого пузыря. В одном варианте осуществления рака представляет собой рак слюнных желез. В одном варианте осуществления рака представляет собой рак яичников. В одном варианте осуществления рака представляет собой рак тела матки. В одном варианте осуществления рака представляет собой рак легких.

Соответствующее лечение видов рака зависит от типа клетки, из которой образована опухоль, степени и тяжести злокачественного новообразования и генетического нарушения, которое способствует опухоли.

Системы установления стадии рака описывают степень прогрессирования рака. В целом, системы установления стадии описывают, как далеко распространилась опухоль и распределяет пациентов с подобным прогнозом и лечением в одну группу стадии. Как правило, существуют более плохие прогнозы для опухолей, которые стали инвазивными или метастазированными.

В одном типе системы установления стадии случаи сгруппированы в четыре стадии, обозначенные римскими цифрами от I до IV. На стадии I виды рака зачастую локализованы и обычно излечимы. Виды рака на стадии II и IIIA обычно более развиты и, возможно, вторглись в окружающие ткани и распространялись на лимфатические узлы. Виды рака на стадии IV включают метастатические виды рака, которые распространялись на области вне лимфатических узлов.

Другая промежуточная система представляет собой установление стадии TNM, которое обозначает категории: опухоль, узлы и метастазы. В этой системе злокачественные опухоли описаны в зависимости от тяжести отдельных категорий. Например, T классифицирует степень первичной опухоли от 0 до 4, при этом 0 представляет собой злокачественную опухоль, которая не обладает инвазивной активностью, а 4 представляет собой злокачественную опухоль, которая вторглась в другие органы, расширяясь от исходной области. N классифицирует степень вовлеченности лимфатических узлов, при этом 0 представляет собой злокачественное новообразование без участия лимфатических узлов, а 4 представляет собой злокачественное новообразование с обширным вовлечением лимфатических узлов. M классифицирует степень метастазирования от 0 до 1, при этом 0 представляет собой злокачественное новообразование без метастазов, а 1 представляет собой злокачественное новообразование с метастазами.

Данные системы установления стадии или вариации данных систем установления стадии или другие подходящие системы установления стадии можно применять для описания опухоли, например, гепатоцеллюлярной карциномы. Для лечения гепатоцеллюлярного рака в зависимости от стадии и особенностей рака доступно всего несколько вариантов. Варианты лечения включают хирургическое вмешательство.

ство, лечение посредством сорафениба и виды таргетной терапии. В целом, хирургическое вмешательство является первой линией лечения ранней стадии локализованного гепатоцеллюлярного рака. Для лечения инвазивных и метастатических опухолей могут использоваться дополнительные системные способы лечения.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения или предупреждения камней в желчном пузыре у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или саркозинового конъюгата.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения камней в желчном пузыре. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу предупреждения камней в желчном пузыре.

Желчный камень представляет собой кристаллический конкремент, образованный в желчном пузыре путем отложения желчных компонентов. Эти камни образуются в желчном пузыре, но могут дистально проходить в другие части желчного тракта, такие как пузырный проток, общий желчный проток, проток поджелудочной железы или фатерову ампулу. Редко, в случаях сильного воспаления, желчные камни могут прорываться через желчный пузырь в присоединенную кишку, потенциально вызывая обструкцию, называемую желчно-каменной непроходимостью кишечника. Наличие камней в желчном пузыре может приводить к острому холециститу, воспалительному состоянию, которое характеризуется удержанием желчи в желчном пузыре и зачастую вторичной инфекцией кишечными микроорганизмами, преимущественно *Escherichia coli*, и видами бактериоидов.

Наличие желчных камней в других частях пузырного протока может вызвать обструкцию пузырных протоков, которая может приводить к серьезным состояниям, таким как восходящий холангит или панкреатит.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения или предупреждения холестериновой желчекаменной болезни у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или саркозинового конъюгата.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения холестериновой желчекаменной болезни. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу предупреждения холестериновой желчекаменной болезни.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения или предупреждения неврологического заболевания у субъекта, включающему введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или саркозинового конъюгата.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения неврологического заболевания. В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу предупреждения неврологического заболевания. В одном варианте осуществления неврологическое заболевание представляет собой инсульт.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу, описанному в данном документе, и в котором, кроме того, соединение вводят посредством пути, выбранного из перорального, парентерального, внутримышечного, интраназального, сублингвального, интраптрахеального, ингаляционного, глазного, вагинального, ректального и интрацеребровентрикулярного. В одном варианте осуществления путь представляет собой пероральный.

В одном варианте осуществления соединение, используемое в одном или нескольких способах, описанных в данном документе, представляет собой агонист FXR. В одном варианте осуществления соединение представляет собой селективный агонист FXR. В другом варианте осуществления соединение не активирует TGR5. В одном варианте осуществления соединение не активирует другие ядерные рецепторы, вовлеченные в метаболические пути (например, как измерено посредством анализа AlphaScreen). В одном варианте осуществления такие другие ядерные рецепторы, вовлеченные в метаболические пути, выбраны из LXR $\beta$ , PXR, CAR, PPAR $\alpha$ , PPAR $\delta$ , PPAR $\lambda$ , RAR, RAR $\alpha$ , VDR, TR, PR, RXR, GR и ER. В одном варианте осуществления соединение индуцирует апоптоз.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу регулирования уровня экспрессии одного или нескольких генов, вовлеченных в гомеостаз желчной кислоты.

Способы по настоящему изобретению включают стадию введения эффективного количества соединения по настоящему изобретению. Применяемый в данном документе термин "эффективное количество" относится к количеству соединения по настоящему изобретению, которое является достаточным для достижения указанного эффекта.

Соответственно, эффективное количество соединения по настоящему изобретению, применяемое в способе предупреждения или лечения опосредованных FXR заболеваний или состояний, будет представлять собой количество, достаточное для предупреждения или лечения опосредованного FXR заболевания или состояния.

Подобным образом, эффективное количество соединения по настоящему изобретению для приме-

нения в способе предупреждения или лечения холестатического заболевания печени или увеличения оттока желчи будет представлять собой количество, достаточное для повышения оттока желчи в кишечник.

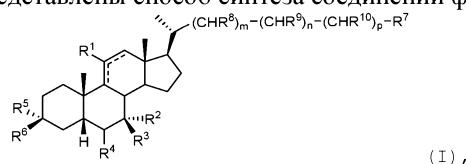
Количество соединения по настоящему изобретению, которое необходимо для достижения необходимого биологического эффекта, будет зависеть от ряда факторов, таких как применение, для которого оно предназначено, средств введения и получателя, и будет в конечном счете по усмотрению сопутствующего врача или ветеринара.

Как правило, ожидается, что обычная суточная доза для лечения опосредованного FXR заболевания и состояния, например, будет находиться в диапазоне от приблизительно 0,01 до приблизительно 100 мг/кг. Данную дозу можно вводить в виде единичной дозы или в виде нескольких отдельных стандартных доз или в виде непрерывной инфузии. Подобные дозировки будут применяться для лечения других заболеваний, состояний и способов лечения, включая профилактику и лечение холестатических заболеваний печени.

#### Синтез соединений по настоящему изобретению

Следующие схемы и примеры являются иллюстративными и не должны каким-либо образом толковаться как ограничивающие объем настоящего изобретения.

В настоящем изобретении представлены способ синтеза соединений формулы I



или их фармацевтически приемлемой соли, сольват или коньюгата с аминокислотой, где  $R^1-R^{10}$ ,  $m$ ,  $n$ ,  $p$  и --- определены в данном документе.

Способ синтеза по настоящему изобретению может допускать широкое разнообразие функциональных групп, следовательно, можно применять различные замещенные исходные материалы. Обычно способы обеспечивают желаемое конечное соединение в конце или ближе к концу всего способа, хотя в некоторых случаях может быть желательно дополнительно преобразовать соединение в его фармацевтически приемлемую соль, сольват или коньюгат с аминокислотой.

Соединения по настоящему изобретению могут быть получены различными способами с использованием коммерчески доступных исходных материалов, соединений, известных в литературе или из легко получаемых промежуточных продуктов, путем использования стандартных способов синтеза и процедур, либо специалисту в данной области, либо которые будут очевидны опытному специалисту ввиду изложенных здесь идей. Стандартные способы синтеза и процедуры получения органических молекул и трансформации и управления функциональной группой могут быть получены из соответствующей научной литературы или из стандартных учебников в этой области. Хотя без ограничения одним или несколькими источниками, классические тексты, такие как Smith M. B., March, J., March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5th edition, John Wiley & Sons: New York, 2001; and Greene, T.W., Wuts, P.G. M., Protective Groups in Organic Synthesis, 3rd edition, John Wiley & Sons: New York, 1999, включенных в данный документ посредством ссылки, пригодны и признанные справочные учебники по органическому синтезу, известные в данной области. Следующие описания способов синтеза предназначены для иллюстрации, а не ограничения, общих процедур получения соединений по настоящему изобретению.

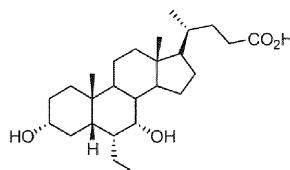
Все сокращения, применяемые в данной заявке, найдены в "Protective Groups in Organic Synthesis" by John Wiley & Sons, Inc., или в MERCK INDEX by MERCK & Co., Inc., или других химических книгах или химических каталогах поставщиками химических веществ, такими как Aldrich, или согласно использованию, известному в данной области.

Способ синтеза для получения соединений по настоящему изобретению можно применять в соответствии с процедурами, приведенными ниже на схемах 1-6.

#### Фармакология соединений по настоящему изобретению

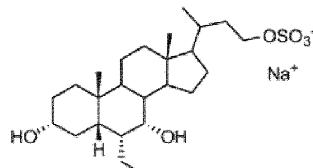
Как правило, потенциал соединения по настоящему изобретению в качестве лекарственного средства-кандидата может быть протестирован с использованием различных анализов, известных в данной области. Например, для подтверждения *in-vitro* FXR, его активность и селективность можно оценивать с использованием AlphaScreen (биохимического анализа); экспрессия генов можно оценивать с использованием RT-PCR (целевой ген FXR); и цитотоксичность (например, НерG2) можно оценивать с использованием содержимого ATP, высвобождения LDH и активации каспазы-3. Для подтверждения *in-vitro* TGR5, его активность и селективность можно оценивать с использованием HTR-FRET (клеточный анализ); экспрессию генов можно оценивать с использованием RT-PCR (целевой ген TGR5 (т.е., cFOS)); и цитотоксичность (например, НерG2) можно оценивать с использованием содержимого ATP, высвобождения LDH и активации каспазы-3. Следующие соединения можно применять в качестве контролей в примерах ниже.

Применяемое в данном документе соединение A представляет собой



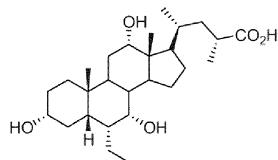
которое также известно как какобетихолевая кислота, INT-747, 6-ECDCA, 6-альфа-этилхенодезоксихолевая кислота или 6 $\alpha$ -этил-3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -дигидрокси-5 $\beta$ -холан-24-оевая кислота.

Применяемое в данном документе соединение В представляет собой



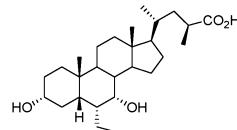
которое также известно как INT-767 или 6 $\alpha$ -этил-3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,23-тригидрокси-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-сульфатная натриевая соль.

Применяемое в данном документе соединение С представляет собой



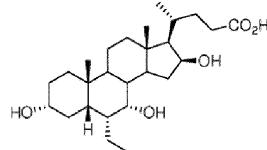
которое также известно как INT-777 или 6 $\alpha$ -этил-23(S)-метил-3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,12 $\alpha$  тригидрокси-5 $\beta$ -холан-24-оевая кислота.

Применяемое в данном документе соединение D представляет собой

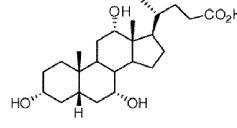


которое также известно как 6 $\alpha$ -этил-23(R)-метил хенодезоксихолевая кислота, и S-EMCDCA.

Применяемое в данном документе соединение Е представляет собой

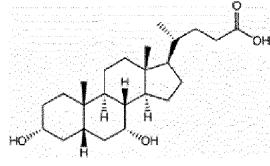


Применяемая в данном документе холевая кислота представляет собой



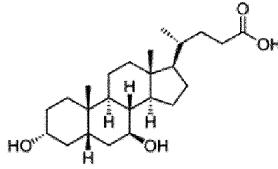
которая также известна как CA.

Применяемая в данном документе хенодезоксихолевая кислота представляет собой



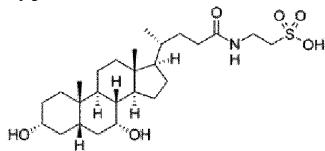
которая также известна как CDCA.

Применяемая в данном документе урсодезоксихолевая кислота представляет собой



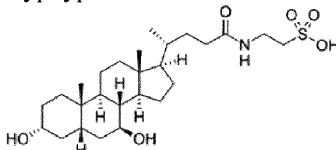
которая также известна как UDCA.

Применяемая в данном документе таурохенодезоксихолевая кислота представляет собой



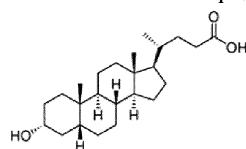
которая также известна как TCDCA.

Применяемая в данном документе таурурсодезоксихолевая кислота представляет собой



которая также известна как TUDCA.

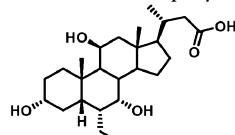
Применяемая в данном документе литохолевая кислота представляет собой



которая также известна как LCA.

### Примеры

Пример 1. Синтез 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-оевой кислоты (соединение 1)



Соединение 1 получали в соответствии с процедурами, описанными на схеме 1 и из 6-этил-холевой кислоты (6-ECA, соединение A1) в качестве исходного материала. Соединение A1 получали посредством способов, известных в данной области. Например, соединение A1 может быть получено посредством процедур, описанных в Pellicciari R., et al., J. Med. Chem. 2009, 52, 7958-7961.

Схема 1

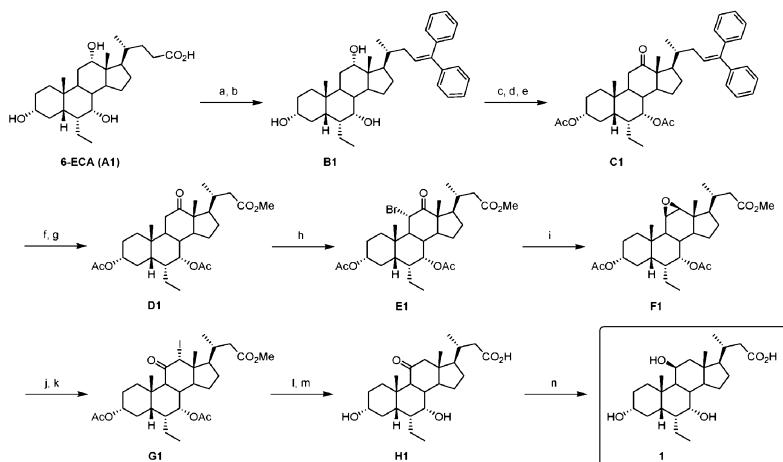


Схема 1. Реагенты и условия: а) MeOH, p-TSA, ультразвук; б) PhMgBr в Et<sub>2</sub>O, THF, обратный холодильник; HCl, EtOH, обратный холодильник, а затем при комнатной температуре; в) MeOAc, p-TSA, обратный холодильник; г) MeOH, p-TSA, обратный холодильник; д) PCC, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; е) Ac<sub>2</sub>O, Bi(OTf)<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; ф) NaIO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, RuCl<sub>3</sub>, MeCN, EtOAc; г) MeOH, p-TSA, обратный холодильник; и) Br<sub>2</sub>, бензол, 30°C; и) NaBH<sub>4</sub>, NaOAc, пиридин, 25°C; j) H<sub>2</sub>, AcOH; к) CrO<sub>3</sub>, AcOH; l) Zn пыль, NaOAc, AcOH, обратный холодильник; м) NaOH, MeOH, H<sub>2</sub>O, обратный холодильник и н) NaBH<sub>4</sub>, THF, H<sub>2</sub>O.

3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-5 $\beta$ -биснорхоланилдифенилэтилен (соединение B1):

Раствор соединения A1 (8 г, 18,32 ммоль) и пара-толуолсульфоновой кислоты (p-TSA) (352 мг, 1,83 ммоль) в MeOH (200 мл) обрабатывали ультразвуком в течение 3 ч. Смесь концентрировали под вакуумом, разбавляли CHCl<sub>3</sub> и промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>. Органическую фазу промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, и концентрировали при пониженном давлении с получением 7,96 г производного метил ба-этилхолата. Сложный метиловый эфир, образованный таким образом (17,66 ммоль), растворяли в свежедистиллированном THF (80 мл) и смесь подогревали до 50°C

при магнитном перемешивании и атмосфере аргона. PhMgBr в Et<sub>2</sub>O (176,6 ммоль) затем добавляли по каплям и полученную в результате смесь нагревали с обратным холодильником в течение 14 ч. Суспензию обрабатывали водным HCl (50 мл) и экстрагировали EtOAc (3×120 мл). Собранные органические слои промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали при пониженном давлении. Полученное в результате масло обрабатывали 160 мл HCl:EtOH (3:1, об./об.), нагревали с обратным холодильником в течение 3 ч и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. EtOH удаляли под вакуумом и смесь экстрагировали EtOAc (3×100 мл). Объединенные органические фазы промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством фреш-хроматографии на силикагеле с получением необходимого продукта B1 с 76% выходом (7,7 г, 13,85 ммоль).

3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -диацетокси-12-оксо-6 $\alpha$ -этил-5 $\beta$ -биснорхоланилдифенилэтилен (соединение C1):

Раствор соединения B1 (7,7 г, 13,85 ммоль) и p-TSA (266 мг, 1,3 8 ммоль) в MeOAc (70 мл) нагревали с обратным холодильником в течение 2 дней. Смесь промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали под вакуумом с получением 8,15 г 3 $\alpha$ -ацетокси-7 $\alpha$ ,12 $\alpha$ -дигидрокси-6 $\alpha$ -этил-5 $\beta$ -биснорхоланилдифенилэтилена. Неочищенный продукт (8,18 г) растворяли в сухом CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (270 мл). Добавляли пиридиния хлорхромат (PCC) (2,95 г) и смесь перемешивали в течение 4 ч. Полученную в результате коричневую суспензию фильтровали, обрабатывали водным HCl, и органический слой промывали H<sub>2</sub>O и солевым раствором. После высушивания над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрирования при пониженном давлении неочищенный продукт очищали посредством фреш-хроматографии на силикагеле с получением 5,6 г (9,39 ммоль) необходимого 12-оксо производного. Промежуточное соединение затем растворяли в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (80 мл), обрабатывали Ac<sub>2</sub>O (4,5 мл, 46,95 ммоль), Bi(OTf)<sub>3</sub> (306 мг, 0,469 ммоль) и перемешивали в течение 40 мин. Суспензию, полученную таким образом, фильтровали и подкисляли водным HCl. Органическую фазу промывали H<sub>2</sub>O и солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт фильтровали на подушке с силикагелем с получением 5,3 г (8,29 ммоль) соединения C1 с 60% выходом.

Метил 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -диацетокси-12-оксо-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-оат (соединение D1):

NaIO<sub>4</sub> (15,97 г, 74,66 ммоль) перемешивали в 15 мл H<sub>2</sub>O и 2 н. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (2,4 мл). Через 1 ч раствор охлаждали при 0°C, добавляли RuCl<sub>3</sub> (85,9 мг, 0,415 ммоль) и смесь перемешивали на магнитной мешалке в течение 1 ч. MeCN (23,5 мл) добавляли в качестве фазового перехода и через 5 мин раствор соединения C1 (5,3 г, 8,29 ммоль) в EtOAc (32,5 мл) по каплям добавляли и оставляли прореагировать в течение 1 ч. Смесь отфильтровывали, выливали в H<sub>2</sub>O и экстрагировали EtOAc (3×100 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали при пониженном давлении. Полученный в результате остаток фильтровали на подушке с силикагелем с получением производного 5,33 г 6 $\alpha$ -этил-24-нор-холевой кислоты, которое растворяли в MeOH (90 мл), обрабатывали ультразвуком в присутствии p-TSA (160 мг, 0,829 ммоль) в течение 3 ч, а затем нагревали с обратным холодильником в течение 1 ч. Смесь концентрировали под вакуумом, разбавляли CHCl<sub>3</sub> и промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>. Органическую фазу промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт очищали посредством фреш-хроматографии на силикагеле с получением соединения D1 с 8 6% выходом (3,73 г, 7,19 ммоль).

Метил 11 $\alpha$ -бромин-3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -диацетокси-12-оксо-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-оат (соединение E1):

Раствор Br<sub>2</sub> в безводном бензole (2 М, 4,67 мл) по каплям добавляли к раствору соединения D1 (3,73 г, 7,19 ммоль) в бензole (156 мл). Полученный в результате красный раствор оставляли прореагировать при 30°C под вакуумом в атмосфере аргона в течение 3 дней. Смесь выливали в водный раствор Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> и желтую суспензию экстрагировали EtOAc (3×100 мл). Собранные органические слои промывали H<sub>2</sub>O и солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт очищали посредством фреш-хроматографии на силикагеле с получением соединения E1 в виде бело-желтого твердого вещества (2,65 г, 4,43 ммоль).

Метил 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -диацетокси-11 $\beta$ ,12 $\beta$ -оксо-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-оат (соединение F1):

NaOAc (2,65 г, 32,81 ммоль) и NaBH<sub>4</sub> (808 мг, 21,27 ммоль) добавляли к раствору соединения E1 (2,65 г, 4,43 ммоль) в свежедистиллированном пиридине (27,5 мл) и суспензию оставляли прореагировать при 25°C в атмосфере N<sub>2</sub> в течение 14 ч. Смесь обрабатывали водным HCl и экстрагировали EtOAc (3×80 мл). Объединенные органические фазы промывали H<sub>2</sub>O, солевым раствором и высушивали под вакуумом. Неочищенное масло очищали посредством фреш-хроматографии на силикагеле с получением 1,52 г (2,85 ммоль) соединения F1 с 64% выходом.

Метил 12 $\alpha$ -йодин-3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -диацетокси-11-оксо-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-оат (соединение G1):

К раствору соединения F1 (1,52 г, 2,85 ммоль) в AcOH (40 мл), по каплям добавляли H<sub>1</sub> 57% (3,6 г, 28,5 ммоль) и смесь оставляли прореагировать при комнатной температуре в течение 30 мин. Смесь обрабатывали водным раствором NaHSO<sub>3</sub>, выливали в ледяную H<sub>2</sub>O, фильтровали и полученное в результате твердое вещество растворяли в AcOH (35 мл). По каплям добавляли раствор CrO<sub>3</sub> (1,4 г, 14,3 ммоль)

в AcOH (40 мл) и H<sub>2</sub>O (8 мл) и смесь перемешивали в течение 45 мин. Реакцию гасили водным раствором NaHSO<sub>3</sub> и выливали в ледяную воду. Суспензию фильтровали и твердое вещество растворяли в CHCl<sub>3</sub>. Раствор затем промывали H<sub>2</sub>O, солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством фреш-хроматографии на силикагеле с получением соединения G1 в виде чистого продукта (1 г, 1,67 ммоль).

3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ -дигидрокси-11-оксо-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-оевая кислота (соединение H1):

NaOAc (3,8 г, 4,676 ммоль) и Zn пыль (3,8 г, 58,45 ммоль) добавляли к раствору соединения G1 (1 г, 1,69 ммоль) в AcOH (30 мл) и полученную в результате суспензию нагревали с обратным холодильником в течение 2 ч. Смесь фильтровали и фильтрат обрабатывали H<sub>2</sub>O при 0°C до осаждения. Осадок растворяли в CHCl<sub>3</sub> и водную фазу экстрагировали CHCl<sub>3</sub> (3×50 мл). Собранные органические слои обрабатывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, а затем концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт (880 мг) растворяли в MeOH и H<sub>2</sub>O, добавляли NaOH (25,45 ммоль) и смесь нагревали с обратным холодильником в течение 36 ч. Полученный в результате раствор концентрировали при пониженном давлении, разбавляли H<sub>2</sub>O и обрабатывали водным HCl. Его экстрагировали CHCl<sub>3</sub> (3×50 мл) и объединенные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали под вакуумом с получением соединения H1.

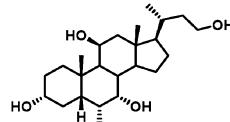
3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-оевая кислота (соединение 1):

К раствору соединения H1 (650 мг, 1,54 ммоль) в THF:H<sub>2</sub>O (33 мл, 4:1 об./об.), NaBH<sub>4</sub> (407 мг, 10,78 ммоль) добавляли порциями при 0°C и полученную в результате суспензию оставляли прореагировать при комнатной температуре в течение 5 ч. После обработки H<sub>2</sub>O и водным HCl неочищенную реакционную смесь экстрагировали CHCl<sub>3</sub> (3×50 мл). Собранные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, и концентрировали под вакуумом с получением 650 мг соединения 1 (1,69 ммоль, количественный выход) (9% общий выход из 1).

Соединение 1: <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 0,89 (3H, t, J=7,33 Гц, CH<sub>3</sub>-25), 0,94 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18), 1,04 (3H, d, J=5,46 Гц, CH<sub>3</sub>-21), 1,13 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 3,30-3,35 (1H, m, CH-3), 3,71 (1H, s, CH-7), 4,19 (1H, s, CH-11).

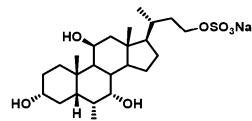
<sup>13</sup>C-ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 12,0, 14,6, 19,9, 23,5, 24,6, 27,7, 29,1, 31,9, 34,7, 35,2, 36,4, 36,9, 38,3 (2×), 42,6 (2×), 42,8, 49,5, 49,9, 52,2, 57,9, 69,0, 71,4, 73,3, 177,7.

Пример 2. Синтез 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-ол (соединение 2)



Соединение 2 получали в соответствии с процедурами, приведенными на схеме 2. Соединение 2 получали из соединения 1 в качестве исходного материала.

Пример 3. Синтез 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,23-тетрагидрокси-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-O-сульфатной натриевой соли (соединение 3)



Соединение 3 получали в соответствии с процедурами, приведенными на схеме 2. Соединение 3 получали из соединения 1 в качестве исходного материала.

Схема 2

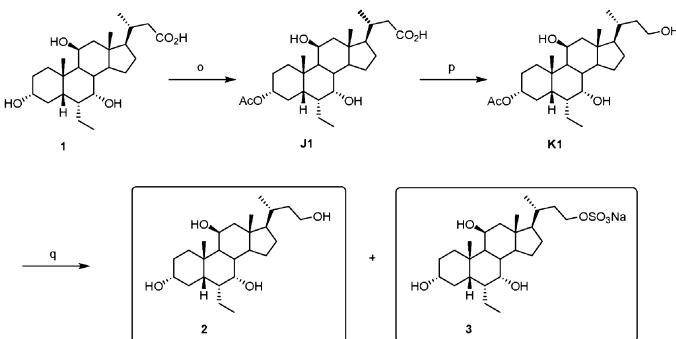


Схема 2. Реагенты и условия: о) Ac<sub>2</sub>O, THF, обратный холодильник; р) EtCOCl, Et<sub>3</sub>N, THF; NaBH<sub>4</sub>, THF, H<sub>2</sub>O; и q) PyrSO<sub>3</sub>, пиридин; NaOH, MeOH, H<sub>2</sub>O, обратный холодильник.

3 $\alpha$ -ацетокси-7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -дигидрокси-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-оевая кислота (соединение J1):

Ac<sub>2</sub>O (2,08 мл, 21,6 ммоль) добавляли к раствору соединения 1 (460 мг, 1,08 ммоль) в THF (35 мл) и

смесь нагревали с обратным холодильником в течение 18 ч. Полученный в результате раствор обрабатывали водным HCl экстрагировали EtOAc (3×30 мл). Объединенные органические фазы промывали H<sub>2</sub>O, солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством флеш-хроматографии на силикагеле с получением соединения J1 (255 мг, 0,548 ммоль).

3 $\alpha$ -ацетокси-7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -дигидрокси-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-ол (соединение K1):

Раствор соединения J1 (250 мг, 0,538 ммоль), EtCOCl (0,51 мл, 5,326 ммоль) и Et<sub>3</sub>N (0,81 мл, 5,649 ммоль) в THF (7,5 мл) оставляли прореагировать в течение 14 ч. при комнатной температуре. Реакционную смесь затем фильтровали, обрабатывали суспензией NaBH<sub>4</sub> (30 6 мг, 8,07 ммоль) в H<sub>2</sub>O (2,5 мл) и перемешивали в течение 2 ч. Смесь подкисляли водным HCl и экстрагировали EtOAc (3×30 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором, высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт фильтровали на подушке с силикагелем с получением соединения K1 (150 мг, 0,333 ммоль).

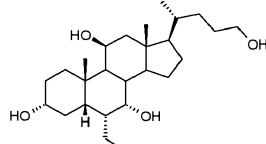
3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-ол(2) и 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ ,23-тетрагидрокси-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-О-сульфатная натриевая соль (соединение 3):

К раствору соединения K1 (150 мг, 0,333 ммоль) в пиридине (6 мл) добавляли PytSO<sub>3</sub> (133 мг, 0,832 ммоль) и полученную в результате смесь перемешивали в атмосфере аргона в течение 24 ч. Реакционную смесь разбавляли H<sub>2</sub>O (2 мл) и концентрировали при пониженном давлении для удаления пиридина. Остаток обрабатывали раствором NaOH (200 мг, 4,995 ммоль) в MeOH:H<sub>2</sub>O (10 мл) и нагревали с обратным холодильником в течение ночи. Смесь высушивали под вакуумом с удалением MeOH, разбавляли H<sub>2</sub>O (2 мл) и промывали Et<sub>2</sub>O (3×20 мл): объединенные эфирные фазы промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и очищали посредством флеш-хроматографии с получением 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-ола (2) в виде чистого белого твердого вещества (55 мг, 0,134 ммоль). Водную щелочную фазу фильтровали на обратнофазовой подушке RP-18 с получением соединения 3 в виде чистого белого твердого вещества (60 мг, 0,117 ммоль).

Соединение 2: <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 0,88-0,92 (6H, m, CH<sub>3</sub>-25, CH<sub>3</sub>-18), 0,97 (3H, d, J=6,5 Гц, CH<sub>3</sub>-21), 1,14 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 3,40-3,47 (1H, m, CH-3), 3,62-3,72 (2H, m, CH<sub>2</sub>-23), 3,80 (1H, s, CH-7), 4,25 (1H, d, J=2,72 Гц, CH-11). <sup>13</sup>C-ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 11,6, 14,4, 18,8, 22,2, 23,8, 27,0, 28,0, 31,1, 32,9, 34,1, 35,3, 35,7, 36,4, 37,1, 38,8, 40,6, 41,6, 47,7, 48,8, 50,9, 56,8, 60,7, 68,8, 71,0, 72,3.

Соединение 3: <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 0,90-0,94 (6H, m, CH<sub>3</sub>-25, CH<sub>3</sub>-18), 1,04 (3H, d, J=6,4 Гц, CH<sub>3</sub>-21), 1,15 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 3,32-3,40 (1H, m, CH-3), 3,74 (1H, s, CH-7), 4,02-4,08 (2H, m, CH<sub>2</sub>-23), 4,21 (1H, s, CH-11). <sup>13</sup>C-ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 12,0, 14,6, 19,1, 23,5, 24,7, 27,7, 29,1, 31,9, 34,3, 34,8, 36,4, 36,5, 36,9, 38,3 (×2), 42,6, 42,8, 49,5, 50,0, 52,2, 58,2, 67,2, 69,0, 71,4, 73,3.

Пример 4. Синтез 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-5 $\beta$ -холан-24-ол (соединение 4)



4 получали в соответствии с процедурами, приведенными на схеме 3. Синтез 4 получали из соединения L1 в качестве исходного материала. Соединение L1 получали посредством способов, известных в данной области. Например, соединение L1 может быть получено посредством процедур, описанных в публикации заявки на патент США № 2014/0371190.

Схема 3

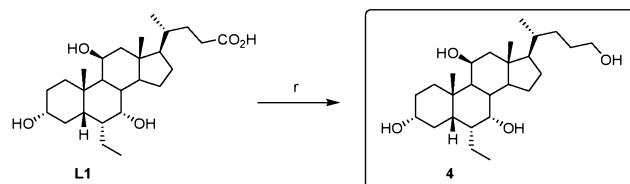


Схема 3. Реагенты и условия: г) LiAlH<sub>4</sub>, THF, от 0°C до комнатной температуры.

3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-5 $\beta$ -холан-24-ол (соединение 4):

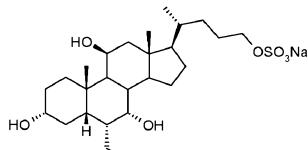
Раствор соединения L1 (25 мг, 0,057 ммоль) в THF (2 мл) по каплям добавляли к суспензии LiAlH<sub>4</sub> (21,8 мг, 0,572 ммоль) в THF (1 мл), охлаждали при 0°C. Полученную в результате смесь оставляли прореагировать в атмосфере аргона и при комнатной температуре в течение 12 ч. Суспензию разбавляли EtOAc (5 мл), обрабатывали вначале H<sub>2</sub>O, а затем водным HCl, и в конце экстрагировали EtOAc (3×5 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт очищали посредством флеш-хроматографии с получением соединения 4 в виде чистого белого твердого вещества (21 мг, 0,051 ммоль, 90% выход).

Соединение 4: <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 0,88-0,92 (6H, m, CH<sub>3</sub>-26, CH<sub>3</sub>-18), 1,00 (3H, d, J=6,25

Гц, CH<sub>3</sub>-21), 1,14 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 3,31-3,40 (1H, m, CH-3), 3,48-3,55 (2H, m, CH<sub>2</sub>-24), 3,73 (1H, s, CH-7), 4,19 (1H, s, CH-11).

<sup>13</sup>C-ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 12,0, 14,6, 19,2, 23,5, 24,7, 27,7, 29,1, 30,3, 31,9, 33,2, 34,8, 36,4, 36,9, 37,2, 38,3 (×2), 42,6, 42,7, 49,5, 50,1, 52,2, 58,1, 63,6, 69,1, 71,4, 73,3.

Пример 5. Синтез 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-5 $\beta$ -холан-24-О-сульфат, натриевой соли (соединение 5)



Соединение 5 получали в соответствии с процедурами, приведенными на схеме 4. Синтез соединения 5 получали из соединения М1 в качестве исходного материала. Соединение М1 получали посредством способов, известных в данной области. Например, соединение М1 может быть получено посредством процедур, описанных в публикации заяки на патент США № 2014/0371190.

Схема 4

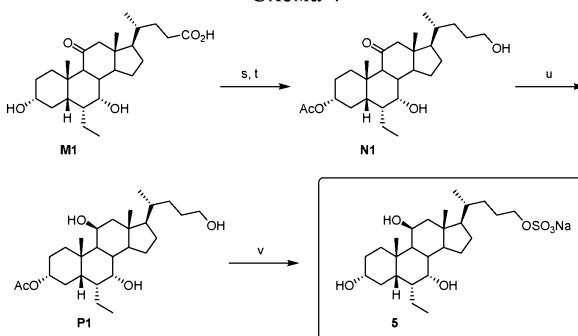


Схема 4. Реагенты и условия: s) Ac<sub>2</sub>O, NaHCO<sub>3</sub>, THF, обратный холодильник; t) Et<sub>3</sub>N, ClCO<sub>2</sub>Et, THF, к.т.; NaBH<sub>4</sub>, THF, H<sub>2</sub>O; u) NaBH<sub>4</sub>, THF, H<sub>2</sub>O; и v) PyrSO<sub>3</sub>, пиридин; NaOH, MeOH, H<sub>2</sub>O.

3 $\alpha$ -ацетокси-7 $\alpha$ -гидрокси-11-оксо-6 $\alpha$ -этил-5 $\beta$ -холан-24-ол (соединение N1):

К раствору соединения М1 (120 мг, 0,27 ммоль) в свежедистиллированном THF (4 мл), NaHCO<sub>3</sub> (417 мг, 4,97 ммоль) и добавляли Ac<sub>2</sub>O (0,47 мл, 4,97 ммоль) и супензию нагревали с обратным холодильником в течение 24 ч в атмосфере аргона. Смесь охлаждали до комнатной температуры, обрабатывали водным HCl и экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Собранные органические фазы последовательно промывали водным HCl, водой, а насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, солевым раствором и высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. После концентрирования при пониженном давлении, неочищенный продукт растворяли в свежедистиллированном THF (3 мл), обрабатывали Et<sub>3</sub>N (0,22 мл, 1,54 ммоль) и ClCO<sub>2</sub>Et (0,14 мл, 1,45 ммоль) и смесь оставляли прореагировать при комнатной температуре в течение 2 ч в атмосфере аргона. Супензию фильтровали и фильтрат обрабатывали супензией NaBH<sub>4</sub> (125 мг, 3,30 ммоль) в H<sub>2</sub>O (1 мл) и перемешивали в течение 3 ч. Смесь подкисляли водным HCl и экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Объединенные органические слои промывали H<sub>2</sub>O, солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт очищали посредством фляш-хроматографии с получением таким образом соединения N1 (70 мг, 0,15 ммоль).

3 $\alpha$ -ацетокси-7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -дигидрокси-6 $\alpha$ -этил-5 $\beta$ -холан-24-ол (соединение P1):

К раствору соединения N1 (0,15 ммоль) в двухкомпонентной смеси THF и H<sub>2</sub>O добавляли NaBH<sub>4</sub> (3,75 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 ч. Супензию обрабатывали водным HCl и экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Собранные органические фазы промывали H<sub>2</sub>O, солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения P1 с количественным выходом.

3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-5 $\beta$ -холан-24-О-сульфат, натриевая соль (соединение 5):

PyrSO<sub>3</sub> (48 мг, 0,30 ммоль) добавляли к раствору соединения P1 (70 мг, 0,15 ммоль) в пиридине (2,7 мл) и оставляли прореагировать при комнатной температуре в течение 30 ч в атмосфере аргона. Пиридин удаляли под вакуумом и остаток перемешивали с раствором NaOH (60 мг, 1,5 ммоль) в смеси MeOH и H<sub>2</sub>O в течение 3 дней. Смесь концентрировали при пониженном давлении для выпаривания MeOH, добавляли H<sub>2</sub>O (2 мл) и промывали Et<sub>2</sub>O (3×10 мл). Водную щелочную фазу фильтровали на обратнофазовой подушке RP-18 с получением соединения 5 (47 мг, 0,085 ммоль, 57% выход) в виде чистого белого твердого вещества.

Соединение 5: <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 0,88-0,92 (6H, m, CH<sub>3</sub>-18, CH<sub>3</sub>-26), 1,00 (3H, d, J=6,3 Гц, CH<sub>3</sub>-21), 1,14 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 3,32-3,35 (1H, brm, CH-3), 3,72 (1H, brs, CH-7), 3,94-3,97 (2H, brm, CH<sub>2</sub>-24), 4,20 (1H, brs, CH-11).

<sup>13</sup>C-ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 12,1, 14,7, 19,1, 23,6, 24,7, 27,1, 27,7, 29,1, 31,9, 33,1, 34,8, 36,4, 36,9,

37,0, 38,3 (x 2), 42,6, 42,7, 49,5, 50,1, 52,2, 58,0, 69,1, 69,7, 71,4, 73,3.

Пример 6. Синтез 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-22-(1,2,4-оксациазол-5-оксо-3-ил)-23,24-биснор-5 $\beta$ -холана (соединение 6)

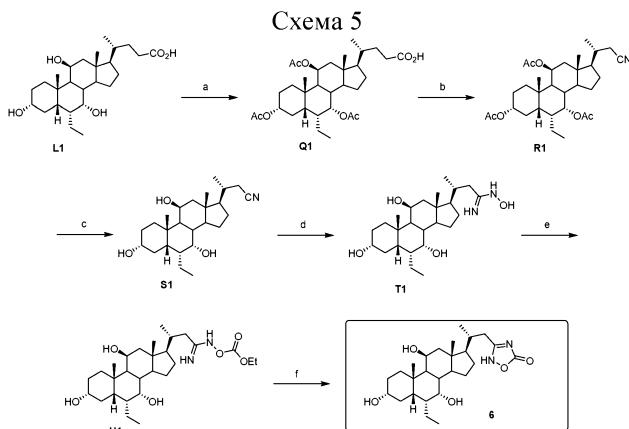


Схема 5. Реагенты и условия: a)  $\text{Ac}_2\text{O}$ ,  $\text{Bi}(\text{OTf})_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; b) TFAA,  $\text{NaNO}_2$ , TFA; c)  $\text{NaOH}$ ,  $\text{MeOH}$ ; d)  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3\cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{EtOH}$ ; e)  $\text{ClCO}_2\text{Et}$ , пиридин,  $\text{THF}$ ; f) пиридин, толуол.

3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -триацетокси-6 $\alpha$ -этил-5 $\beta$ -холан-24-оевая кислота (соединение Q1):

К суспензии соединения L1 (660 мг, 1,5 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15 мл) добавляли  $\text{Ac}_2\text{O}$  (22,7 ммоль) и  $\text{Bi}(\text{OTf})_3$  (0,08 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь фильтровали и фильтрат обрабатывали  $\text{HCl}$  37%. Органическую фазу промывали  $\text{H}_2\text{O}$ , насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  и солевым раствором, высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали при пониженном давлении с получением Q1 (820 мг, 1,46 ммоль, 96% выход), которое применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Соединение Q1:  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,76 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -18), 0,87-0,90 (6H, m,  $\text{CH}_3$ -21,  $\text{CH}_3$ -26), 1,04 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 2,03-2,05 (6H, m,  $\text{OCOCH}_3$   $\times 2$ ), 2,08 (3H, s,  $\text{OCOCH}_3$ ), 4,52-4,61 (1H, m,  $\text{CH}$ -3), 5,20 (1H, s,  $\text{CH}$ -7), 5,25 (1H, s,  $\text{CH}$ -11).

3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -триацетокси-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-нитрил (соединение R1):

Суспензию соединения Q1 (820 мг, 1,46 ммоль) в TFA (4,6 мл) при 0°C обрабатывали TFAA (1,55 мл) и перемешивали при 0°C в течение 45 мин. Добавляли  $\text{NaNO}_2$  (4,4 ммоль) и смесь реагировали при 0°C в течение 45 мин и при 50°C в течение еще 45 мин. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и выливали в измельченный лед. Водную фазу фильтровали под вакуумом и полученное в результате желто-оранжевое твердое вещество растворяли в  $\text{EtOAc}$  (30 мл), промывали насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  и солевым раствором. Органический слой высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , концентрировали при пониженном давлении и с получением соединения R1 (770 мг) в виде неочищенного продукта, которое применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Соединение R1:  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,76 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -18), 0,84-0,87 (3H, m,  $\text{CH}_3$ -25), 1,02 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 1,08 (3H, d,  $J=6,4$  Гц,  $\text{CH}_3$ -21), 2,01 (6H, brs,  $\text{OCOCH}_3$   $\times 2$ ), 2,07 (3H, s,  $\text{OCOCH}_3$ ), 4,52-4,61 (1H, m,  $\text{CH}$ -3), 5,18 (1H, s,  $\text{CH}$ -7), 5,24 (1H, s,  $\text{CH}$ -11).

3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -холан-23-нитрил (соединение S1):

Соединение R1 (770 мг) растворяли в  $\text{MeOH}$  (10 мл) и нагревали с обратным холодильником в течение 3 дней с  $\text{NaOH}$  (1,2 г). После удаления растворителя остаток растворяли в  $\text{CHCl}_3$  (30 мл) и обрабатывали 1 н.  $\text{HCl}$ . Водную фазу экстрагировали  $\text{CHCl}_3$  и объединенные органические слои промывали  $\text{H}_2\text{O}$  и солевым раствором, высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством фреш-хроматографии на силикагеле с использованием  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  и  $\text{MeOH}$  в качестве элюирующих растворителей с получением соединения S1 (180 мг, 0,445 ммоль) с высокой степенью чистоты.

Соединение S1:  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,87-0,91 (6H, m,  $\text{CH}_3$ -18,  $\text{CH}_3$ -25), 1,13 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 1,17 (3H, d,  $J=6,5$  Гц,  $\text{CH}_3$ -21), 3,42-3,50 (1H, m,  $\text{CH}$ -3), 3,77 (1H, s,  $\text{CH}$ -7), 4,28 (1H, s,  $\text{CH}$ -11).

3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-24-нор-5 $\beta$ -гидрокси-5 $\beta$ -холан-23-амидин (соединение T1):

$\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  (557 мг) и  $\text{Na}_2\text{CO}_3\cdot 10\text{H}_2\text{O}$  (2,30 г) добавляли к раствору соединения S1 (180 мг, 0,445 ммоль) в  $\text{EtOH}$  (8 мл) и полученную в результате смесь нагревали с обратным холодильником в течение 2 дней. Суспензию охлаждали до комнатной температуры и фильтровали под вакуумом. Твердое вещество промывали  $\text{EtOAc}$  и органическую фазу промывали  $\text{H}_2\text{O}$ , солевым раствором, высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт, содержащий необходимое промежуточное соединение T1, применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Соединение T1:  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  0,90 (3H, t,  $J=7,3$  Гц,  $\text{CH}_3$ -25), 0,96-0,98 (6H, m,  $\text{CH}_3$ -

18, CH<sub>3</sub>-21), 1,14 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 3,31-3,40 (1H, m, CH-3), 3,72 (1H, s, CH-7), 4,20 (1H, s, CH-11).

3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-24-нор-N-[(этоксикарбонил)окси]-5 $\beta$ -холан-23-амидин (соединение U1):

К раствору соединения T1 (180 мг) в THF (2 мл) и пиридину (50 мкл, 0,6 ммоль), охлажденному при 0°C, по каплям добавляли раствор ClCO<sub>2</sub>Et (0,45 ммоль) в THF (1 мл) и полученную в результате сусpenзию перемешивали в атмосфере аргона в течение 30 мин. Смесь обрабатывали H<sub>2</sub>O и экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Собранные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрировали под вакуумом с получением соединения U1, которое применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Соединение U1: <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 0,86-0,92 (6H, m, CH<sub>3</sub>-25, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1,00 (3H, d, J=6, 1 Гц, CH<sub>3</sub>-21), 1,11 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18), 1,23 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 3,35-3,44 (1H, m, CH-3), 3,77 (1H, s, CH-7), 4,13-4,39 (3H, m, CH-11, CO<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4,90-5,05 (1H, m, NH).

3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-22-(1,2,4-оксациазол-5-оксо-3-ил)-23,24-биснор-5 $\beta$ -холан (соединение 6):

Соединение U1 (210 мг, 0,412 ммоль) растворяли в толуоле (6 мл) и пиридине (0,6 мл) и нагревали с обратным холодильником в атмосфере аргона в течение 20 ч. После охлаждения до комнатной температуры, смесь разбавляли EtOAc (10 мл) и промывали 1 н. HCl, H<sub>2</sub>O, насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> и солевым раствором. Органический слой высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрировали при пониженном давлении и очищали с получением соединения 6 (35 мг, 0,076 ммоль).

Соединение 6: <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 0,89-0,93 (3H, t, J=7,3 Гц, CH<sub>3</sub>-24), 0,96-0,99 (6H, m, CH<sub>3</sub>-18, CH<sub>3</sub>-21), 1,15 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 2,09 (1H, d, J=14,1 Гц), 2,37 (1H, d, J=12,3 Гц), 2,57 (1H, d, J=13,4 Гц), 3,31-3,40 (1H, m, CH-3), 3,66 (1H, s, OH), 3,73 (1H, s, CH-7), 4,21 (1H, s, CH-11).

<sup>13</sup>C-ЯМР (100,6 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 12,0, 14,7, 19,2, 23,5, 24,7, 27,6, 29,1, 31,9, 34,5, 34,7, 36,1, 36,4, 36,9, 38,2 (×2), 42,6, 43,0, 49,4, 49,9, 52,2, 58,4, 68,9, 71,3, 73,3, 169,3, 173,0.

Пример 7. Синтез 3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -тригидрокси-6 $\alpha$ -этил-23-(1,2,4-оксациазол-5-оксо-3-ил)-23-нор-5 $\beta$ -холан (соединение 7)

Схема 6

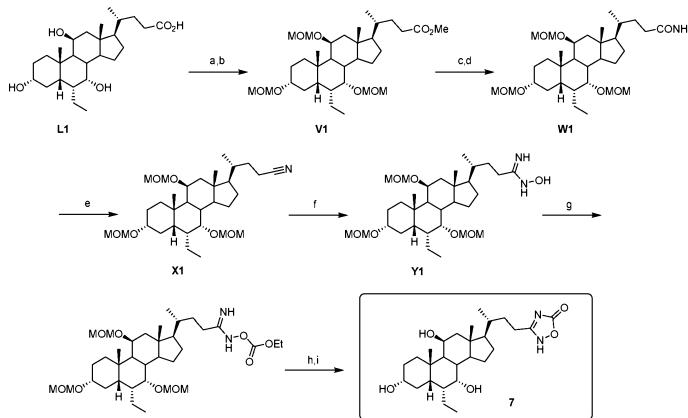


Схема 6. Реагенты и условия: а) MeOH, p-TSA, ультразвук; б) MOMCl, DIPEA, DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; в) NaOH, MeOH; г) ClCO<sub>2</sub>iBu, Et<sub>3</sub>N, THF, NH<sub>4</sub>OH 30%; е) CNCl, DMF; ф) NH<sub>2</sub>OH·HCl, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>·10H<sub>2</sub>O, EtOH; г) ClCO<sub>2</sub>Et, пиридин, THF; и) пиридин, толуол; и) HCl 3 н., ацетон.

Метил 6 $\alpha$ -этил-3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -триметоксиметилокси-5 $\beta$ -холан-24-оат (соединение V1):

Раствор соединения L1 (730 мг, 1,7 ммоль) и p-TSA (0,17 ммоль) в MeOH (10 мл) обрабатывали ультразвуком в течение 3 ч. Растворитель удаляли, остаток растворяли в EtOAc (10 мл) и промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>. Водную фазу экстрагировали EtOAc (2×10 мл) и объединенные органические слои промывали солевым раствором, высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт (700 мг, 1,55 ммоль) растворяли в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 мл) и нагревали с обратным холодильником с DIPEA (18,6 ммоль), DMAP (0,16 ммоль) и MOMCl (15,5 ммоль) в течение 3 дней. Смесь охлаждали до комнатной температуры и последовательно промывали насыщенным раствором NH<sub>4</sub>Cl, H<sub>2</sub>O и солевым раствором. Органическую фазу высушивали над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрировали при пониженном давлении и полученное неочищенное соединение V1, которое применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Соединение V1: <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 0,81 (3H, s, CH<sub>3</sub>-18), 0,85-0,89 (3H, m, CH<sub>3</sub>-26), 0,93 (3H, d, J=6,2 Гц, CH<sub>3</sub>-21), 1,10 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 3,34-3,40 (10H, m, CH-3, OCH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>×3), 3,53 (1H, s, CH-7), 3,65 (3H, s, CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,93 (1H, s, CH-11), 4,55-4,70 (6H, m, OCH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>×3).

6 $\alpha$ -этил-3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,11 $\beta$ -триметоксиметилокси-5 $\beta$ -холан-24-амид (соединение W1):

К раствору соединения V1 (980 мг, 1,6 ммоль) в MeOH (10 мл) добавляли NaOH (15,5 ммоль) и смесь оставляли прореагировать при 50°C. Растворитель удаляли под вакуумом, остаток растворяли в H<sub>2</sub>O

(5 мл) и обрабатывали HCl 1 н. Суспензию экстрагировали  $\text{CHCl}_3$  ( $3 \times 10$  мл) и объединенные органические фазы промывали  $\text{H}_2\text{O}$  и солевым раствором, высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт (840 мг) растворяли в свежедистиллированном THF (18 мл), охлаждали при  $0^\circ\text{C}$  и перемешивали с  $\text{Et}_3\text{N}$  (0,288 мл) и  $\text{ClCO}_2\text{iBu}$  (0,250 мл) в течение 20 мин в атмосфере аргона. Добавляли  $\text{NH}_4\text{OH}$  30% (0,28 мл) и полученную в результате суспензию реагировали в течение 40 мин при комнатной температуре. Смесь обрабатывали  $\text{H}_2\text{O}$  и экстрагировали  $\text{EtOAc}$  ( $3 \times 10$  мл). Собранные органические фазы промывали HCl 1 н.,  $\text{H}_2\text{O}$ , насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  и солевым раствором, высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения W1 (900 мг), которое применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Соединение W1:  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,62-0,82 (9H, m,  $\text{CH}_3$ -18,  $\text{CH}_3$ -21,  $\text{CH}_3$ -26), 0,99 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 3,22-3,30 (10H, m,  $\text{CH}$ -3,  $\text{OCH}_2\text{OCH}_3 \times 3$ ), 3,42 (1H, s,  $\text{CH}$ -7), 3,82 (1H, s,  $\text{CH}$ -11), 4,46-4,57 (6H, m,  $\text{OCH}_2\text{OCH}_3 \times 3$ ), 6,03 (1H, brs,  $\text{CONH}_2$ ), 6,27 (1H, brs,  $\text{CONH}_2$ ).

$6\alpha$ -этил- $3\alpha,7\alpha,11\beta$ - trimetoksimetiloksi- $5\beta$ -холан-24-нитрил (соединение X1):

Раствор соединения W1 (890 мг) и CNC1 (578 мг) в DMF (22 мл) перемешивали при комнатной температуре в атмосфере аргона в течение 12 ч. Полученную в результате суспензию разбавляли  $\text{EtOAc}$  (50 мл) и промывали  $\text{H}_2\text{O}$  ( $3 \times 15$  мл). Органический слой промывали солевым раствором, высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали посредством фреш-хроматографии на силикагеле с использованием PET- $\text{EtOAc}$  в качестве системы элюирующих растворителей с получением соединения X1 в виде бледно-желтого масла (260 мг, 0,473 ммоль).

Соединение X1:  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,83-0,88 (6H, m,  $\text{CH}_3$ -18,  $\text{CH}_3$ -26), 0,95 (3H, d,  $J=6,0$  Гц,  $\text{CH}_3$ -21), 1,05 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 3,33-3,40 (10H, m,  $\text{CH}$ -3,  $\text{OCH}_2\text{OCH}_3 \times 3$ ), 3,52 (1H, s,  $\text{CH}$ -7), 3,91 (1H, s,  $\text{CH}$ -11), 4,55-4,69 (6H, m,  $\text{OCH}_2\text{OCH}_3 \times 3$ ).

$6\alpha$ -этил- $3\alpha,7\alpha,11\beta$ - trimetoksimetiloksi- $N$ -гидрокси- $5\beta$ -холан-24-амидин (соединение Y1):

$\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  (386 мг) и  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1,6 г) добавляли к раствору соединения X1 (170 мг, 0,309 ммоль) в  $\text{EtOH}$  (6 мл) и нагревали с обратным холодильником до начала поглощения материала. Суспензию охлаждали до комнатной температуры и фильтровали под вакуумом. Оставшееся твердое вещество промывали  $\text{EtOAc}$  (15 мл) и фильтрованную органическую фазу промывали  $\text{H}_2\text{O}$ , солевым раствором, высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт, содержащий необходимое промежуточное соединение Y1, применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Соединение Y1:  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,77 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -18), 0,81-0,84 (3H, t,  $J=6,8$  Гц,  $\text{CH}_3$ -26), 0,90 (3H, d,  $J=6,2$  Гц,  $\text{CH}_3$ -21), 1,05 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 3,30-3,36 (10H, m,  $\text{CH}$ -3,  $\text{OCH}_2\text{OCH}_3 \times 3$ ), 3,48 (1H, s,  $\text{CH}$ -7), 3,88 (1H, s,  $\text{CH}$ -11), 4,51-4,65 (6H, m,  $\text{OCH}_2\text{OCH}_3 \times 3$ ), 4,76 (2H, brs,  $\text{NH}$ ,  $\text{NH}\cdot\text{OH}$ ).

$6\alpha$ -этил- $3\alpha,7\alpha,11\beta$ - trimetoksimетилокси- $N$ -[(этоксикарбонил)окси]- $5\beta$ -холан-24-амидин (соединение Z1):

К раствору соединения Y1 (200 мг) в THF (2 мл) и пиридина (0,46 ммоль) охлаждали при  $0^\circ\text{C}$ , по каплям добавляли раствор  $\text{ClCO}_2\text{Et}$  (0,34 ммоль) в THF (1 мл) и полученную в результате суспензию перемешивали в атмосфере аргона в течение 30 мин. Смесь обрабатывали  $\text{H}_2\text{O}$  и экстрагировали  $\text{EtOAc}$  ( $3 \times 10$  мл). Собранные органические фазы промывали солевым раствором, высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , концентрировали под вакуумом с получением соединение Z1, которое применяли на следующей стадии без дополнительной очистки.

Соединение Z1:  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,77 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -18), 0,81-0,84 (3H, t,  $J=6,8$  Гц,  $\text{CH}_3$ -26), 0,92 (3H, d,  $J=6,1$  Гц,  $\text{CH}_3$ -21), 1,05 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 1,27 (3H, t,  $J=7,0$  Гц,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 3,30-3,36 (10H, m,  $\text{CH}$ -3,  $\text{OCH}_2\text{OCH}_3 \times 3$ ), 3,48 (1H, s,  $\text{CH}$ -7), 3,88 (1H, s,  $\text{CH}$ -11), 4,21 (2H, q,  $J=7,0$  Гц,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ), 4,51-4,65 (6H, m,  $\text{OCH}_2\text{OCH}_3 \times 3$ ), 4,88 (2H, brm,  $\text{NH}$ ,  $\text{NH}\cdot\text{OH}$ ).

$3\alpha,7\alpha,11\beta$ -тригидрокси- $6\alpha$ -этил-23-(1,2,4-оксадиазол-5-оксо-3-ил)-24-нор- $5\beta$ -холан (соединение 7):

Соединение Z1 (200 мг), полученное на предыдущей стадии, растворяли в толуоле (5 мл) и пиридине (0,5 мл), нагревали с обратным холодильником в атмосфере аргона в течение 8 ч и перемешивали при комнатной температуре в течение еще 12 ч. Смесь разбавляли  $\text{EtOAc}$  (10 мл) и последовательно промывали HCl 1 н.,  $\text{H}_2\text{O}$ , насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  и солевым раствором. Органический слой высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали при пониженном давлении. Полученный в результате неочищенный продукт растворяли в ацетоне (15 мл) и перемешивали с HCl 3 н. (1,5 мл) при  $40^\circ\text{C}$  в течение 6 ч. Смесь разбавляли  $\text{H}_2\text{O}$  и органический слой концентрировали при пониженном давлении. Водную фазу затем экстрагировали  $\text{EtOAc}$  ( $3 \times 10$  мл) и объединенные органические слои обрабатывали насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$ , промывали солевым раствором, высушивали над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали под вакуумом. Неочищенный продукт очищали посредством фреш-хроматографии с получением соединение 7 (29,6 мг, 0,062 ммоль) в виде белого твердого вещества.

Соединение 7:  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  0,89-0,93 (6H, m,  $\text{CH}_3$ -18,  $\text{CH}_3$ -25), 1,05 (3H, d,  $J=6,3$  Гц,  $\text{CH}_3$ -21), 1,15 (3H, s,  $\text{CH}_3$ -19), 2,07-2,11 (1H, m), 2,20-2,24 (1H, m), 2,45-2,50 (1H, m,  $\text{CH}$ -23), 2,58-2,68

(1H, m, CH-23), 3,32-3,36 (1H, m, CH-3), 3,73 (1H, s, CH-7), 4,20 (1H, s, CH-11).

<sup>13</sup>C-ЯМР (100,6 МГц, CD<sub>3</sub>OD) : 12,0, 14,6, 18,7, 23,0, 23,5, 24,7, 27,7, 29,1, 30,8, 31,9, 33,1, 34,7, 36,4, 36,8, 36,9, 38,3 (×2), 42,6, 42,8, 50,0, 52,2, 57,6, 69,0, 71,4, 73,3, 162,2, 162,8.

Пример 6. Активность FXR/TGR5 соединений 1-7

В ядре связанные лигандом ядерные рецепторы (NR) модулируют инициирование транскрипции путем непосредственного взаимодействия с базальным транскрипционным механизмом или путем контактирования мостиковых факторов, называемых коактиваторами (Onate et al., Science, 1995, 270, 1354-1357; Wang et al., J Biol Chem, 1998, 273, 30847-30850 и Zhu et al., Gene Expr, 1996, 6, 185-195). Лиганд-зависимое взаимодействие NR с их коактиваторами происходит между активационной функцией 2 (AF-2), расположенной в рецепторном лиганд-связывающем домене (LBD) и вместилища ядерного рецептора (вместилище NR), расположенных на коактиваторах (Nolte et al., Nature, 1998, 395, 137-143). Некоторые данные показали, что пептидная последовательность LXXLL, присутствующая во вместилище NR, представляет собой мотив сигнатуры, который облегчает взаимодействие различных белков с областью AF-2 (Heery et al., Nature, 1997, 387, 733-736 и Torchia et al., Nature, 1997, 387, 677-684).

AlphaScreen применяли с целью идентификации новых модуляторов, используя преимущество бимолекулярного взаимодействия между FXR и мотивом LXXLL, присутствующим во вместилище NR коактиватора 1 стероидных рецепторов (SRC-1).

FXR-LBD-GST человека инкубировали с повышенными концентрациями указанных лигандов в присутствии биотинилированного пептида LXXLL SRC-1. Сигнал AlphaScreen увеличивается, когда образуется сложный рецептор-коактиватор. Соединения по настоящему изобретению являются сильными агонистами FXR. Данные представлены в табл. 1 и 2.

Желчные кислоты (ВА) модулируют не только несколько рецепторов ядерных гормонов, но также являются агонистами для рецептора, связанного с белком (GPCR) TGR5 (Makishima, et al., Science, 1999, 284, 1362-1365; Parks et al., Science, 1999, 284, 1365-1368; Maruyama et al., Biochem Biophys Res Commun, 2002, 298, 714-719 и Kawamata et al., J Biol Chem, 2003, 278, 9435-9440). Сигнализация через FXR и TGR5 модулирует несколько метаболических путей, регулирующих не только синтез ВА и энтерогепатическую рециркуляцию, но также триглицерид, холестерин, глюкозу и энергетический гомеостаз. Для оценки способности соединения по настоящему изобретению активировать TGR5 соединение по настоящему изобретению и другие сравнительные соединения были отобраны для повышения межклеточного cAMP в качестве считывания для активации TGR5. Энтероэндокринные клетки NCI-H716 человека, конститутивно экспрессирующие TGR5, подвергались повышению концентрации соединений по настоящему изобретению и внутриклеточные уровни цАМФ измеряли посредством TR-FRET. Литохолевую кислоту (LCA) применяли в качестве положительного контроля. Соединения по настоящему изобретению демонстрируют высокую селективность в отношении FXR при TGR5. Данные представлены в таблицах.

Таблица 1. Активность FXR/TGR5 соединений 1-5

Соединение	Анализ AlphaScreen FXR человека	HTR-FRET (cAMP) TGR5 человека (клетки NCI-H716)
	Ref. CDCA=15±3 мкмоль	Ref. LCA=7±3 мкмоль
Соединение 1	0,68	>100
Соединение 2	0,23	93
Соединение 3	0,0075±0,0005	83±7
Соединение 4	0,264±0,016	13,7±2,3
Соединение 5	0,015±0,004	78±1
Соединение А	0,2±0,018	15±5
Соединение В	0,03	0,63
Соединение С	175	0,9

Таблица 2. Активность FXR/TGR5 соединений L1, 3, 5, 6 и 7

Соединение	AlphaScreen FXR человека EC <sub>50</sub> (мкмоль)	HTR-FRET (cAMP) TGR5 человека EC <sub>50</sub> (мкмоль)
<b>L1</b>	0,15±0,5	Отсутствие активности
Соединение <b>3</b>	0,0075±0,0005	83±7
Соединение <b>5</b>	0,015±0,004	78±1
Соединение <b>6</b>	0,042±0,002	Отсутствие активности
Соединение <b>7</b>	0,029±0,005	Отсутствие активности

Таблица 3. Активность агониста FXR в ортологах человека, мыши, крысы и собак

Соединение	AlphaScreen hFXR EC <sub>50</sub> (мкмоль)	AlphaScreen mFXR EC <sub>50</sub> (мкмоль)	AlphaScreen rFXR EC <sub>50</sub> (мкмоль)	AlphaScreen dFXR EC <sub>50</sub> (мкмоль)
<b>L1</b>	0,15±0,5	0,99±0,05	1,0±0,03	4±1
Соединение <b>3</b>	0,0075±0,0005	0,25±0,04	0,13±0,01	0,9±0,1
Соединение <b>5</b>	0,015±0,004	0,12±0,02	0,14±0,02	0,73±0,01
Соединение <b>6</b>	0,042±0,002	0,27±0,02	0,24±0,01	0,8±0,1
Соединение <b>7</b>	0,029±0,005	0,21±0,01	0,2±0,01	0,7±0,01

Таблица 4. Активность кросс-видов TGR5

Соединение	hTGR5 CHO EC <sub>50</sub> (мкмоль)	mTGR5 CHO EC <sub>50</sub>	rTGR5 CHO EC <sub>50</sub>	dTGR5 CHO EC <sub>50</sub>
		(мкмоль)	(мкмоль)	(мкмоль)
<b>L1</b>	Отсутствие активности	Отсутствие активности	Отсутствие активности	Отсутствие активности
Соединение <b>3</b>	5±1	3±0,5	Отсутствие активности	Отсутствие активности
Соединение <b>5</b>	3±1	4±1	Отсутствие активности	Отсутствие активности
Соединение <b>6</b>	Отсутствие активности	Отсутствие активности	Отсутствие активности	1,5±0,3
Соединение <b>7</b>	Отсутствие активности	9,5±2	Отсутствие активности	7,6±0,01

#### Пример 7. Профиль селективности ядерного рецептора

С использованием анализа AlphaScreen селективность соединения по настоящему изобретению против следующих ядерных рецепторов, вовлеченных в метаболические пути, можно оценивать: LXR $\beta$ , PXR, CAR, PPAR $\alpha$ , PPAR $\delta$ , PPAR $\lambda$ , RAR, RAR $\alpha$ , VDR, TR, PR, RXR, GR и ER.

Соединения L1, 3, 5, 6 и 7 тестировали в отношении ряда доступных ядерных рецепторов как в режиме агониста, так и в режиме антагониста. Ни одно соединение не активировало ни один из рецепторов в агонисте (реакция дозы до 200 мкмоль) или режим антагониста (фиксированная концентрация при 10 мкмоль).

#### Пример 8. Панель целевых генов FXR

Для оценки пропускной способности соединения по изобретению для модуляции генов-мишенией FXR проводили количественные RT-PCR-анализы. Клетки НерG2 выбраны в качестве соответствующей клеточной линии для определения того, может ли соединение по настоящему изобретению регулировать эндогенную генетическую сеть FXR. Способность соединения по настоящему изобретению индуцировать гены-мишени FXR оценивали путем выделения общей РНК из клеток, обработанных в течение ночи

1 мкМ соединений А, В и соединения по изобретению. Соединение А установлено в качестве сильного селективного агониста FXR, а соединение В установлено в качестве двухцепочечного агониста FXR/TGR5.

FXR регулирует экспрессию нескольких генов-мишеней, участвующих в гомеостазе ВА. Вкратце, FXR играет центральную роль в нескольких метаболических путях, включая, например, липидный обмен, метаболизм желчных кислот и углеводный обмен. Что касается профилирования экспрессии генов, гены, кодирующие белки, участвующие в метаболизме липидов, включают, например, APOCII, APOE, APOAI, SREBP-1C, VLDL-R, PLTP и LPL; гены, кодирующие белки, участвующие в метаболизме желчных кислот, включают, например, OST $\alpha$ / $\beta$ , BSEP, MRP2, SHP, CYP7A1, FGF19, SULT2A1 и UGT2B4; и гены, кодирующие белки, участвующие в углеводном обмене, включают, например, PGC $\alpha$ , PEPCK и GLUT2. Целевые гены FXR: BSEP, SHP, OST $\beta$  и CYP7A1 оценивали после стимуляции соединений 3, 5, 6 и 7 клеток НерG2 в течение 18 часов. Соединение L1 применяли в качестве контроля. Соединения 3, 5, 6 и 7 значительно связывают с FXR в печеночных клетках, модулирующих целевые гены FXR.

Пример 9. Цитотоксичность *in-vitro*

Для оценки *in-vitro* цитотоксичности соединений по настоящему изобретению применяли два различных способа анализа. В ходе анализов оценивают жизнеспособность клеток путем измерения уровней АТФ и цитотоксичности путем измерения высвобождения LDH. Аденозинтрифосфат (АТФ) представляет собой источник энергии на основном молекулярном уровне, поскольку он представляет собой многофункциональную молекулу, которая используется в каждой клетке в качестве кофермента и является неотъемлемой частью митохондриальной ДНК (Kangas et al., Medical Biology, 1984, 62, 338-343; Crouch, et al., J Immunol. Methods, 1993, 160, 81-88 и Petty et al., J Biolumin. Chemilumin. 1995, 10, 29-34). Его называют "молекулярной единицей измерения", когда речь заходит о внутриклеточной передаче энергии. Это делается для обеспечения важной роли АТФ в метаболизме, а снижение содержания АТФ является первым шагом в выявлении клеточного повреждения (Storer et al., Mutation Research, 1996, 368, 59-101; and Cree and Andreotti, Toxicology In-Vitro, 1991, 11, 553-556).

Дополнительным способом определения жизнеспособности клеток является определение целостности мембранны, которая определяет клеточную компартментализацию. Измерение утечки компонентов из цитоплазмы, поврежденных клеточных мембран указывает на потерю целостности мембранны, а высвобождение LDH представляет собой способ, применяемый для определения общей токсичности в клетках. Клетки НерG2 обрабатывали соединением по настоящему изобретению и осуществляли последовательные разбавления. Разбавления LCA добавляли к высевенным клеткам, так как контроль контролировали вместе с клетками безклеточными и необработанными клетками. Анализ проводили в трех параллельных испытаниях для каждой концентрации тестового соединения.

Жизнеспособность клеток определяли как меру внутриклеточного АТФ, связанную со временем воздействия и концентрации тестируемых соединений (Sussman, Promega Cell Notes, Issue 3, 2002). Данные представлены в табл. 5А и 5В.

Таблица 5А. Цитотоксичность *in vitro* соединений 3 и 5

Соединение	Содержимое АТФ
	EC <sub>50</sub> (мкмоль)
	Ref тамоксифен EC <sub>50</sub> 49±9 мкмоль
Соединение 3	Отсутствие токсичности (100% живых клеток)
Соединение 5	Отсутствие токсичности (100% живых клеток)
Соединение А*	230
Соединение В*	800

\* Rizzo et al., Mol. Pharm. 2010, 78, 617-630.

Таблица 5В. Цитотоксичность *in vitro* соединений 6 и 7 (высвобождение LDH и содержимое АТФ относительно стимуляции соединений 6 и 7 HepG2).

Соединение	Целостность мембраны (измерение LDH) LC <sub>50</sub> (мкмоль)	Содержимое АТФ EC <sub>50</sub> (мкмоль)
Тамоксифен	35±10	20±5
LCA	100±5	75±5
Соединение 6	Отсутствие токсичности	Отсутствие токсичности
Соединение 7	Отсутствие токсичности	Отсутствие токсичности
Соединение L1	Отсутствие токсичности (100% живых клеток)	Отсутствие токсичности

Тамоксифен использовали в качестве положительного контроля анализа, а LCA использовали в качестве эталона.

#### Пример 10. Скриннинг CYP450

Для оценки потенциала соединения по изобретению для взаимодействий лекарственного средства были исследованы шесть основных изоформ CYP450 (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4) (Obach et al., J Pharmacol. Exp. Ther, 2006, 316, 336-348).

Для определения взаимодействия между соединением по изобретению и ферментами цитохрома P450 соединение по настоящему изобретению анализируется его способностью ингибировать (или не ингибировать) продуцирование флуоресцентного сигнала с использованием рекомбинантных белков CYP450 (бакулосомы, Invitrogen), субстратов и ингибиторов (Bidstrup et al., Br J Clin. Pharmacol, 2003, 56, 305-14). В качестве положительного контроля селективный ингибитор для каждой изоформы CYP450 испытывают в том же планшете.

Таблица 6. Ингибиование CYP450 (тест в отношении 6 основных изоформ)

CYP450	Соединение 3 IC <sub>50</sub> (мкмоль)	Соединение 5 IC <sub>50</sub> (мкмоль)	Соединение 6 IC <sub>50</sub> (мкмоль)	Соединение 7 IC <sub>50</sub> (мкмоль)	Соединение L1 IC <sub>50</sub> (мкмоль)
CYP1A2	>10	>10	>10	>10	>10
CYP3A4 (зеленый субстрат)	>10	>10	>10	>10	>10
CYP3A4 (синий субстрат)	>10	>10	>10	>10	>10
CYP2C9	>10	>10	>10	>10	>10
CYP2C19	>10	>10	>10	>10	>10
CYP2D6	>10	>10	>10	>10	>10
CYP2E1	>10	>10	>10	>10	>10

#### Пример 11. Калиевый канал ERG человека

Для определения функции ионного канала применяли анализ поляризации флуоресценции Predictor™ hERG, поскольку он обеспечивает эффективный способ первоначального определения склонности тестируемых соединений к блокированию канала hERG (Dorn, et al. J Biomol. Screen, 2005, 10, 339-347). Анализ основывается на предположении, что активность калиевого канала hERG способствует сохранению мембранныго потенциала в постоянно трансформированных клетках, и, таким образом, блок hERG-каналов должен приводить к деполяризации клеточной мембрани. Анализ предназначен для выявления потенциальных блокировщиков каналов hERG, путем получения данных, которые точно коррелируют с исследованиями электрофизиологии патч-зажима. Результаты анализа Predictor™ демонстрируют высокую корреляцию с результатами, полученными в способах патч-зажима (Dorn et al. J Biomol Screen, 2005, 10, 339-347).

Мембранные препараты из овариальных клеток китайского хомячка, стабильно трансформированные калиевым каналом hERG, использовали для оценки потенциального ингибирующего действия соединения по настоящему изобретению на этом канале с использованием анализа поляризации флуоресценции Predictor™. Уменьшение поляризации мембрани в результате ингибиования калиевого канала hERG напрямую коррелирует с уменьшением поляризации флуоресценции (FP).

Анализ проводили в трех параллельных испытаниях 16-точечной доза-реакции испытуемого соединения и положительных контролей E-4031 и тамоксифена. Получены IC<sub>50</sub> 15 нмоль (AmP=163) для E-

4031 и 1,4 мкмоль ( $\Delta\eta\tau P=183$ ) для тамоксифена. Окно анализа более 100 мП (миллиполаризация) считается хорошим. Кривые нелинейной регрессии получены посредством анализа GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.) для расчета значений  $IC_{50}$ .

Таблица 7. Ингибиование калиевого канала ERG человека

Соединение	Ингибиование hERG $IC_{50}$ (мкмоль)
Соединение 3	>100
Соединение 5	>100
Соединение 6	>100
Соединение 7	>100
Соединение L1	>100

Соединения L1, 3, 5, 6 и 7 не ингибирировали калиевый канал hERG.

#### Пример 12. Физико-химические свойства

Физико-химические свойства соединения по настоящему изобретению, такие как растворимость в воде, критическая мицеллярная концентрация, поверхностное натяжение и  $LogP_{A^-}$ , определяли с использованием способов, известных в данной области. Данные представлены в табл. 8.

Таблица 8. Физико-химические свойства

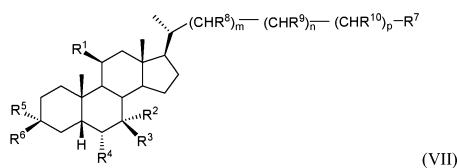
Производное желчной кислоты	CMC <sup>(a)</sup> (ммоль)	$LogP_{A^-}$ <sup>(b)</sup>
Соединение 3	12,5	0,12
Соединение 5	8,5	0,61
Соединение 6	28	1,7
Соединение 7	-	2,0
Соединение L1	15,8	0,84
Соединение A	2,9	2,5
Соединение B	1,3	2,0
Соединение C	2	1,4
Соединение D	-	2,9
Соединение E	5,9	1,6

<sup>a</sup> СМС: Критическую мицеллярную концентрацию определяли в 0,15 М водном растворе NaCl

<sup>b</sup>  $LogP_{A^-}$ : 1-октанол-вода в исследуемых желчных кислотах в виде ионизированных видов.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

### 1. Соединение формулы VII



или его фармацевтически приемлемая соль, или тауриновый, глициновый или сарказиновый конъюгаты, где

$R^1$  представляет собой OH или галоген;

каждый из  $R^2$  и  $R^3$  независимо представляет собой H, OH, галоген или  $C_1$ - $C_6$ -алкил, необязательно замещенный одним или несколькими из галогена или OH, или  $R^2$  и  $R^3$ , взятые вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют карбонил;

$R^4$  представляет собой H, галоген,  $C_1$ - $C_6$ -алкил, необязательно замещенный одним или несколькими из галогена или OH, алкенил, выбранный из винила, аллила, 1-бутенила, 2-бутенила, 3-бутенила и 2-гексенила, или алкинил, выбранный из этинила, 2-пропинила, 5-бут-1-ен-3-инила и 3-гексинила;

каждый из  $R^5$  и  $R^6$  независимо представляет собой H, OH, галоген или  $R^5$  и  $R^6$ , взятые вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют карбонил;

$R^7$  представляет собой OH,  $OSO_3H$ ,  $SO_3H$ ,  $OSO_2NH_2$ ,  $SO_2NH_2$ ,  $OPO_3H_2$ ,  $PO_3H_2$ ,  $CO_2H$ ,  $C(O)NHOH$ , тетразолил, оксадиазолил, тиадиазолил, 5-оксо-1,2,4-оксадиазолил, 5-оксо-1,2,4-тиадиазолил, оксазолидин-дионил, тиазолидин-дионил, 3-гидроксизоксазолил, 3-гидроксизотиазолил, 2,4-дифтор-3-

гидроксифенил;

каждый из R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup> и R<sup>10</sup> независимо представляет собой H, OH, галоген или C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-алкил, необязательно замещенный одним или несколькими заместителями, выбранными из галогена или OH;

m равняется 0, 1 или 2;

n равняется 0 или 1 и

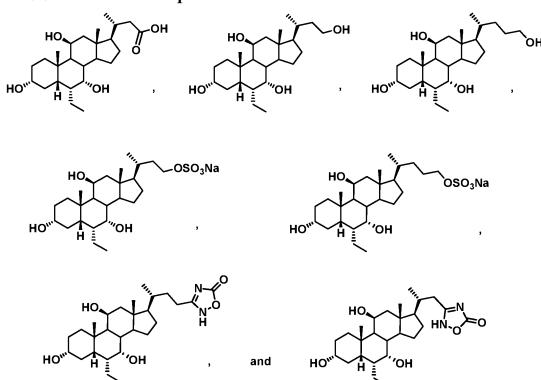
p равняется 0 или 1;

при условии, что когда сумма n, m и p равна 2, R<sup>1</sup> представляет собой OH, а каждый из R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup> и R<sup>10</sup> представляет собой H, тогда R<sup>7</sup> не является COOH.

2. Соединение по п.1, где R<sup>1</sup> представляет собой OH и R<sup>7</sup> представляет собой OH, OSO<sub>3</sub>H, OSO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, OPO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>H, тетразолил, оксадиазолил, тиадиазолил, 5-оксо-1,2,4-оксадиазолил, 5-оксо-1,2,4-тиадиазолил, оксазолидин-дионил, тиазолидин-дионил, 3-гидроксизоксазолил, 3-гидроксизотиазолил или 2,4-дифтор-3-гидроксифенил.

3. Соединение по п.1 или 2, где R<sup>4</sup> находится в  $\alpha$ -положении.

4. Соединение по п.1, где соединение выбрано из



5. Фармацевтическая композиция для лечения заболевания, опосредованного FXR и выбранного из сердечно-сосудистого заболевания, хронического заболевания печени, нарушения липидного обмена, заболевания желудочно-кишечного тракта, заболевания почек, метаболического заболевания, рака и неврологического заболевания, содержащая соединение по любому из пп.1-4 или его фармацевтически приемлемую соль, или тауриновый, глициновый или саркозиновый конъюгаты, и фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное средство.

6. Способ лечения или предупреждения заболевания или состояния у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение эффективного количества соединения по любому из пп.1-4 или его фармацевтически приемлемой соли, или тауринового, глицинового или саркозинового конъюгата, и при этом заболевание или состояние опосредовано FXR и выбрано из сердечно-сосудистого заболевания, хронического заболевания печени, нарушения липидного обмена, заболевания желудочно-кишечного тракта, заболевания почек, метаболического заболевания, рака и неврологического заболевания.

7. Способ по п.6, где заболевание представляет собой хроническое заболевание печени, выбранное из первичного билиарного цирроза (PBC), церебросухожильного ксантоматоза (CTX), первичного склерозирующего холангита (PSC), холестаза, вызванного лекарственными средствами, внутрипеченочного холестаза беременных, связанного с парентеральным питанием холестаза (PNAC), связанного с чрезмерным ростом бактерий или сепсисом холестаза, аутоиммунного гепатита, хронического вирусного гепатита, алкогольной болезни печени, неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD), неалкогольного стеатогепатита (NASH), связанной с трансплантацией печени болезни "трансплантат против хозяина", регенерации печени живого донора, врожденного фибролангиокистоза печени, холедохолитиаза, грануломатозного заболевания печени, внутри- или внепеченочного злокачественного новообразования, синдрома Шегрена, саркоидоза, болезни Вильсона, болезни Гоше, гемохроматоза и дефицита альфа-1-антитрипсина.

