

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 026907

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2017.05.31

(21) Номер заявки
201491609

(22) Дата подачи заявки
2013.03.14

(51) Int. Cl. C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/5025 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)

(54) МОДУЛЯТОРЫ X РЕЦЕПТОРОВ ПЕЧЕНИ

(31) 61/612,051

(32) 2012.03.16

(33) US

(43) 2014.12.30

(86) PCT/US2013/031242

(87) WO 2013/138565 2013.09.19

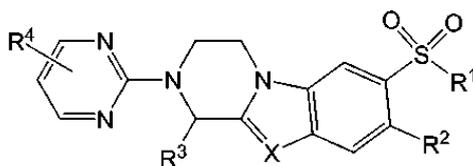
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ВАЙТАИ ФАРМАСЬЮТИКЛЗ, ИНК.
(US)

(72) Изобретатель:
Дон Чэнго, Фань И, Лефтерис
Катерина, Лотеста Стивен, Сингх
Суреш Б., Тайс Колин, Чжао Вэй,
Чжэн Яцзюнь, Чжуан Линхан (US)

(74) Представитель:
Лыу Т.Н., Угрюмов В.М. (RU)

(56) WO-A1-2009086129
CN-A-101456863

(57) Описаны новые соединения формулы



и их фармацевтически приемлемые соли, представляющие собой модуляторы X рецепторов печени. Также описаны композиции для лечения заболевания или расстройства, связанного с LXR активностью, включающие заявляемые соединения и носитель. Кроме того, также описаны способы лечения субъекта с заболеванием или расстройством, выбранным из атеросклероза, болезни Альцгеймера или дерматита.

026907 B1

026907 B1

Ссылка на родственные заявки

Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке США 61/612051, поданной 16 марта 2012 г., полное содержание которой включено здесь для ссылки.

Область техники

Настоящее изобретение относится к соединениям, которые модулируют активность X рецепторов печени.

Уровень техники

Атеросклероз является лидирующей причиной смерти в развитом мире, при этом ожидается, что атеросклероз будет являться лидирующей причиной смерти в развивающемся мире в 21-м веке. X рецепторы печени (LXR) представляют собой лиганд-активируемые факторы, которые играют основную роль в регулировании экспрессии генов, связанных с липидным метаболизмом и клеточным гомеостазом холестерина. Было показано, что агонисты LXR усиливают обратный транспорт холестерина (RCT), обеспечивая перенос холестерина из периферии обратно в печень для обработки и экскреции. RCT осуществляется за счет апрегуляции транспортеров холестерина (АТФ-связывающие кассеты: ABCA1 и ABCG1) в периферийных макрофагах. Активный RCT обладает потенциалом ингибировать развитие атеросклероза.

Существуют две изоформы LXR: LXR α (NR1H3) и LXR β (NR1H2), которые кодируются отдельными генами. Экспрессия LXR α является тканеселективной, определяется в печени, кишечнике, почке, жировой ткани и надпочечных железах, все из которых являются важными для липидного гомеостаза, при этом LXR β экспрессируется повсеместно. Обе изоформы LXR требуют присутствия ретиноидного X рецептора (RXR) в качестве обязательного гетеродимерного партнера для распознавания и совместного связывания с респонсными элементами LXR (LXRE), состоящими из двух прямых повторов коровой гексамерной последовательности, разделенных четырьмя нуклеотидами (DR4). Лиганд-связывающие домены двух LXR в значительной степени сохранены (~ 78% аминокислотная гомология) и отвечают на эндогенные лиганды, состоящие из окисленных производных холестерина (оксистеролы), которые служат в качестве промежуточных продуктов при синтезе стероидных гормонов и желчной кислоты. Среди них 22(R)-гидроксихолестерин, 24(S)-гидроксихолестерин и 24(S),25-эпоксихолестерин являются наиболее сильными. Эти данные свидетельствуют о том, что LXR с большой вероятностью играют важную роль в регулировании холестерина, что было позже подтверждено с помощью анализов с нокаутными генами на мышцах. Также были определены нестероидные лиганды, при этом с применением их в качестве химических зондов были открыты многие LXR-регулируемые гены. Несколько LXRE-содержащих генов связаны с метаболизмом холестерина, обратным транспортом холестерина (RCT) и липогенезом. Другие гены, связанные с воспалением и углеводным метаболизмом, не включают LXRE, однако подавляются LXR лиганд-зависимым образом. На основе данных открытий X рецепторы печени в последнее время превратились в новые мишени, действующие в качестве внутриклеточных сенсоров холестерина, обеспечивая основу для лечения множества заболеваний, включая атеросклероз, диабет, болезнь Альцгеймера, кожные заболевания, репродуктивные заболевания и рак (Viennois et al., 2011, Expert Opin. Ther. Targets, 15(2):219-232). Кроме того, было определено, что LXR агонисты модулируют кишечные и почечные транспортеры фосфата натрия (NaPi) и, в свою очередь, уровни сывороточных фосфатов (Caldas et al, 2011, Kidney International, 80:535-544). Таким образом, LXR также представляют собой мишень в плане почечных заболеваний и, в частности, для предотвращения развития гиперфосфатемии и связанных сердечно-сосудистых осложнений. В недавнее время LXR были определены в качестве мишеней при лечении остеопороза и родственных заболеваний (Kleyer et al., 2012, J. Bone Miner. Res., 27(12):2442-51).

Болезнь Альцгеймера представляет собой одну из наиболее распространенных форм деменции, характеризующуюся накоплением и отложением амилоид-бета (A β) пептидов в мозге, что приводит к нарушению синаптической функции и потере нейронов в мозге пораженных субъектов. Нейроны в мозге продуцируют A β пептиды за счет расщепления амилоидного прекурсорного белка (APP), при этом A β пептиды в нормальном состоянии удаляются за счет оттока в периферийный кровоток и расщепления протеиназами в мозге.

Аполипопротеин E (apoE) связан с зависимым от возраста риском развития болезни Альцгеймера и играет критическую роль в гомеостазе A β . LXR увеличивает экспрессию apoE и увеличивает липидирование apoE. Расщепление A β внутри и вне клеток усиливается за счет липидированного apoE. Лечение LXR агонистом стимулировало протеолитическое расщепление A β , снижало образование бляшек и улучшало память у APP-экспрессирующих трансгенных мышей (Jiang et al., 2008, Neuron, 58:681-693).

Кератиноциты представляют собой основной компонент эпидермиса кожи. Внешний слой - роговой слой - главным образом, отвечает за наличие барьера проницаемости по отношению к воде и электролитам. Кератиноциты в эпидермисе подвергаются дифференциации, достигающей высшей точки в ороговении кератиноцитов ("кирпичики") и образовании внеклеточных обогащенных липидами слоистых мембран ("строительный раствор") рогового слоя. LXR α и LXR β экспрессируются в кератиноцитах, при этом экспрессия и активация LXR стимулирует функцию эпидермального барьера. Активация LXR принимает участие в дифференциации кератиноцитов, образовании слоистой мембраны и общем усилении функции эпидермального барьера. Таким образом, предполагается, что активация LXR приводит к уве-

личению дифференциации кератиноцитов, усилению липидной секреции (за счет ABCA1, ABCA12) и усилению образования слоистого тела, приводя к образованию здорового эпидермиса (гладкой кожи).

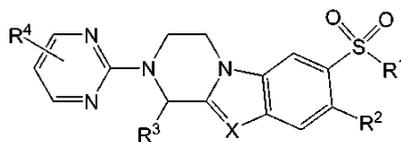
Потенциальное терапевтическое применение LXR агонистов привело к созданию нескольких высокоаффинных LXR лигандов с сильным агонизмом по отношению к обоим подтипам рецептора. Терапевтическое применение LXR агонистов ограничено их потенциалом индуцировать липогенные гены, включая стерольный респонсный элемент, связывающий белок-1с (SREBP1с) и синтезу жирных кислот (FAS). Доклинические исследования показали, что синтетические модуляторы LXR снижают развитие поражений на грызунах-моделях атеросклероза с ограниченным увеличением печеночного липогенеза. Существует очевидная потребность в новых хемотипах LXR, которые сохраняют антиатеросклеротическую эффективность существующих LXR агонистов, но лишены липогенной активности. Соединения, демонстрирующие фармакологический профиль с положительными эффектами в отношении RCT, являющиеся в то же время нейтральными или подавляющими в отношении липогенных генов, будут являться ценными терапевтическими агентами у пациентов с атеросклеротической дислипидемией.

Настоящее изобретение относится к соединениям, которые представляют собой агонисты X рецепторов печени и применяются в качестве терапевтических агентов для усиления обратного транспорта холестерина и подавления печеночного липогенеза, а также предотвращения, облегчения или лечения заболеваний или расстройств, включающих атеросклероз, болезнь Альцгеймера, дерматит и дислипидемию у пациента.

Сущность изобретения

Раскрываются LXR модуляторы, которые могут применяться в качестве терапевтических агентов для усиления обратного транспорта холестерина и подавления печеночного липогенеза, а также предотвращения, облегчения или лечения заболеваний или расстройств, включающих атеросклероз и дислипидемию у субъекта. Описанные LXR модуляторы являются селективными в отношении LXR подтипа в отличие от LXR α подтипа (см., например, пример 2, изомер 1 и пример 4, изомер 1).

Один вариант осуществления изобретения представляет собой соединение следующей структурной формулы:



или его фармацевтически приемлемую соль, при этом

X представляет собой N или CR^C;

R¹ представляет собой C₁-C₆-алкил;

R² представляет собой H или C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный гидроксильной группой;

R³ представляет собой C₁-C₆-алкил;

R⁴ представляет собой C₁-C₆-галоалкил; и

R^C представляет собой H.

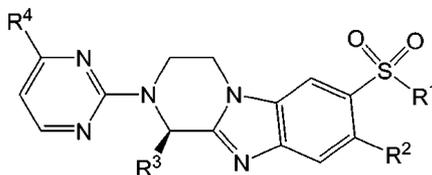
2. Соединение по п.1, в котором

R¹ представляет собой метил;

R² представляет собой H или -CH₂OH; и

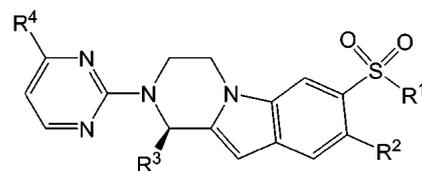
R³ представляет собой изопропил.

Другой вариант осуществления изобретения представляет собой соединение, соответствующее следующей структурной формуле:



или его фармацевтически приемлемую соль.

Другой вариант осуществления изобретения представляет собой соединение, соответствующее следующей структурной формуле:

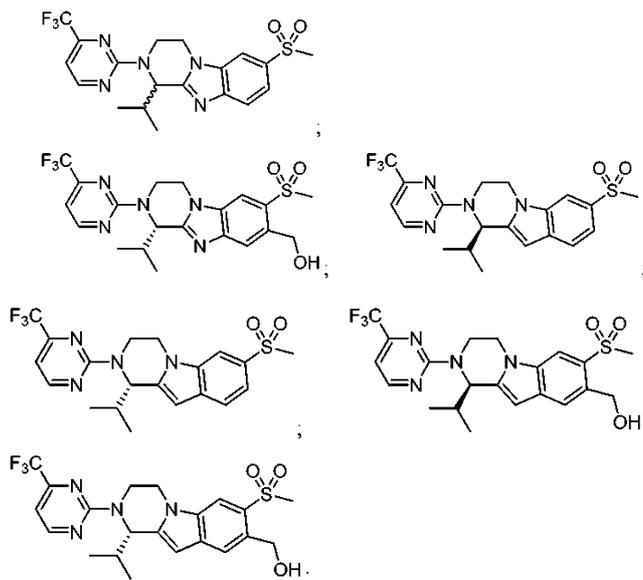


или его фармацевтически приемлемую соль.

В одном из вариантов осуществления изобретения R⁴ может представлять собой CF₃.

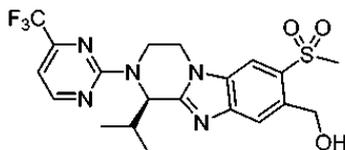
Другой вариант осуществления изобретения представляет собой соединение структурной формулы,

выбранной из



или фармацевтически приемлемую соль любого из соединений.

Другой вариант осуществления изобретения представляет собой соединение, соответствующее следующей структурной формуле:



или его фармацевтически приемлемую соль.

Другой аспект изобретения представляет собой фармацевтическую композицию для лечения заболевания или расстройства, связанного с LXR активностью, включающую заявляемое соединение в эффективном количестве и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

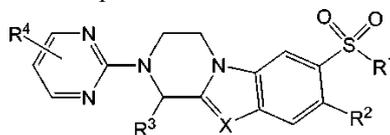
Другой аспект настоящего изобретения также относится к способу лечения субъекта с заболеванием или расстройством, выбранным из атеросклероза, болезни Альцгеймера или дерматита, которое может подвергаться лечению с помощью апрегуляции LXR активности. Способ включает введение эффективного количества заявляемого соединения или его фармацевтически приемлемой соли нуждающемуся в этом субъекту.

Подробное описание изобретения

A. Соединения

Описываемое здесь заявляемое соединение(я) включает как его (их) нейтральную форму, так и его (их) фармацевтически приемлемую соль.

В одном варианте осуществления изобретения соединение описано структурной формулой



или его фармацевтически приемлемая соль, при этом

X представляет собой N или CR^C;

R¹ представляет собой C₁-C₆-алкил;

R² представляет собой H или C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный гидроксильной группой;

R³ представляет собой C₁-C₆-алкил;

R⁴ представляет собой C₁-C₆-галоалкил; и

R^C представляет собой H.

2. Соединение по п. 1, в котором:

R¹ представляет собой метил;

R² представляет собой H или -CH₂OH; и

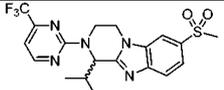
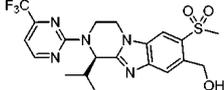
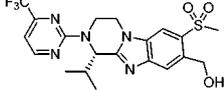
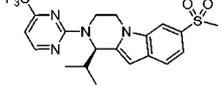
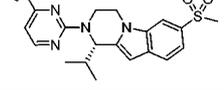
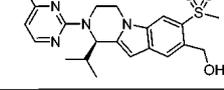
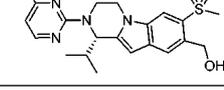
R³ представляет собой изопропил.

Заявляемые соединения содержат по меньшей мере один хиральный центр и, таким образом, существуют в виде энантиомеров. В случае, если заявляемые соединения изображаются или упоминаются без указания стереохимии, следует понимать, что охватываются энантимерно чистые формы и смеси энантиомеров, включая рацемические смеси.

В случае, если соединение обозначается наименованием или структурой, указывающей на отдельный энантиомер, соединение является, по меньшей мере, на 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99%, 99,5% или 99,9% оптически чистым, если не указано иное (также обозначается как "энантиомерно чистое"). Оптическая чистота представляет собой вес в смеси указанного или изображенного энантиомера, разделенный на общий вес в смеси обоих энантиомеров.

В седьмом альтернативном варианте осуществления заявляемое соединение определяется как соединение в табл. 1 или его фармацевтически приемлемая соль.

Таблица 1

№ соединения	№ примера	Структура
E1	Пример 1	
E2a	Пример 2, изомер 1	
E2b	Пример 2, изомер 2	
E3a	Пример 3, изомер 1	
E3b	Пример 3, изомер 2	
E4a	Пример 4, изомер 1	
E4b	Пример 4, изомер 2	

В. Определения

Если не указано иное, применяемые здесь нижеследующие термины определены следующим образом.

"Субъект", "пациент" и "млекопитающее" применяется здесь взаимозаменяемо. В одном варианте осуществления субъект представляет собой животное, не являющееся человеком, такое как примат, не являющийся человеком (например, мартышка, шимпанзе), сельскохозяйственное животное (например, лошадь, корова, свинья, курица или овца), лабораторное животное (например, крыса или мышь) или животное-компаньон (например, собака, кошка, морская свинка или кролик). В предпочтительном варианте осуществления субъект представляет собой человека.

"Заявляемое соединение(я)" означает соединение(я), описываемые структурной формулой I, II, III, VI, V, VI; соединение, изображенное в табл. 1; соединение, указанное или изображенное в примерах в виде конечного соединения(ий) примеров; или его фармацевтически приемлемую соль. "Заявляемое соединение(я)" также включает нейтральную форму соединений как указано здесь.

"Фармацевтически приемлемый" означает компонент, который в рамках области медицинского суждения является подходящим для применения при контакте с тканями субъекта, такого как человек и другие млекопитающие, без неспецифической токсичности, раздражения, аллергической реакции и им подобных, и соразмерим с достаточным соотношением пользы/риска.

В изобретение включаются фармацевтически приемлемые соли описанных здесь соединений. Описанные соединения имеют основные аминные группы и, таким образом, могут образовывать фармацевтически приемлемые соли с фармацевтически приемлемой кислотой(ами). Подходящие фармацевтические кислотно-аддитивные соли заявляемых соединений включают соли неорганических кислот (таких как соляная кислота, бромисто-водородная, фосфорная, метафосфорная, азотная и серная кислота) и органических кислот (таких как уксусная кислота, бензолсульфоновая, бензойная, лимонная, этансульфоновая, фумаровая, глюконовая, гликолевая, изетионовая, молочная, лактобионовая, малеиновая, яблочная, метансульфоновая, янтарная, п-толуолсульфоновая и винная кислота). Заявляемые соединения с кислотными группами, такими как карбоксильные кислоты, могут образовывать фармацевтически приемлемые соли с фармацевтически приемлемым основанием(ями). Подходящие фармацевтически прием-

лемые основные соли включают соли аммония, соли щелочных металлов (такие как соли натрия и калия) и соли щелочноземельных металлов (такие как соли магния и кальция). Список подходящих солей приведен в Remington's Pharmaceutical Sciences, 18-е изд., Mack Publishing Company, Easton, PA, 1990, стр.1445, описание которого приведено здесь для ссылки.

"X рецепторы печени или LXR" включают α и β подтипы X рецептора печени. В одном варианте осуществления описанные соединения селективно связывают и апрегулируют активность LXR β подтипа, в отличие от LXR α подтипа. "Модулировать" рецептор означает, что имеет место изменение или смена активности представляющей интерес молекулы, например биологической активности X рецептора печени. Модулирование может представлять собой апрегуляцию (увеличение) или даунрегуляцию (снижение) магнитуды определенной активности или функции представляющей интерес молекулы. Примерные виды активности и функции молекулы включают, без ограничения, характеристики связывания, ферментативную активность, активацию клеточных рецепторов, транскрипционную активность и сигнальное преобразование. В одном варианте осуществления заявляемые соединения представляют собой LXR агонисты, которые, например, апрегулируют или даунрегулируют гены, которые представляют собой транскрипционные мишени LXR (то есть "гены-мишени LXR").

"Лечить" или "лечение" включает терапевтическое и профилактическое лечение, предназначенное для облегчения, снижения, подавления, ослабления, уменьшения, прекращения или стабилизации развития или прогрессирования заболевания (например, указанного здесь заболевания или расстройства), снижения тяжести заболевания или улучшения симптомов, связанных с заболеванием.

"Заболевание" или "расстройство" означает любое состояние, которое модулируется или опосредуется вследствие LXR активности иным образом, или в которое вовлечена LXR активность. Заболевание или расстройства включают связанные с изменением транспорта холестерина, обратного транспорта холестерина, метаболизмом жирных кислот, абсорбцией холестерина, реабсорбцией холестерина, секрецией холестерина, экскрецией холестерина или метаболизмом холестерина заболевания или симптомы, связанные с вызванными ими осложнениями.

"Эффективное количество" представляет собой количество соединения, которое является достаточным для лечения (терапевтически или профилактически) целевого расстройства или при котором благотворный клинический результат достигается при введении соединения субъекту при правильном режиме дозирования. Эффективные дозы также являются различными, как известно специалисту в данной области, в зависимости от подвергаемого лечению заболевания, тяжести заболевания, способа введения, пола, возраста и общего состояния здоровья пациента, применения наполнителя, возможности совместного применения с другими терапевтическими видами лечения, такими как применение других агентов, и суждения лечащего врача или иного медицинского работника. Например, эффективное количество является достаточным для снижения или облегчения тяжести, продолжительности или развития подвергаемого лечению расстройства, предотвращения развития подвергаемого лечению расстройства, опосредование регрессии подвергаемого лечению расстройства или улучшения или стимулирования профилактического или терапевтического эффекта(ов) иного вида лечения. Например, при введении заявляемого соединения субъекту с раком "благотворный клинический результат" включает снижение опухолевой массы, уменьшение метастазов, снижение тяжести симптомов, связанных с раком, и/или увеличение продолжительности жизни субъекта по сравнению с отсутствием лечения. Когда заявляемое соединение вводят субъекту с расстройством, таким как атеросклероз, "благотворный клинический результат" включает снижение тяжести или ряда симптомов, связанных с расстройством, более низкий уровень холестерина или увеличение продолжительности жизни субъекта по сравнению с отсутствием лечения. Рекомендованные дозировки агентов, применяемые в настоящее время для лечения расстройств, могут быть получены из различных ссылок в рамках уровня техники, включая, без ограничения, Hardman et al., eds., 1996, Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis Of Basis Of Therapeutics 9-е изд., Mc-Graw-Hill, New York; Physician's Desk Reference (PDR) 57-е изд., 2003, Medical Economics Co., Inc., Montvale, NJ, каждая из которых полностью приведена здесь для ссылки. В определенных вариантах осуществления эффективное количество соединения данного изобретения лежит в диапазоне от 0,5 до 2000 мг, или от 0,5 до 1000 мг, или от 0,5 до 500 мг, или от 0,5 до 100 мг, или от 100 до 1000 мг, или от 20 до 2000 мг на курс лечения. Лечение обычно осуществляют от одного до трех раз в день.

"Гало" или "галоген" означает хлор, бром, фтор или иод. В одном варианте осуществления гало представляет собой фтор.

"Алкил" означает неразветвленную или разветвленную углеводную группу, содержащую от 1 до 15 атомов углерода в цепи. В одном варианте осуществления алкильные группы содержат от 1 до 12 атомов углерода в цепи. В другом варианте осуществления алкильные группы содержат от 1 до 6 атомов углерода. Примерные алкильные группы включают, без ограничения, метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, трет-бутил, н-пентил, 3-пентил, гептил, октил, нонил, децил и додецил.

"Алкокси" представляют собой алкильную группу, которая связана с другой группой через кислородный линкер (-O(алкил)). Неограничивающие примеры включают метокси, этокси, пропокси и бутокси.

"Галоалкил" или "галогенированный алкил" означает алкильную группу, в которой один или несколько (включая все) водородные радикалы замещены галогруппой, при этом каждая галогруппа независимо выбрана из -F, -Cl, -Br и -I. Например, термин "галометил" или галогенированный метил" означает метил, в котором от одного до трех водородных радикалов замещены галогруппой. Соответствующие галоалкильные группы включают фторметил, дифторметил, трифторметил, бромметил, 1,2-дихлорэтил, 4-иодбутил, 2-фторпентил и им подобные. Другие примеры включают группы, такие как, без ограничения $-\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{F})_2$, $-\text{CH}(\text{CHF}_2)_2$, $-\text{CH}(\text{CF}_3)_2$, $-\text{CF}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CF}_3$.

"Галоалкокси" представляет собой галоалкильную группу, которая связана с другой группой через кислородный линкер, такой как, без ограничения, $-\text{OCHCF}_2$ или $-\text{OCF}_3$.

"Алкоксиалкил" представляет собой алкоксигруппу, которая связана с другой группой через алкильный линкер. "Гидроксиалкил" или "дигидроксиалкил" представляет собой один или две гидроксигруппы, соответственно, которые связаны с другой группой через алкильный линкер. Соответствующие "гидроксиалкилы" или "дигидроксиалкилы" включают $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)(\text{OH})$, $-\text{C}(\text{OH})(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_3)$, $-\text{CH}(\text{OH})(\text{CH}_2)(\text{CH}_3)$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2(\text{OH})$ и им подобные.

"Циклоалкил" означает неароматическую моноциклическую кольцевую систему, содержащую от 3 до 10 атомов углерода. В одном варианте осуществления циклоалкильная группа имеет от 3 до 6 атомов углерода. Примерные циклоалкильные кольца включают циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил.

"Циклоалкокси" означает циклоалкильную группу, которая связана с другой группой через кислородный линкер (-О(циклоалкил)).

"Моноциклический неароматический гетероцикл" означает одно насыщенное гетероциклическое кольцо, имеющее обычно от 3 до 10 членов и, более часто, от 3 до 7 членов в кольце, при этом, по меньшей мере, один атом в кольце представляет собой гетероатом, такой как, например, азот, кислород, серу, включая сульфоксид и сульфон. Моноциклический неароматический гетероцикл, содержащий от 3 до 4 членов, может содержать до 2 гетероатомов; моноциклический гетероцикл, содержащий 5-6 членов, может содержать до 3 гетероатомов, а моноциклический неароматический гетероцикл, содержащий от 7 до 10 членов, может содержать до 4 гетероатомов. Моноциклический неароматический гетероцикл может быть связан с другой группой через любой гетероатом или атом углерода моноциклического неароматического гетероцикла. Соответствующие моноциклические неароматические гетероциклы включают морфолин, тиоморфолин, пирролидинон, пирролидин, пиперидин, пиперазин, имидазолидин, пиразолидин, оксазолидин, изотиазолидин, гидантоин, валеролактамин, оксиранил, оксетанил, тетрагидрофуран, тетрагидропиранил, тетрагидропириндин, тетрагидропиримидин, тетрагидротиофенил, тетрагидротиопиранил и им подобные. В одном варианте осуществления моноциклический неароматический гетероцикл представляет собой гетероциклическое кольцо из 4, 5, 6 или 7 членов.

"Моноциклическая гетероароматическая группа" включает члены кольца, представляющие собой атомы углерода, и один или несколько членов кольца, представляющих собой гетероатомы. Каждый гетероатом независимо выбран из азота, кислорода и серы, включая сульфоксид и сульфон. Точка присоединения моноциклического гетероароматического кольца к другой группе может представлять собой атом углерода или гетероатом гетероароматической группы. В одном варианте осуществления моноциклическое гетероароматическое кольцо выбрано из моноциклических гетероароматических колец, содержащих от 5 до 8 членов. Соответствующие моноциклические гетероароматические группы включают пиридин, 1-оксопиридин, фуран, тиен, пиррол, оксазол, имидазол, тиазол, изоксазол, пиразол, изотиазол, пиридазин, пиримидин, пиазин, триазин, триазол, тиадиазол и тетразол.

С. Фармацевтические композиции, составы и дозировки

В другом варианте осуществления предусматривается фармацевтическая композиция для лечения заболевания или расстройства, связанного с LXR активностью, включающая заявляемое соединение и фармацевтически приемлемый носитель или разбавитель.

В фармацевтических композициях изобретения заявляемое соединение присутствует в эффективном количестве. Взаимосвязь дозировок для животных и людей (на основе количества миллиграмм на квадратный метр поверхности тела) описана у Freireich et al., *Cancer Chemother. Rep*, 1966, 50: 219. Площадь поверхности тела может быть определена приблизительно на основе роста и веса пациента. См., например, *Scientific Tables*, Geigy Pharmaceuticals, Ardsley, N.Y., 1970, 537.

LXR модуляторы здесь (например, заявляемое соединение(я)) могут быть составлены в виде фармацевтических композиций и введены субъекту, такому как человек, в различных формах, адаптированных для выбранного способа введения. Обычные способы введения данных фармацевтических композиций включают, без ограничения, оральный, местный, буккальный, чрескожный, ингаляционный, парентеральный, подъязычный, ректальный, вагинальный и интраназальный. Термин "парентеральный" в соответствии с используемым здесь значением включает подкожные инъекции, внутривенные, внутримышечные, интратекальные, интратеральные инъекции или инфузии. Способы составления фармацевтических композиций хорошо известны из уровня техники, например как описано в "Remington: The Science and Practice of Pharmacy," University of the Sciences in Philadelphia, ed., 21-е издание, 2005, Lippincott,

Williams & Wilkins, Philadelphia, PA. Каждый из LXR модуляторов может применяться самостоятельно или в комбинации в качестве части фармацевтической композиции изобретения.

Фармацевтические композиции изобретения могут быть приготовлены с помощью комбинирования заявляемого соединения с подходящим фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем или наполнителем, и могут быть составлены в виде препаратов в твердой, полутвердой, жидкой или газообразной форме, такой как таблетки, капсулы, порошки, гранулы, мази, растворы, свечи, инъекции, ингаляторы, гели, микросферы и аэрозоли. Таким образом, рассматриваемые соединения могут вводиться системно, например орально, в комбинации с фармацевтически приемлемым наполнителем, таким как инертный разбавитель или усвояемый съедобный носитель. Они могут быть заключены в твердые или мягкие желатиновые капсулы, могут быть спрессованы в таблетки или могут быть внесены непосредственно в еду пациента. Для орального терапевтического введения активное соединение может быть скомбинировано с одним или несколькими наполнителями и применяться в форме проглатываемых таблеток, буккальных таблеток, пастилок, капсул, эликсиров, суспензий, сиропов, пластинок и им подобных.

Подходящие таблетки могут быть получены, например, смешиванием одного или нескольких заявляемых соединений с известными наполнителями, например инертными разбавителями, носителями, разрыхлителями, адьювантами, поверхностно-активными веществами, связующими веществами и/или лубрикантами. Таблетки могут также состоять из нескольких слоев.

Заявляемые соединения могут быть составлены подходящим образом в виде фармацевтических композиций для введения субъекту. Фармацевтические композиции изобретения необязательно включают один или несколько фармацевтически приемлемых носителей и/или разбавителей, таких как лактоза, крахмал, целлюлоза и декстроза. Также могут включаться другие наполнители, такие как отдушки; подсластители; и консерванты, такие как метиловые, этиловые, пропиловые и бутиловые эфиры параоксибензойной кислоты. Более полные списки подходящих наполнителей приведены в Handbook of Pharmaceutical Excipients (5-е изд., Pharmaceutical Press (2005)). Специалисту в данной области будет известно как приготовить составы, подходящие для различных типов способов введения. Стандартные процедуры и ингредиенты для отбора и приготовления подходящих составов описаны, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences (2003 - 20-е издание) и в The United States Pharmacopeia: The National Formulary (USP 24 NF19), опубликованном в 1999 г. Носители, разбавители и/или наполнители являются "приемлемыми" в плане совместимости с другими ингредиентами фармацевтической композиции и не являются вредными по отношению их реципиенту.

Как правило, для орального терапевтического введения заявляемое соединение может быть дополнено наполнителем и применяться в форме проглатываемых таблеток, буккальных таблеток, пастилок, капсул, эликсиров, суспензий, сиропов, пластинок и им подобных.

Обычно для парентерального введения растворы заявляемых соединений могут быть в целом приготовлены в воде, смешанной подходящим образом с поверхностно-активным веществом, таким как гидроксипропилцеллолоза. Дисперсии также могут быть приготовлены в глицерине, жидких полиэтиленгликолях, DMSO и их смесях с/без спирта, а также в маслах. При обычных условиях хранения и применения данные препараты содержат консервант для предотвращения роста микроорганизмов.

Как правило, для применения в виде инъекций стерильные водные растворы или дисперсия, а также стерильные порошки заявляемого соединения для быстрого приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий.

Для назального введения заявляемые соединения могут быть составлены в виде аэрозолей, капель, гелей и порошков. Аэрозольные составы обычно включают раствор или высокодисперсную суспензию активного вещества в физиологически приемлемом водном или неводном растворителе и также обычно присутствуют в единичных или множественных количествах в стерильной форме в запечатанном контейнере, который может иметь форму картриджа или сменного контейнера для применения с атомизирующим устройством. Альтернативно, запечатанный контейнер может представлять собой единичное диспенсерное устройство, такое как назальный ингалятор с единичной дозой или аэрозольный диспенсер с дозаторным клапаном, который предназначен для утилизации после применения. В случае, если лекарственная форма включает аэрозольный диспенсер, она будет содержать движущее тело, которое может представлять собой сжатый газ, такой как сжатый воздух или органическое движущее тело, такое как фторхлоргидроуглерод. Аэрозольные лекарственные формы могут также иметь форму помпового распылителя.

Для буккального или подъязычного введения заявляемые соединения могут быть составлены с носителем, таким как сахар, акация, трагакант или желатин и глицерин, в виде таблеток, леденцов или пастилок.

Для ректального введения заявляемые соединения могут быть составлены в форме свечей, содержащих стандартную основу свечи, такую как масло какао.

Топическое и/или местное введение заявляемых соединений может быть осуществлено различными способами, включая, без ограничения, мази, лосьоны, пасты, кремы, гели, порошки, капли, спреи, растворы, ингаляторы, пластыри, свечи, клизмы, жевательные или сосательные таблетки или гранулы и аэрозоли. Топическое и/или местное введение может также включать применение чрескожного введения,

такого как чрескожные пластыри или ионтофорезные устройства. Для топического и/или местного введения заявляемые соединения могут быть составлены в виде мазей, кремов, молочка, притираний, порошков, пропитанных подушечек, синтетических детергентов, растворов, гелей, спреев, пен, суспензий, лосьонов, палочек, шампуней или моющих основ. Заявляемые соединения могут быть также введены в форме суспензий липидных или полимерных везикул или наносфер или микросфер или полимерных пластырей и гидрогелей для контролируемого высвобождения.

D. Способы лечения и применения LXR модуляторов

Описывается способ лечения субъекта с заболеванием или расстройством, которое может лечиться с помощью модулирования LXR. В одном варианте осуществления LXR модулируют с помощью апрегуляции LXR активности. Способ включает введение эффективного количества заявляемого соединения. Более того, здесь описано применение заявляемого соединения для изготовления лекарственного средства для лечения субъекта с заболеванием или расстройством, которое может подвергаться лечению с помощью апрегуляции LXR активности у нуждающегося в этом субъекта.

Описанные здесь способы могут применяться в отношении расстройств, которые могут лечиться с помощью LXR модуляции, в частности LXR агонизма.

Заявляемые соединения могут применяться для лечения или предотвращения заболеваний или расстройств, связанных с изменением транспорта холестерина, обратным транспортом холестерина, метаболизмом жирных кислот, абсорбцией холестерина, реабсорбцией холестерина, секрецией холестерина, экскрецией холестерина или метаболизмом холестерина. Соответствующие заболевания или расстройства включают, без ограничения, липидное расстройство; рак, в частности гормонозависимые виды рака, включая рак яичника, молочной железы или простаты; угреподобное состояние кожи; воспалительное заболевание кожи; иммунологическое расстройство; состояние, характеризующее нарушением функции эпидермального барьера; состояние нарушения дифференциации или избытка пролиферации эпидермиса или мембраны слизистой оболочки; сердечно-сосудистое заболевание; заболевания репродуктивного тракта; патологию оптического нерва и сетчатки; дегенеративную невропатию, сопровождающую заболевание; аутоиммунное заболевание; травматическое повреждение центральной или периферической нервной системы; нейродегенеративное заболевание; дегенеративный процесс вследствие старения; заболевания или расстройства почки; и остеопороз и связанные заболевания.

В другом варианте осуществления заболевание или расстройство представляет собой гиперлипидемию, гиперхолестеринемию, гиперлипопротеинемию, гипертриглицеридемию, липодистрофию, гепатитный стеатоз, неалкогольный стеатогепатит (NASH), неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD), гипергликемию, резистентность к инсулину, сахарный диабет, дислипидемию, атеросклероз, желчекаменную болезнь, акне, дерматит (включая, без ограничения, псориаз, контактный дерматит, атопический дерматит и экзему), раны на коже, старение кожи, фотостарение, морщины, диабет, болезнь Нимана-Пика типа С, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, воспаление, ксантому, ожирение, метаболический синдром, синдром X, инсульт, окклюзионное заболевание периферических артерий, потерю памяти, диабетические нефропатии, протеинурию, гломерулопатию (включая, без ограничения, диабетическую нефропатию, гипертоническую нефропатию, IGA нефропатию, очаговый сегментарный гломерулосклероз), гиперфосфатемию, сердечно-сосудистые осложнения гиперфосфатемии, рак, множественный склероз или остеопороз.

В другом варианте осуществления болезнь или расстройство представляет собой акне; комедоны; полиморфы; розацеа; узелково-кистозные угри; конглобатные угри; старческое акне; вторичное акне, включая провоцируемое солнцем, медикаментозное или производственное акне; иктиоз; иктиозоподобные состояния; болезнь Дарье; ладонно-подошвенная кератодермию; лейкоплакию; лейкоплакоподобные состояния; кожные лишай или лишай слизистой оболочки (слизистой оболочки рта); дерматологические состояния или заболевания с воспалительным иммуноаллергическим компонентом с нарушением или без нарушения клеточной пролиферации, включая, без ограничения, кожный псориаз, псориаз слизистых оболочек, ногтевой псориаз, псориатический ревматизм, кожную атопию, включая экзему, респираторную атопию или десневую гипертрофию; доброкачественные или злокачественные или эпидермальные пролиферации вирусного или невирусного происхождения, включая, без ограничения, обыкновенные бородавки, плоские бородавки, бородавчатую эпидермодисплазию, оральные или внутрипротоковые папилломатозы и Т-лимфому или кожную Т-клеточную лимфому; пролиферации, которые могут быть вызваны ультрафиолетовым излучением, включая, без ограничения, базальноклеточную карциному и спиноцеллюлярную эпителиому; предраковые состояния кожи, включая, без ограничения, кератоакантомы; иммунные дерматиты, включая, без ограничения, красную волчанку; буллезные иммунные заболевания; коллагеновые заболевания, включая, без ограничения, склеродермию; дерматологические или системные состояния или заболевания с иммунологическим компонентом; заболевания кожи вследствие воздействия ультрафиолетового излучения; индуцированное светом или хронологическое старение кожи; актинические пигментации; кератоз; патологию, связанную с хронологическим или актиническим старением, включая, без ограничения, ксероз; расстройство функции сальных желез, включая, без ограничения, угревую гиперсеборею, обычную себорею и себорейный дерматит; расстройства, связанные с заживлением кожи, включая, без ограничения, растяжки; расстройства, связанные с пигментацией, включая, без огра-

нижения, гиперпигментацию, мелазму, гипопигментацию и витилиго; и алопецию, включая, без ограничения, вызванную химиотерапией алопецию и вызванную радиацией алопецию.

В одном варианте осуществления заболевание или расстройство представляет собой гиперхолестеринемию, атеросклероз или дислипидемию. В другом варианте осуществления заболевание или расстройство представляет собой атеросклероз или дислипидемию. В другом варианте осуществления заболевание или расстройство представляет собой атеросклероз, болезнь Альцгеймера или дерматит.

Настоящее изобретение также предусматривает способ лечения субъекта с заболеванием или расстройством, выбранным из атеросклероза, болезни Альцгеймера или дерматита.

Стандартные физиологические, фармакологические и биохимические процедуры известны из уровня техники и доступны для анализа соединений настоящего изобретения на способность модулировать LXR активность. Данные анализы включают, например, анализы связывания, анализы поляризации флуоресценции, анализ включения коактиваторов на основе FRET, и анализы котрансфекции на основе клеток. Соединения настоящего изобретения могут быть проанализированы на предмет их способности модулировать экспрессию генов, модулируемых LXR. Могут применяться стандартные животные-модели для анализа профилей соединений настоящего изобретения относительно параметров, непосредственно связанных с заболеваниями или расстройствами, включая атеросклероз, болезнь Альцгеймера и состояния кожи. Таким образом, соединения настоящего изобретения могут быть протестированы *in vivo* на животных-моделях с помощью различных способов введения, например орального кормления через желудочные зонды. Как правило, количество соединения *in vivo* может быть определено в плазме и целевых тканях. LXR активность (определяемая на основе генной экспрессии LXR-реактивных генов) может быть определена в цельной крови и целевых тканях. Липиды могут быть подсчитаны в плазме и печени.

В частности, соединения настоящего изобретения могут быть проанализированы на предмет их активности в отношении транспортеров холестерина АТФ-связывающих кассет, таких как ABCA1 и ABCG1 и липогенных маркеров, таких как SREBP1c при определенном уровне генной и белковой экспрессии. Функциональные последствия индуцирования ABC транспортеров могут быть проанализированы на клеточных моделях для оттока холестерина и на животных-моделях на предмет обратного пути холестерина и атеросклероза. Липогенные маркеры могут быть проанализированы на животных-моделях путем измерения уровней триглицеридов в плазме и печени.

Соединения настоящего изобретения могут применяться самостоятельно (например, в качестве монотерапии) или в комбинации с одним или несколькими иными терапевтическими агентами, эффективными для лечения любого из указанных выше заболеваний. Фармацевтические композиции могут включать описанные соединения в качестве единственного фармацевтически активного агента или могут включать один или несколько дополнительных фармацевтически активных агентов.

Возможно проведение комбинационной терапии для лечения или облегчения описанного здесь заболевания или расстройства. Комбинационная терапия включает введение по меньшей мере одного соединения, описанного структурной формулой I, II, III, IV, V или VI в комбинации с одним или несколькими агентами для лечения или облегчения описанного здесь заболевания или расстройства. Комбинационная терапия включает введение, по меньшей мере, одного соединения, описанного структурной формулой I, II, III, IV, V или VI в комбинации с одним или несколькими агентами для лечения заболеваний, включая гиперлипидемию, гиперхолестеринемию, гиперлипопротеинемию, гипертриглицеридемию, липодистрофию, гепатитный стеатоз, NASH, NAFLD, гипергликемию, резистентность к инсулину, сахарный диабет, дислипидемию, атеросклероз, желчекаменную болезнь, акне, дерматит (включая, без ограничения, псориаз, контактный дерматит, атопический дерматит и экзему), раны на коже, старение кожи, фотостарение, морщины, диабет, болезнь Нимана-Пика типа C, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера, воспаление, ксантому, ожирение, метаболический синдром, синдром X, инсульт, окклюзионное заболевание периферических артерий, потерю памяти, диабетические нефропатии, протеинурию, гломерулопатии (включая, без ограничения, диабетическую нефропатию, гипертоническую нефропатию, IGA нефропатию, очаговый сегментарный гломерулосклероз), гиперфосфатемию, сердечно-сосудистые осложнения гиперфосфатемии, рак, множественный склероз или остеопороз.

Заявляемые соединения применяются в комбинации с одним или несколькими дополнительными агентами для лечения диабета, дислипидемии, сердечно-сосудистого заболевания, гипертензии или ожирения. Агенты для лечения диабета включают инсулин, такой как Humulin® (Eli Lilly), Lantus® (Sanofi Aventis), Novolin® (Novo Nordisk) и Exubera® (Pfizer); PPAR гамма-агонисты, такие как Avandia® (росиглитазон малеат, GSK) и Actos® (пиоглитазон гидрохлорид, Takeda/Eli Lilly); сульфонилуреи, такие как Amaryl® (глимепирид, Sanofi Aventis), Diabeta® (глибурид, Sanofi Aventis), Micronase®/Glynase® (глибурид, Pfizer), и Glucotrol®/Glucotrol XL® и (глипизид, Pfizer); меглитиниды, такие как Prandin®/NovoNorm® (репаглинид, Novo Nordisk), Starlix® (натеглинид, Novartis), и Glufast® (митиглинид, Takeda); бигуаниды, такие как Glucophage®/Glucophage XR® (метформин HCl, Bristol Myers Squibb) и Glumetza® (таблетки метформина с замедленным высвобождением HCl, Depomed); тиазолидиндионы; аналоги амилина, аналоги или агонисты GLP-1 (включая Byetta® (эксенатид, Amylin/Eli Lilly) и Victoza® (рекомбинантный лираглутид, Novo Nordisk)); DPP-IV ингибиторы, включая Tradjenta™ (Eli

Lilly/Boehringer Ingelheim), Januvia® (Merck), Galvus® (Novartis) и Onglyza® (Bristol-Myers Squibb/AstraZeneca); бета-ингибиторы РТВ-1; ингибиторы протеинкиназ (включая АМР-активированные ингибиторы протеинкиназы); антагонисты глюкогона, бета-ингибиторы гликоген-синтаза-киназы-3; ингибиторы глюкозо-6-фосфатазы; ингибиторы гликогенфосфорилазы; ингибиторы котранспортеров натрий-глюкозы и ингибиторы альфа-глюкозидазы, такие как Precose®/Glucobay®/Prandase®/Glucor® (акарбоза, Bayer) и Glyset® (миглитол, Pfizer). Агенты для лечения дислипидемии и сердечнососудистых заболеваний включают статины, фибраты и эзетимиб. Агенты для лечения гипертензии включают альфа-блокаторы, бета-блокаторы, блокаторы кальциевых каналов, диуретики, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (АСЕ), двойные ингибиторы АСЕ и нейтральной эндопептидазы (NEP), блокаторы рецепторов ангиотензина (АРВ), ингибиторы альдостеронсинтазы, антагонисты рецепторов альдостерона или антагонисты рецепторов эндотелина. Агенты для лечения ожирения включают орлистат, фентермин, сибутрамин и римонабант.

Возможно введение LXR модуляторного заявляемого соединения или его композиции в рамках комбинационной терапии с комбинированными продуктами, такими как Avandamet® (метформин HCl и розиглитазона малеат, GSK); Avandaryl® (глимепирид и розиглитазона малеат, GSK); Metaglip® (глипизид и метформин HCl, Bristol Myers Squibb); и Glucovance® (глибурид и метформин HCl, Bristol Myers Squibb).

Комбинационная терапия включает введение, по меньшей мере, одного заявляемого соединения в комбинации с одним или несколькими соединениями, выбранными из группы, состоящей, например, из ингибиторов бета-секретазы (BACE1); ингибиторов гамма-секретазы; ингибиторов накопления амилоидов (например, ELND-005); напрямую или непрямо действующих нейрозащитных и/или модифицирующих заболевание веществ; антиоксидантов (например, витамина Е или гинколида); противовоспалительных веществ (например, Сох ингибиторов, NSAID); ингибиторов HMG-CoA редуктазы (статинов); ингибиторов ацетилхолинстеразы (например, донепезила, ривастигмина, такрина, галантамина, мемантина, такрина); антагонистов рецепторов NMDA (например, мемантина); агонистов рецепторов АМРА; позитивных модуляторов АМРА рецепторов, АМРАкинов, ингибиторов захвата рецепторов моноамина, веществ, модулирующих концентрацию или высвобождение нейротрансмиттеров; веществ, индуцирующих секрецию гормона роста (например, ибутаморена месилата и капроморелина); антагонистов рецепторов СВ-1 или обратных агонистов; антибиотиков (например, миноциклина или рифампицина); PDE2, PDE4, PDE5, PDE9, PDE10 ингибиторов, обратных агонистов рецепторов GABAA, агонистов никотиновых рецепторов или частичных агонистов или позитивных модуляторов, агонистов альфа4бета2 никотиновых рецепторов или частичных агонистов или позитивных модуляторов, агонистов альфа7 никотиновых рецепторов или частичных агонистов или позитивных модуляторов; антагонистов гистамина H3, агонистов 5 HT-4 или частичных агонистов, антагонистов 5HT-6, антагонистов альфа2-адренорецепторов, антагонистов кальция, агонистов рецепторов мускарина M1 или частичных агонистов или позитивных модуляторов, антагонистов рецепторов мускарина M2, антагонистов рецепторов мускарина M4, позитивных модуляторов метаботропных рецепторов глутамата 5, антидепрессантов, таких как циталопрам, флуоксетин, пароксетин, сертралин и тразодон; нейролептиков, таких как лоразепам и оксазепам; антипсихотиков, таких как арипипразол, клозапин, галоперидол, оланзапин, кветиапин, рисперидон и zipразидон и других веществ, которые модулируют рецепторы или ферменты таким образом, что эффективность и/или безопасность заявляемых соединений увеличена и/или снижены нежелательные побочные эффекты. Заявляемые соединения могут также применяться в комбинации с иммунотерапией для лечения описанного здесь заболевания или состояния.

Комбинационная терапия включает совместное введение заявляемого соединения и одного или нескольких иных агентов, последовательное введение заявляемого соединения и одного или нескольких иных агентов, введение композиции, содержащей заявляемое соединение и один или несколько иных агентов или одновременное введения отдельных композиций, содержащих заявляемое соединение и один или несколько иных агентов.

Е. Примеры синтеза

Общее описание способов синтеза

Соединения настоящего изобретения могут быть быстро получены в соответствии со следующими схемами реакций и примерами или их модификациями с применением легкодоступных исходных материалов, реагентов и стандартных процедур синтеза. Многие реакции также могут быть осуществлены в микроволновых условиях или с применением стандартного нагрева или других технологий, таких как твердофазные реагенты/поглотители или поточная химическая реакция. В других реакциях также является возможным применение вариантов, которые сами по себе являются известными специалистам в данной области, но не описаны подробно. Более того, другие способы получения заявляемых соединений будут легко понятны специалисту в данной области в свете следующих схем реакций и примеров. В случаях, если синтетические промежуточные продукты и конечные продукты содержат потенциально функциональные группы, например амино, гидроксильные, тиол и карбоксильные кислотные группы, которые могут препятствовать желаемой реакции, может являться полезным применение защищенных форм проме-

жучочного продукта. Способы отбора, введения и последующего удаления защитных групп хорошо известны специалистам в данной области. В приведенном ниже описании X, R¹, R², R³ и R⁴ имеют указанные выше значения, если не указано иное. Аббревиатуры, примененные в данном описании экспериментов, перечислены ниже, при этом дополнительные аббревиатуры должны быть известны специалисту в области синтеза. Кроме того, является возможным обратиться к следующим руководствам, в которых указаны подходящие способы синтеза, как описано у March, *Advanced Organic Chemistry*, 3-е изд., John Wiley & Sons, 1985, Greene and Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2-е изд., John Wiley & Sons, 1991 и Richard Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, 4-е изд., VCH publishers Inc., 1989.

В целом, реагенты в схемах реакций применяются в эквимолярных количествах; тем не менее, в определенных случаях может являться желательным применение избыточного количества одного реагента для достижения завершения реакции. Это особенно верно в том случае, если реагент в избыточном количестве может быть быстро удален с помощью выпаривания или экстракции. Основания, применяемые для нейтрализации HCl в реакционных смесях, в целом применяются в количестве от немного избыточного до в значительной степени избыточного (1,05-5 эквивалентов).

В случае, если приведены данные по ЯМР, спектры были получены с помощью Varian 400 (400 МГц) или 300 (300 МГц) и указаны в виде количества ppm ниже тетраметилсилана с номером протона, при этом величины кратности и константы взаимодействия указаны в скобках наряду с указанием дейтерированного растворителя.

ВЭЖХ-МС данные были получены с применением одного или нескольких из следующих хроматографических условий:

Способ 1 (10-80, 2 мин)

Колонка	Xtimate™ C18 2,1*30 мм, 3 мкм		
Мобильная фаза	А: вода (4 л) + трифторуксусная кислота (1,5 мл)		
	В: ацетонитрил (4 л) + трифторуксусная кислота (0,75 мл)		
	ВРЕМЯ (мин)	А%	В%
	0	90	10
	0,9	20	80
	1,5	20	80
	1,51	90	10
	2	90	10
Скорость потока	1,2 мл/мин		
длина волны	УФ 220 нм		
Температура	50 °С		
МС ионизация	электроспрей		

Способ 2 (30-90, 2 мин)

Колонка	Xtimate™ C18 2,1*30 мм, 3 мкм		
Мобильная фаза	А: вода (4 л) + трифторуксусная кислота (1,5 мл)		
	В: ацетонитрил (4 л) + трифторуксусная кислота (0,75 мл)		
	ВРЕМЯ (мин)	А%	В%
	0	70	30
	0,9	10	90
	1,5	10	90
	1,51	70	30
	2	70	30
Скорость потока	1,2 мл/мин		
длина волны	УФ 220 нм		
Температура	50 °С		
МС ионизация	электроспрей		

Способ 3 (0-60, 2 мин)

Колонка	Xtimate™ C18 2,1*30 мм, 3 мкм		
Мобильная фаза	А: вода (4 л) + трифторуксусная кислота (1,5 мл)		
	В: ацетонитрил (4 л) + трифторуксусная кислота (0,75 мл)		
	ВРЕМЯ (мин)	А%	В%
	0	100	0
	0,9	40	60
	1,5	40	60
	1,51	100	0
2	100	0	
Скорость потока	1,2 мл/мин		
длина волны	УФ 220 нм		
Температура	50 °С		
МС ионизация	электроспрей		

Способ 4

ВЭЖХ система: Waters ACQUITY; Колонка: Waters ACQUITY CSH™ C18 1,7 мкм; Предколонка: Waters Assy. Frit, 0,2 мкм, 2,1 мм; Температура колонки: 40°С. Мобильная фаза: А: трифторуксусная кислота: Вода (1:1000, об/об); Мобильная фаза В: трифторуксусная кислота: ацетонитрил (1:1000, об/об); Скорость потока: 0,65 мл/мин; Объем введенной пробы: 2 мкл; Время захвата: приблизительно 1,5 мин.

Градиентная программа

Время (мин)	В%
0	10
0,8	90
1,20	90
1,21	10

Параметры масс-спектрометра

Масс-спектрометр: Waters SQD; ионизация: электроспрей (ESI); Режим сканирования (100-1400 m/z каждые 0,2 с); капиллярное напряжение электроспрея: 3,5 кВ; напряжение конуса электроспрея: 25 В; Температура источника: 120°С; Температура десольватации: 500°С; Поток десольватационного газа: Азотная среда 650 (л/ч); Поток конусного газа: Азотная среда 50 (л/ч).

СФХ сепарацию заявляемых соединений осуществляли следующими способами.

Способ А

Инструмент: Thar SFC 80; Колонка: AD 250 мм × 30 мм, 5 мкм; Мобильная фаза: А: Сверхкритический CO₂, В: изопропиловый спирт (0,05% диэтаноламин), А: В =80:20 при 60 мл/мин; Температура колонки: 38°С; Давления распылителя: 100 бар; Температура распылителя: 60°С; Температура испарителя: 20°С; Температура триммера: 25°С; Длина волны: 220 нм.

Способ В

Инструмент: SFC MG2; Колонка: OJ 250 мм × 30 мм, 5 мкм; Мобильная фаза: А: Сверхкритический CO₂, В: MeOH(0,05% диэтаноламин), А:В =90:10 при 70 мл/мин; Температура колонки: 38°С; Давления распылителя: 100 бар; Температура распылителя: 60°С; Температура испарителя: 20°С; Температура триммера: 25°С; Длина волны: 220 нм.

Хиральную чистоту заявляемых соединений определяли с помощью аналитической хиральной ВЭЖХ, которую проводили с помощью Chiralcel® или Chiralpak® колонок с применением CO₂ наряду с от 5 до 40% метанолом, этанолом или изопропанолом, содержащим 0,05% диэтаноламин, в качестве элюентов.

Аналитическая хиральная ВЭЖХ

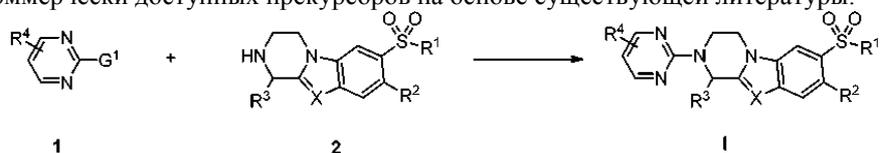
Способ	Подробная информация
OJ-H_3_5_40_2,35МЛ	Колонка: Chiralcel [®] OJ-H 250×4,6 мм I.D., 5 мкм; Мобильная фаза: метанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,35 мл/мин; Длина волны: 220 нм
OJ-H_3_5_40_2,5МЛ	Колонка: Chiralcel [®] OJ-H 250×4,6 мм I.D., 5 мкм; Мобильная фаза: метанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,5 мл/мин; Длина волны: 220 нм
AS-H_3_5_40_2,35МЛ	Колонка: Chiralpak [®] AS-H 250×4,6 мм I.D., 5 мкм; Мобильная фаза: метанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,35 мл/мин; Длина волны: 220 нм
AS-H_4_5_40_2,5МЛ	Колонка: Chiralpak [®] AS-H 250×4,6 мм I.D., 5 мкм; Мобильная фаза: изопропанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,5 мл/мин; Длина волны: 220 нм
AS-H_5_5_40_2,35МЛ	Колонка: Chiralpak [®] AS-H 250×4,6 мм I.D., 5 мкм; Мобильная фаза: этанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,35 мл/мин; Длина волны: 220 нм
AS-H_3_5_40_2,5МЛ	Колонка: Chiralpak [®] AS-H 250×4,6 мм I.D., 5 мкм; Мобильная фаза: метанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,5 мл/мин; Длина волны: 220 нм
AD-H_3_5_40_2,35МЛ	Колонка: Chiralpak [®] AD-H 250×4,6 мм I.D., 5 мкм; Мобильная фаза: метанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,35 мл/мин; Длина волны: 220 нм
AD-H_5_5_40_2,35МЛ	Колонка: Chiralpak [®] AD-H 250×4,6 мм I.D., 5 мкм; Мобильная фаза: этанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,35 мл/мин; Длина волны: 220 нм
OD-3_3_5_40_2,5МЛ	Колонка: Chiralcel [®] OD-3 150×4,6 мм I.D., 3 мкм; Мобильная фаза: метанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,5 мл/мин; Длина волны: 220 нм
OD-3_4_5_40_2,5МЛ	Колонка: Chiralcel [®] OD-3 150×4,6 мм I.D., 3 мкм; Мобильная фаза: изопропанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,5 мл/мин; Длина волны: 220 нм
OD-3_5_5_40_2,5МЛ	Колонка: Chiralcel [®] OD-3 150×4,6 мм I.D., 3 мкм; Мобильная фаза: этанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,5 мл/мин; Длина волны: 220 нм
AD-3_3_5_40_2,5МЛ	Колонка: Chiralpak [®] AD-3 150×4,6 мм I.D., 3 мкм; Мобильная фаза: метанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,5 мл/мин; Длина волны: 220 нм
AD-3_4_5_40_2,5МЛ	Колонка: Chiralpak [®] AD-3 150×4,6 мм I.D., 3 мкм; Мобильная фаза: изопропанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,5 мл/мин; Длина волны: 220 нм
AD-3_5_5_40_2,5МЛ	Колонка: Chiralpak [®] AD-3 150×4,6 мм I.D., 3 мкм; Мобильная фаза: этанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,5 мл/мин; Длина волны: 220 нм
OD-H_3_5_40_2,35МЛ	Колонка: Chiralcel [®] OD-H 250×4,6 мм I.D., 5 мкм; Мобильная фаза: метанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,35 мл/мин; Длина волны: 220 нм
OD-H_5_5_40_2,35МЛ	Колонка: Chiralcel [®] OD-H 250×4,6 мм I.D., 5 мкм; Мобильная фаза: этанол (0,05% диэтанолламин) в CO ₂ от 5% до 40%; Скорость потока: 2,35 мл/мин; Длина волны: 220 нм

Изобретение иллюстрируется следующими примерами, в которых могут применяться следующие аббревиатуры:

Аббревиатура	Значение
ACN, MeCN, CH ₃ CN	ацетонитрил
	водн.
Boc	<i>tert</i> -бутоксикарбонил или <i>m</i> -бутоксикарбонил
соляной раствор	насыщенный водный раствор NaCl
Cbz	бензилоксикарбонил
CeCl ₃	хлорид церия
Cs ₂ CO ₃	карбонат цезия
CuI	иодид меди
DCM или CH ₂ Cl ₂	метиленхлорид
DIEA	диизопропиламин
DMF	диметилформамид
DMS/Me ₂ S	диметилсульфид
DMSO	диметилсульфоксид
EDCI	1-(3-диметиламинопропил)-3-этилкарбодимид гидрохлорид
EtI	этилиодид
Et	этил
Et ₂ O	этиловый эфир
Et ₃ SiH	триэтилсилан
Et ₃ N	триэтиламин
EtOAc, EA, AcOEt	этилацетат
EtOH	этанол
FeCl ₃	хлорид железа
ч	час(ы)
HATU	<i>O</i> -(7-азабензотриазол-1-ил)- <i>N,N,N',N'</i> -тетраметилуруний-гексафторфосфат
HBTU	<i>O</i> -бензотриазол-1-ил- <i>N,N,N',N'</i> -тетраметилуруний-гексафторфосфат
HCl	соляная кислота
H ₂ O	вода
H ₂ O ₂	пероксид водорода
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
<i>n</i> -BuOCCl	<i>n</i> -бутоксикарбонил хлорид
ICI	хлорид иода
K ₂ CO ₃	карбонат калия
K ₃ PO ₄	фосфат трикалия
ВЭЖХ-МС	ВЭЖХ с тандемной масс-спектрометрией
LDA	диизопропиламид лития
LiCl	хлорид лития
LiOH	гидроксид лития
МCPBA, <i>m</i> -CPBA	мета-хлорпероксибензойная кислота
MeOH	метанол
MeI	метилюдид
Me	метил
мг	миллиграмм
Mg ₂ SO ₄	сульфат магния (безводный)
мин	минута(ы)
мл	миллилитры
ммоль	миллимоль
Tпл	точка плавления
МС	масс-спектрометрия
МВ	микроволны
NaBH ₄	боргидрид натрия
NaBH ₃ CN	цианоборгидрид натрия
NaN	гидрид натрия
NaHCO ₃	бикарбонат натрия
NaOH	гидроксид натрия
NaOMe	метоксид натрия
Na ₂ S ₂ O ₃	тиосульфат натрия
Na ₂ S ₂ O ₅	дитионат натрия
Na ₂ SO ₄	сульфат натрия
NH ₄ OH	гидроксид аммония
(NH ₄) ₂ CO ₃	карбонат аммония

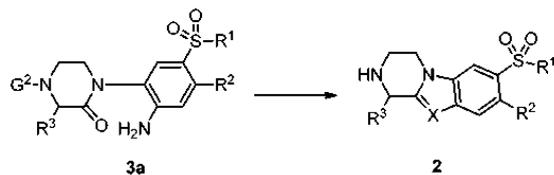
NH ₄ Cl	хлорид аммония
Na ₂ CO ₃	карбонат натрия
NaHCO ₃	бикарбонат натрия
NaH	гидрид натрия
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -бутиллитий
NMM	<i>N</i> -метилморфолин
NMP	<i>N</i> -метилпирролидин-2-он
OTf	трифторметансульфонат
OTs	тосилат
PdCl ₂ dppf	[1,1-бис(дифенилфосфино)ферроцен] дихлорпалладий (II)
Pd ₂ (dba) ₃	трис(дибензилдипацетон)дипалладий (0)
PE	петролейный эфир
комн. темп.	комнатная температура
нас.	насыщенный
СФХ	сверхкритическая флюидная хроматография
<i>m</i> -BuOK	трет-бутоксид калия
<i>m</i> -BuLi	трет-бутил лития
<i>m</i> -BuOOH	трет-бутилпероксид
TBAF	тетрабутиламмоний фторид
TFA	трифторуксусная кислота
THF	тетрагидрофуран
TLC	тонкослойная хроматография
Ti(OEt) ₄	тетраэтоксид титана
Zn	цинк
Zn(CN) ₂	цианид цинка

В первом процессе соединение формулы 1 может быть получено с помощью S_NAr или катализируемых палладием реакций реагентов 1, при этом G¹ представляет собой Cl, Br, I, OTf или OTs с промежуточными продуктами формулы 2. Реагенты 1 являются коммерчески доступными или могут быть быстро получены из коммерчески доступных прекурсоров на основе существующей литературы.

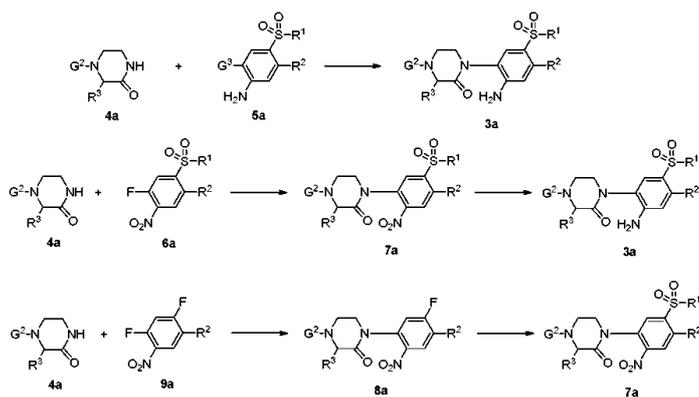


Промежуточные продукты 2 могут быть получены с помощью одного из нескольких различных способов, описанных ниже.

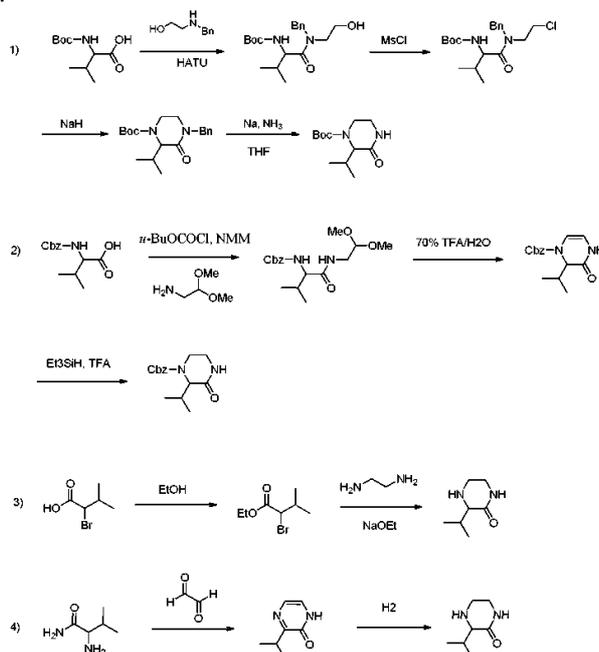
В случае, если X = N, промежуточные продукты формулы 2 могут быть получены путем циклизации промежуточных продуктов формулы 3а с последующим удалением G², если G² не является водородом. G² представляет собой аминную защитную группу, такую как Boc, Cbz и трифторацетамид и так далее.



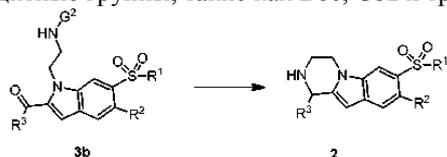
Промежуточные продукты формулы 3а могут быть получены с помощью одного из двух способов: опосредуемого медью связывания пиперазинона 4а и анилина 5а, при этом G³ представляет собой Br, I, Cl или OTf; 2) S_NAr реакции между 4а и фторированным нитробензолом 6а с получением промежуточного продукта формулы 7а с последующим восстановлением нитрогруппы. Промежуточный продукт 7а может быть получен из промежуточного продукта формулы 8а путем замещения фтора алкансульфинатом натрия (R¹SO₂Na) или алкилсульфидом натрия (R¹SNa) с последующим окислением полученного тиоэфира. Промежуточный продукт 8а в свою очередь может быть получен из пиперазинона 4а и дифторнитробензола 9а, которые являются коммерчески доступными или могут быть быстро получены из коммерческих прекурсоров на основе примеров из литературы, хорошо известных специалистам в данной области.



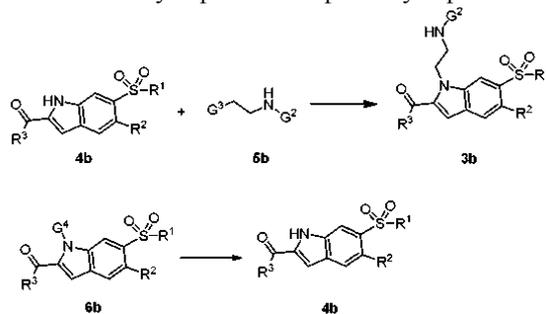
Например, если $R^3 =$ изопропил, пиперазинон 4a может быть получен с помощью одного из представленных ниже способов.



Если $X = CH$, промежуточные продукты формулы 2 могут быть получены из промежуточных продуктов формулы 3b путем снятия защиты G^2 с последующим восстановительным аминированием. G^2 представляют собой аминные защитные группы, такие как Boc, Cbz и трифторацетамид и так далее.

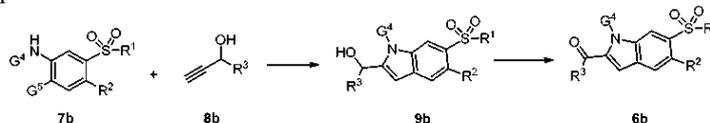


Промежуточные продукты формулы 3b могут быть получены с помощью N-алкилирования индола 4b коммерчески доступным алкилгалидом 5b, при этом G^3 представляет собой Bn или I. Промежуточные продукты формулы 4b могут быть получены путем удаления G^4 из промежуточных продуктов формулы 6b, при этом G^4 представляет собой метансульфонат или фенилсульфонат.

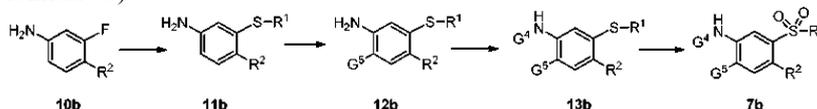


Промежуточные продукты формулы 6b могут быть получены с путем последовательной реакции Соногаширы между арилгаллидами 7b (при этом G^5 представляет собой Bn или I) и пропаргильовыми спиртами 8b с последующей циклизацией с получением промежуточных продуктов формулы 9b с последую-

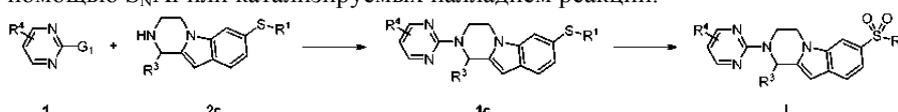
шим окислением спирта.



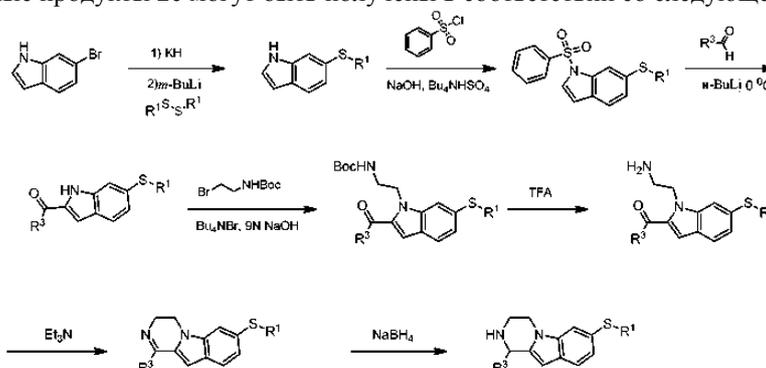
Промежуточные продукты формулы 7b могут быть получены из коммерчески доступного анилина 10b путем следующих преобразований: 1) Замещения фтора алкилсульфидом натрия R^1SNa (с получением 11b); 2) Галогенирования (с получением 12b); 3) Защиты анилина (с получением 13b); 4) Окисления сульфида (с получением 7b).



Во втором процессе соединения формулы I, где R^1 = алкил, R^2 = H и X = CH, может быть получено путем окисления тиоэфирной группы в промежуточных продуктах формулы 1c. Промежуточный продукт 1c в свою очередь может быть получен путем соединения реагентов 1 и промежуточных продуктов формулы 2c с помощью S_NAr или катализируемых палладием реакций.



Промежуточные продукты 2c могут быть получены в соответствии со следующей схемой.

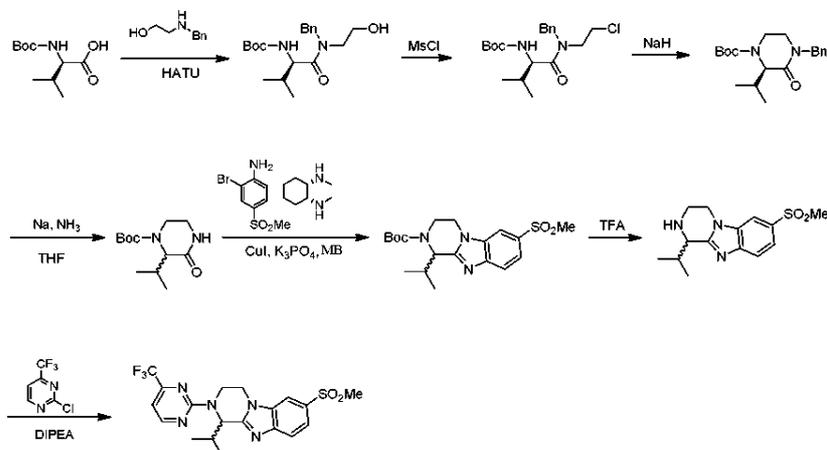


Все патенты, патентные заявки, книги и литература, упомянутые в описании полностью приведены здесь для ссылки. В случае каких-либо несоответствий настоящее описание, включая любые указанные здесь определения, является преваляющим.

Изобретение будет описано далее со ссылкой на следующие подробные примеры, которые приведены для иллюстрирования изобретения и не предназначены для его ограничения.

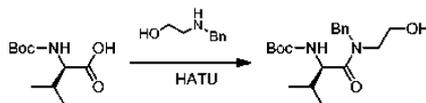
Пример 1

1-Изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-a]пиазин



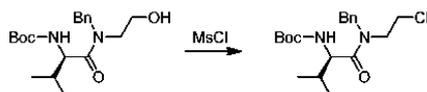
Рацемизация осуществлялась во время синтеза

Этап 1



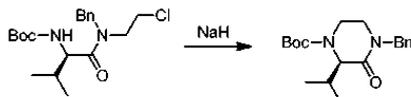
В раствор (R)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-3-метилмасляной кислоты (2,0 г, 9,20 ммоль) в CH_2Cl_2 (40 мл) добавляли 2-(бензиламино)этанол (1,3 г, 8,80 ммоль), HATU (5,30 г, 13,8 ммоль) и Et_3N (2,80 г, 27,6 ммоль) в N_2 среде. Смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение ночи. В смесь добавляли воду (20 мл) и экстрагировали EtOAc (3×30 мл). Объединенные органические слои промывали соляным раствором (20 мл), сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали, концентрировали и затем очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле для получения (R)-трет-бутил (1-(бензил(2-гидроксиэтил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамата в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ-МС m/z 351,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Этап 2



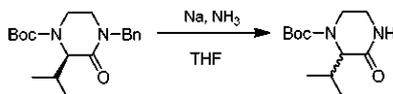
В раствор (R)-трет-бутил (1-(бензил(2-гидроксиэтил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамата (2,80 г, 8,0 ммоль) в CH_2Cl_2 (20 мл) добавляли Et_3N (1,60 г, 16 ммоль) и MsCl (1,40 г, 12,0 ммоль) по каплям при -10°C в N_2 среде. Смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение ночи. Реакцию останавливали водой (20 мл), при этом смесь экстрагировали CH_2Cl_2 (3×20 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором (20 мл) и сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали, концентрировали для получения (R)-трет-бутил (1-(бензил(2-хлорэтил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамата (3,0 г, 100% выход) в виде желтого твердого вещества, которое применяли на следующем этапе без дальнейшей очистки. ВЭЖХ-МС m/z 369,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц): δ 7,37-7,28 (м, 3H), 7,22-7,20 (м, 2H), 5,27-5,18 (м, 1H), 4,93-4,86 (м, 1H), 4,64-4,39 (м, 2H), 3,85-3,66 (м, 2H), 3,61-3,39 (м, 2H), 2,03-1,97 (м, 1H), 1,45 (с, 9H), 0,98 (д, $J=6,8$ Гц, 3H), 0,93 (д, $J=6,8$ Гц, 3H).

Этап 3



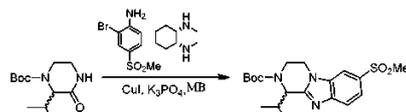
В раствор (R)-трет-бутил (1-(бензил(2-хлорэтил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамата (2,0 г, 5,40 ммоль) в DMF (30 мл) добавляли NaH (1,0 г, 27,0 ммоль, 60% в минеральном масле) при 0°C в N_2 среде. Смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакцию останавливали водой (20 мл), при этом смесь экстрагировали EtOAc (3×20 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором (20 мл) и сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали, концентрировали и очищали с помощью колоночной хроматографии для получения (R)-трет-бутил 4-бензил-2-изопропил-3-оксопиперазин-1-карбоксилата (1,13 г, 63% выход) в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ-МС m/z 277,1 $[\text{M}-56+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц): δ 7,38-7,29 (м, 3H), 7,29-7,22 (м, 2H), 5,02-4,86 (м, 1H), 4,49-4,39 (м, 1H), 4,31-4,06 (м, 2H), 3,41-3,18 (м, 3H), 2,42-2,31 (м, 1H), 1,46 (с, 9H), 1,12 (д, $J=6,8$ Гц, 3H), 1,00 (д, $J=6,8$ Гц, 3H).

Этап 4



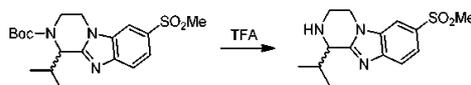
В трехгорлую колбу, содержащую THF (10 мл), барботировали NH_3 (в виде газа) при -78°C в течение 5 мин. Затем в смесь медленно добавляли Na (300 мг, 13,0 ммоль) при -78°C . После взбалтывания в течение 30 мин (R)-трет-бутил 4-бензил-2-изопропил-3-оксопиперазин-1-карбоксилат (700 мг, 2,11 ммоль) добавляли по каплям при -78°C . Смесь взбалтывали при -78°C в течение 30 мин. Реакцию останавливали насыщенным водным раствором NH_4Cl (10 мл), при этом смесь экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором (10 мл), сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали, концентрировали и очищали с помощью подготовительной TLC с петролейным эфиром/ EtOAc 1/1 для получения трет-бутил 2-изопропил-3-оксопиперазин-1-карбоксилата (300 мг, 59% выход) в виде белого твердого вещества. Было установлено, что продукт являлся рацемической смесью. Причина рацемизации не была установлена. ВЭЖХ-МС m/z 187,1 $[\text{M}-56+\text{H}]^+$, 265,1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц): δ 6,29 (с, 1H), 4,55-3,99 (м, 2H), 3,51-3,36 (м, 1H), 3,32-3,12 (м, 2H), 2,34-2,29 (м, 1H), 1,46 (с, 9H), 1,09 (д, $J=6,8$ Гц, 3H), 0,99 (д, $J=7,2$ Гц, 3H).

Этап 5



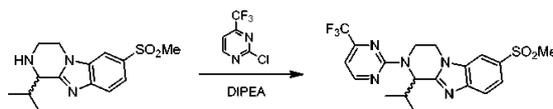
В раствор трет-бутил 2-изопропил-3-оксопиперазин-1-карбоксилата (200 мг, 0,83 ммоль) в NMP (3 мл) добавляли 2-бром-4-(метилсульфонил)анилин (207 мг, 0,83 ммоль), (1R,2S)-N1,N2-диметилциклогексан-1,2-диамин (12,0 мг, 0,08 ммоль), $K_3PO_4 \cdot 3H_2O$ (660 мг, 2,48 ммоль) и CuI (16 мг, 0,08 ммоль). Смесь взбалтывали при 150°C в течение 1 ч в микроволновой печи. Смесь разбавляли водой (10 мл) и экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (10 мл), сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали, концентрировали и очищали подготовительной TLC с $CH_2Cl_2/MeOH$ 35/1 для получения трет-бутил 1-изопропил-7-(метилсульфонил)-3,4-дигидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозин-2(1H)-карбоксилата (110 мг, 34% выход) в виде твердого белого вещества. ВЭЖХ-МС m/z 394,1 $[M+H]^+$. 1H ЯМР ($CDCl_3$, 400 МГц): δ 7,94 (с, 1H), 7,83-7,76 (м, 2H), 5,35-5,17 (м, 1H), 4,73-4,42 (м, 1H), 4,22-4,12 (м, 1H), 4,11-3,99 (м, 1H), 3,53-3,37 (м, 1H), 3,03 (с, 3H), 2,38-2,27 (м, 1H), 1,42 (с, 9H), 1,19 (д, $J=6,8$ Гц, 3H), 0,97 (д, $J=6,8$ Гц, 3H).

Этап 6



В раствор трет-бутил 1-изопропил-7-(метилсульфонил)-3,4-дигидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозин-2(1H)-карбоксилата (20 мг, 0,05 ммоль) в CH_2Cl_2 (1 мл) добавляли TFA (0,3 мл) в N_2 среде. Смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь концентрировали для получения 1-изопропил-7-(метилсульфонил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозина (20 мг, соль TFA, 100% выход) в виде желтого твердого вещества, которое применяли на следующем этапе без дальнейшей очистки. ВЭЖХ-МС m/z 352,1 $[M+H]^+$.

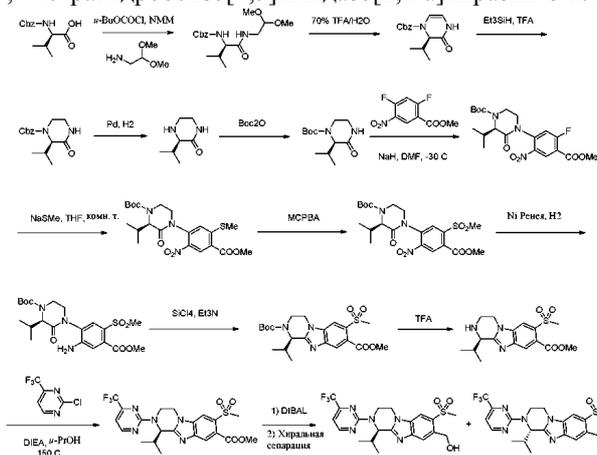
Этап 7



В раствор 1-изопропил-7-(метилсульфонил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозина (15 мг, 0,05 ммоль) в DMSO (3 мл) добавляли 2-хлор-4-(трифторметил)пиримидин (19 мг, 0,10 ммоль) и DIEA (20 мг, 0,15 ммоль) в N_2 среде. Смесь взбалтывали при 100°C в течение 2 ч. Добавляли воду (10 мл) и экстрагировали смесь EtOAc (3×10 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (10 мл), сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали, концентрировали и затем очищали с помощью подготовительной TLC для получения 1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозина (5,10 мг, 23% выход) в виде твердого белого вещества. ВЭЖХ-МС m/z 440,2 (MH^+). 1H ЯМР ($CDCl_3$, 400 МГц): δ 8,58 (д, $J=4,8$ Гц, 1H), 8,01 (д, $J=0,8$ Гц, 1H), 7,90-7,81 (м, 2H), 6,89 (д, $J=4,8$ Гц, 1H), 6,12 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 5,39 (дд, $J=4,0$ и 14,0 Гц, 1H), 4,34-4,30 (м, 1H), 4,23-4,16 (м, 1H), 3,83-3,75 (м, 1H), 3,09 (с, 3H), 2,55-2,49 (м, 1H), 1,33 (д, $J=6,8$ Гц, 3H), 1,09 (д, $J=6,8$ Гц, 3H).

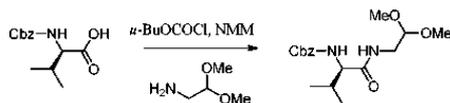
Пример 2

(R)-(1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозин-8-ил)метанол и (S)-(1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозин-8-ил)метанол



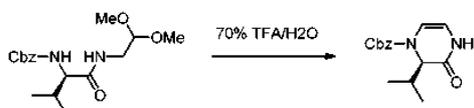
Размеры изображений соответствуют времени синтеза

Этап 1



Раствор Cbz-D-Валина (500 г, 1,99 моль) и N-метилморфолина (201,8 г, 1,99 моль) в безводной THF (8 л) охлаждали до -15°C , при этом и-бутилхлорформат (299 г, 2,19 моль) добавляли по каплям при взбалтывании. Спустя 30 мин медленно добавляли раствор 1-амино-2,2-диметиоксиэтана (209,5 г, 1,99 моль) в THF (1 л), при этом температуру поддерживали на уровне -15°C в течение 2 ч. Реакционную смесь промывали соевым раствором (2 л), при этом органическую фазу концентрировали для удаления THF. Остаток разбавляли EtOAc (4 л), промывали 1N водным раствором HCl (2×2 л), насыщенным водным раствором NaHCO_3 (2 л) и насыщенным водным раствором Na_2CO_3 (2 л) и соевым раствором (1,5 л). После сушки с помощью Na_2SO_4 органический растворитель удаляли при сниженном давлении для получения (R)-бензил (1-((2,2-диметоксиэтил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамата в виде белого твердого вещества (670 г, выход 99,5%), который применяли на следующем этапе без дальнейшей очистки. ВЭЖХ-МС m/z 360,9 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. ^1H ЯМР (CD_3OD 400 МГц): δ 7,35-7,30 (м, 5H), 5,08 (с, 2H), 4,45-4,35 (м, 1H), 3,95-3,85 (м, 1H), 3,34-3,25 (м, 8H), 2,10-1,90 (м, 1H), 0,94-0,91 (м, 6H).

Этап 2



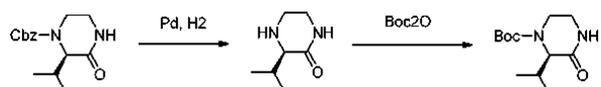
(R)-бензил (1-((2,2-диметоксиэтил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамат (335 г, 0,99 моль) добавляли по частям в охлажденную TFA- H_2O (температура $<5^{\circ}\text{C}$, об. $_{\text{TFA}}$ /об. $_{\text{H}_2\text{O}}$ =7/3,2 л), при этом раствор взбалтывали при комнатной температуре в течение 12 ч. Раствор медленно добавляли в размешанный насыщенный водный раствор Na_2CO_3 (2,5 л) для поддержания $\text{pH} > 8$. Смесь экстрагировали EtOAc (5×2 л). Объединенные органические слои промывали соевым раствором (2 л), сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали в вакууме для получения (R)-бензил 2-изопропил-3-оксо-3,4-дигидропиперазин-1(2H)-карбоксилата в виде твердого белого вещества (259 г, 95,4%), который применяли на следующем этапе без дальнейшей очистки. ВЭЖХ-МС m/z 274,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (CD_3OD 300 МГц): δ 7,36-7,34 (м, 5H), 6,33-6,30 (м, 1H), 5,79-5,68 (м, 1H), 5,26-5,13 (м, 2H), 4,38-4,29 (м, 1H), 2,01-1,96 (м, 1H), 1,00-0,84 (м, 6H).

Этап 3



В размешанный раствор (R)-бензил 2-изопропил-3-оксо-3,4-дигидропиперазин-1(2H)-карбоксилата (400 г, 1,46 моль) в DCE (2 л) добавляли Et_3SiH (424 г, 3,65 моль) и TFA (665 г, 5,8 моль) при комнатной температуре. Реакцию взбалтывали при рефлюксе в течение 36 ч. После охлаждения до комнатной температуры раствор концентрировали для удаления растворителя. Остаток разбавляли EtOAc (2 л) и медленно добавляли в размешанный охлажденный насыщенный водный раствор NaHCO_3 (2 л) для поддержания $\text{pH} > 8$. Смесь экстрагировали EtOAc (2×2,5 л). Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали для получения (R)-бензил 2-изопропил-3-оксопиперазин-1-карбоксилата (402 г, выход 99,75%), который применяли на следующем этапе без дальнейшей очистки. ВЭЖХ-МС m/z 276,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$ 400 МГц): δ 7,93 (с, 1H), 7,39-7,31 (м, 5H), 5,09 (с, 2H), 4,06-4,01 (м, 1H), 3,99-3,92 (м, 1H), 3,23-3,14 (м, 3H), 2,20-2,12 (м, 1H), 0,96-0,94 (м, 3H), 0,85 (д, $J=6,0$ Гц, 3H).

Этап 4



В круглодонную колбу объемом 1 л, содержащую (R)-бензил 2-изопропил-3-оксопиперазин-1-карбоксилат (50 г, 0,181 моль) в MeOH (800 мл), добавляли Pd/C (в сухом виде, w/w 15%, 5 г). Смесь взбалтывали при комнатной температуре в H_2 среде (1 атм.) в течение ночи. Когда TLC и ВЭЖХ-МС показали, что исходный материал был поглощен, в реакционную смесь добавляли $(\text{Ac})_2\text{O}$ (76,74 г, 0,352 моль), при этом смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение ночи до поглощения исходного (R)-3-изопропилпиперазин-2-она. Смесь фильтровали и концентрировали при вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (элюирование петролейным эфиром:EtOAc = 3:1) для получения (R)-трет-бутил 2-изопропил-3-оксопиперазин-1-карбоксилата в виде белого вещества (26 г, выход 61%).

Для (R)-3-изопропилпиперазин-2-она

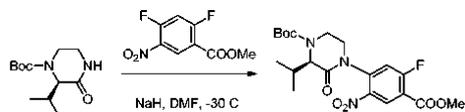
ВЭЖХ-МС m/z 143,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (HCl соль, CD_3OD 400 МГц): δ 3,95 (д, $J=3,6$ Гц, 1H), 3,65-

3,39 (м, 4H), 2,63-2,54 (м, 1H), 1,15 (д, J= 6,8 Гц, 3H), 1,09 (д, J= 7,2 Гц, 3H).

Для (R)-трет-бутил 2-изопропил-3-оксопиперазин-1-карбоксилата

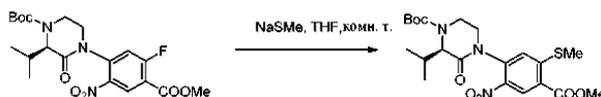
ВЭЖХ-МС m/z 186,9 [M-56+H]⁺. ¹H ЯМР (DMSO-d₆ 400 МГц): δ 7,93 (с, 1H), 4,02-3,82 (м, 2H), 3,17-3,15 (м, 3H), 2,16 (с, 1H), 1,41 (с, 9H), 0,98 (д, J= 6,8 Гц, 3H), 0,89 (д, J= 6,4 Гц, 3H).

Этап 5



В N₂ атмосфере NaH (8,8 г, 0,22 моль, 60% в минеральном масле, 1,1 экв.) добавляли по частям при -10°C в трехгорлую колбу объемом 1 л, содержащую (R)-трет-бутил 2-изопропил-3-оксопиперазин-1-карбоксилат (26,66 г, 0,11 моль) в DMF (300 мл). Смесь взбалтывали при -10°C в течение 30 мин. Затем смесь добавляли по каплям в трехгорлую колбу объемом 1 л, содержащую метил-2,4-дифтор-5-нитробензоат (26,3 г, 0,121 моль, 1,1 экв.) в DMF (200 мл), при -20°C в течение 10 мин. После добавления полученную смесь взбалтывали при температуре между -20 °C и -30°C в течение еще 10 мин. Реакцию останавливали насыщенным водным раствором NH₄Cl (200 мл) и затем водой (800 мл). Водный слой экстрагировали EtOAc (3×1 л). Объединенные органические слои промывали водой (3×1 л) и соевым раствором и сушили с помощью безводного Na₂SO₄. Смесь фильтровали, при этом фильтрат выпаривали при вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с элюированием петролевым эфиром:EtOAc 8:1~4:1 для получения (R)-трет-бутил 4-(5-фтор-4-(метоксикарбонил)-2-нитрофенил)-2-изопропил-3-оксопиперазин-1-карбоксилата (32 г, 66,3% выход) в виде твердого желтого вещества. ВЭЖХ-МС (электроспрей) m/z 384,1 [M - 56 + H]⁺, 462,1 [M + Na]⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃ 300 МГц): δ 8,63 (д, J= 6,9 Гц, 1H), 7,16 (д, J= 10,2 Гц, 1H), 4,61-4,30 (м, 2H), 3,97-3,89 (м, 4H), 3,62-3,48 (м, 2H), 2,40-2,34 (м, 1H), 1,49 (с, 9H), 1,08 (д, J= 6,9 Гц, 3H), 1,01 (д, J= 6,9 Гц, 3H).

Этап 6



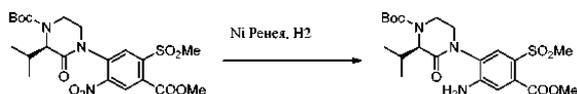
В круглодонную колбу объемом 1 л, содержащую (R)-трет-бутил 4-(5-фтор-4-(метоксикарбонил)-2-нитрофенил)-2-изопропил-3-оксопиперазин-1-карбоксилат, добавляли (14,3 г, 0,204 ммоль, 3 экв.). Смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение 1 ч. Добавляли воду (500 мл) и концентрировали смесь при вакууме для удаления THF. Водный слой экстрагировали EtOAc (3×800 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили с помощью безводного Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при вакууме для получения (R)-трет-бутил 2-изопропил-4-(4-(метоксикарбонил)-5-(метилтио)-2-нитрофенил)-3-оксопиперазин-1-карбоксилата (31,9 г, 100% выход) в виде желтого твердого вещества. Остаток непосредственно применяли на следующем этапе без дальнейшей очистки. ВЭЖХ-МС (электроспрей) m/z 412,1 [M - 56 + H]⁺, 490,2 [M + Na]⁺.

Этап 7



В круглодонную колбу объемом 2 л, содержащую (R)-трет-бутил 2-изопропил-4-(4-(метоксикарбонил)-5-(метилтио)-2-нитрофенил)-3-оксопиперазин-1-карбоксилат (около 91,7 г, 0,196 моль) в CH₂Cl₂ (1 л), добавляли м-CPBA (84,6 г, 0,49 ммоль, 2,5 экв.). Смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение ночи. Насыщенный раствор Na₂S₂O₃ медленно добавляли для остановки реакции. Смесь экстрагировали CH₂Cl₂ (4×3 л). Объединенные органические слои далее промывали раствором Na₂S₂O₃ (500 мл), раствором NaHCO₃ (500 мл) и соевым раствором, сушили с помощью безводного Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с элюированием дихлорметаном для получения (R)-трет-бутил 2-изопропил-4-(4-(метоксикарбонил)-5-(метилсульфонил)-2-нитрофенил)-3-оксопиперазин-1-карбоксилат (83,7 г, 85,4% выход) в виде твердого желтого вещества. ВЭЖХ-МС (электроспрей) m/z 444,0 [M - 56 + H]⁺, 522,1 [M + Na]⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃ 300 МГц): δ 8,29 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 4,61-4,17 (м, 2H), 4,00-3,94 (м, 4H), 3,70-3,60 (м, 1H), 3,51-3,43 (м, 4H), 2,39-2,32 (м, 1H), 1,50 (с, 9H), 1,07 (д, J= 6,9 Гц, 3H), 1,01 (д, J= 6,9 Гц, 3H).

Этап 8

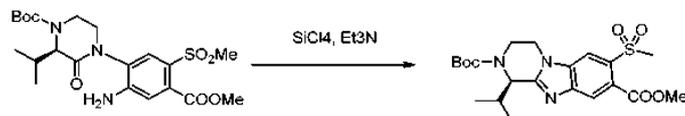


В круглодонную колбу объемом 1 л, содержащую (R)-трет-бутил 2-изопропил-4-(4-(метоксикарбонил)-5-(метилсульфонил)-2-нитрофенил)-3-оксопиперазин-1-карбоксилат (26,3 г, 0,0526 моль) в THF (200 мл) и метанол (200 мл), добавляли никель Ренея (в H₂O, 4 г). Смесь взбалтывали в H₂ среде (30 пси)

при комнатной температуре в течение ночи. Смесь фильтровали и концентрировали при вакууме для получения (R)-трет-бутил 4-(2-амино-4-(метоксикарбонил)-5-(метилсульфонил)фенил)-2-изопропил-3-оксопиперазин-1-карбоксилата (24,7 г, 100% выход) в виде твердого желтого вещества. Остаток непосредственно применяли на следующем этапе без дальнейшей очистки.

ВЭЖХ-МС (электроспрей) m/z 414,0 $[M - 56 + H]^+$, 492,0 $[M + Na]^+$. 1H ЯМР ($CDCl_3$ 300 МГц): δ 7,77 (шс, 1H), 7,04 (с, 1H), 4,68-4,45 (м, 1H), 4,45-4,38 (м, 2H), 3,92 (с, 3H), 3,70-3,58 (м, 1H), 3,58-3,41 (м, 1H), 3,30 (с, 3H), 2,49-2,25 (м, 1H), 1,50 (с, 9H), 1,12 (д, $J = 6,9$ Гц, 3H), 1,05 (д, $J = 6,9$ Гц, 3H).

Этап 9



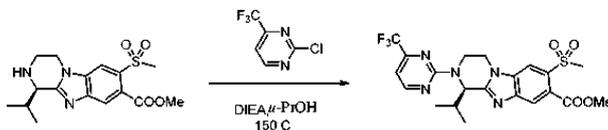
В круглодонную колбу объемом 1 л, содержащую (R)-трет-бутил 4-(2-амино-4-(метоксикарбонил)-5-(метилсульфонил)фенил)-2-изопропил-3-оксопиперазин-1-карбоксилат (25 г, 0,0532 моль) в дихлорметане (500 мл), добавляли Et_3N (64,5 г, 0,638 моль, 12 экв.) и $SiCl_4$ (27,1 г, 0,160 моль, 3 экв.). Смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение ночи. Смесь медленно добавляли по каплям в водный раствор $NaHCO_3$ (54,1 г в 1 л воды, 0,644 моль, 12,1 экв.) при $0^\circ C$ и доводили до pH 8. Смесь фильтровали, при этом водный слой экстрагировали дихлорметаном (3×600 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором и затем сушили с помощью Na_2SO_4 . Смесь фильтровали и концентрировали при вакууме для получения остатка. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с элюированием петролейным эфиром:EtOAc 2:1 для получения (R)-2-трет-бутил 8-метил 1-изопропил-7-(метилсульфонил)-3,4-дигидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пиперазин-2,8(1H)-дикарбоксилата (13,2 г, 55% выход) в виде твердого бледно-желтого вещества. Аналитическая хиральная ВЭЖХ: $t_R = 9,03$ мин при 15-минутной хроматографии (Способ: OD-3_3_5_40_2,5 мл). ВЭЖХ-МС (электроспрей) m/z 452,2 $[M + H]^+$. 1H ЯМР (CD_3OD 400 МГц): δ 8,31 (с, 1H), 8,01 (с, 1H), 5,30-5,18 (м, 1H), 4,70-4,52 (м, 1H), 4,47 (дд, $J = 3,2$ и $12,4$ Гц, 1H), 4,18 (дт, $J = 5,2$ и $11,6$ Гц, 1H), 3,98 (с, 3H), 3,70-3,52 (м, 1H), 3,44 (с, 3H), 2,50-2,38 (м, 1H), 1,53 (с, 9H), 1,25 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H), 1,06 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H).

Этап 10



TFA (4 мл) добавляли по каплям в раствор, содержащий (R)-2-трет-бутил 8-метил 1-изопропил-7-(метилсульфонил)-3,4-дигидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пиперазин-2,8(1H)-дикарбоксилат (2,0 г, 4,4 ммоль) в DCM (20 мл) при комнатной температуре в течение 2 мин. Смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение 3 ч. TLC показала, что исходный материал был полностью поглощен. Растворитель удаляли при вакууме при $30^\circ C$ и затем добавляли DCM (10 мл). Смесь подвергали нейтрализации насыщенным водным раствором $NaHCO_3$ до pH 7. Смесь экстрагировали DCM (3×20 мл), при этом объединенные органические слои сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при вакууме для получения (R)-метил 1-изопропил-7-(метилсульфонил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пиперазин-8-карбоксилата (1,5 г, 96,4% выход) в виде твердого белого вещества. ВЭЖХ-МС m/z 351,9 $[M+H]^+$, 374,0 $[M+Na]^+$. 1H ЯМР ($CDCl_3$ 300 МГц): δ 8,15 (с, 1H), 8,07 (с, 1H), 4,26-4,05 (м, 3H), 3,97 (с, 3H), 3,63-3,50 (м, 1H), 3,44 (с, 3H), 3,32-3,16 (м, 1H), 2,85-2,66 (м, 1H), 1,16 (д, $J = 6,9$ Гц, 3H), 0,88 (д, $J = 6,6$ Гц, 3H).

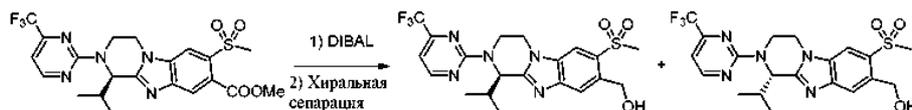
Этап 11



Смесь (R)-метил 1-изопропил-7-(метилсульфонил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пиперазин-8-карбоксилата (0,9 г, 2,56 ммоль), 2-хлор-4-(трифторметил)пиримидина (1,0 г, 5,1 ммоль, 2 экв.) и DIEA (1,0 г, 7,7 ммоль, 3 экв.) в *i*-PrOH (6 мл) взбалтывали в микроволновой печи при $150^\circ C$ в течение 2 ч. TLC показала, что начальный материал был полностью поглощен (PE:EtOAc = 3:1).

Растворитель удаляли при вакууме при $40^\circ C$, при этом остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с элюированием PE/EtOAc = 6/1 с получением (R)-метил 1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пиперазин-8-карбоксилата (1,0 г, 78% выход) в виде белого вещества. ВЭЖХ-МС m/z 498,1 $[M+H]^+$. 1H ЯМР ($CDCl_3$ 300 МГц): δ 8,52 (д, $J = 4,8$ Гц, 1H), 8,13 (с, 1H), 8,06 (с, 1H), 6,83 (д, $J = 4,8$ Гц, 1H), 6,06 (д, $J = 7,8$ Гц, 1H), 5,39-5,28 (м, 1H), 4,33-4,24 (м, 1H), 4,20-4,12 (м, 1H), 3,93 (с, 3H), 3,77-3,65 (м, 1H), 3,39 (с, 3H), 2,52-2,38 (м, 1H), 1,25 (д, $J = 6,9$ Гц, 3H), 1,02 (д, $J = 6,6$ Гц, 3H).

Этап 12



В раствор (R)-метил 1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозин-8-карбоксилата (1,3 г, 2,6 ммоль) в DCM (15 мл) добавляли DIBAL-H (1M в толуоле, 10,4 мл, 10,4 ммоль, 4 экв.) при -78°C . Смесь взбалтывали при -78°C в течение 2 ч. Добавляли насыщенный водный раствор NH_4Cl (25 мл) и фильтровали смесь. Водный слой экстрагировали DCM (3×20 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с элюированием DCM / MeOH = 30/1 для получения частично рацемизированной смеси (1,1 г, 91,6% выход) в виде твердого белого вещества. Рацемизированную смесь очищали СФХ сепарацией на хиральной колонке для получения (R)-(1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозин-8-ил)метанола (Изомер 1) (0,65 г, 54,1% выход) в виде твердого белого вещества и (S)-(1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозин-8-ил)метанола (Изомер 2) (0,15 г, 12,5% выход) в виде твердого белого вещества.

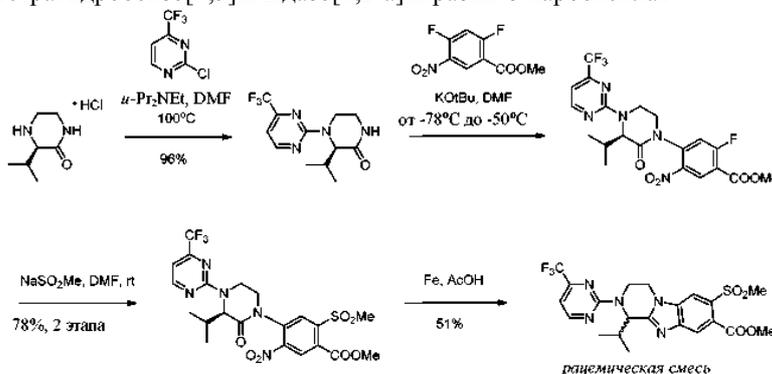
Изомер 1: (R)-(1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозин-8-ил)метанол: Аналитическая хиральная ВЭЖХ: $t_R = 8,768$ мин при 15-минутной хроматографии (Способ: AD-H_5_5_40_2,35 мл). ВЭЖХ-МС m/z 470,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (CDCl_3 400 МГц): δ 8,58 (д, $J = 4,8$ Гц, 1H), 8,13 (с, 1H), 7,89 (с, 1H), 6,89 (д, $J = 4,8$ Гц, 1H), 6,12 (д, $J = 8,0$ Гц, 1H), 5,40-5,36 (м, 1H), 5,06-5,03 (м, 2H), 4,35-4,31 (м, 1H), 4,21-4,16 (м, 1H), 3,82-3,76 (м, 1H), 3,23 (с, 3H), 3,09 (т, $J = 6,8$ Гц, 1H), 2,52-2,50 (м, 1H), 1,32 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H), 1,08 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H). ^1H ЯМР (CD_3OD 400 МГц): δ 8,69 (д, $J = 4,8$ Гц, 1H), 8,22 (с, 1H), 7,94 (с, 1H), 7,02 (д, $J = 4,8$ Гц, 1H), 6,05 (д, $J = 8,0$ Гц, 1H), 5,34 (д, $J = 10,0$ Гц, 1H), 5,10 (с, 2H), 4,50 (дд, $J_1 = 12,0$ Гц, $J_2 = 3,6$ Гц, 1H), 4,22 (тд, $J_1 = 12,0$ Гц, $J_2 = 5,2$ Гц, 1H), 3,88 (дддд, $J_1 = 14,4$ Гц, $J_2 = 10,0$ Гц, $J_3 = 4,4$ Гц, 1H), 3,26 (с, 3H), 2,60-2,52 (м, 1H), 1,28 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H), 1,06 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H).

Изомер 1 был рекристаллизован в виде кристаллического твердого вещества путем следующей процедуры:

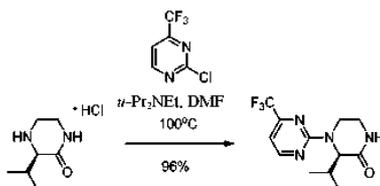
(R)-(1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозин-8-ил)метанол (470 мг) растворяли в EtOAc (3,0 мл) с последующим медленным добавлением гексанов (около 5 мл) до помутнения раствора. Добавляли несколько капель EtOAc для устранения помутнения. Раствор оставляли при комнатной температуре до образования кристаллов. Кристаллическое твердое вещество собирали с помощью фильтрации. Тпл. $188-189^{\circ}\text{C}$.

Изомер 2: (S)-(1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозин-8-ил)метанол: Аналитическая хиральная ВЭЖХ: $t_R = 7,780$ мин при 15-минутной хроматографии (Способ: AD-H_5_5_40_2,35 мл). ВЭЖХ-МС m/z 470,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (CDCl_3 400 МГц): δ 8,58 (д, $J = 5,2$ Гц, 1H), 8,12 (с, 1H), 7,88 (с, 1H), 6,89 (д, $J = 4,8$ Гц, 1H), 6,11 (д, $J = 8,0$ Гц, 1H), 5,40-5,35 (м, 1H), 5,04-5,00 (м, 2H), 4,34-4,31 (м, 1H), 4,21-4,16 (м, 1H), 3,82-3,75 (м, 1H), 3,22 (с, 3H), 2,52-2,50 (м, 1H), 1,31 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H), 1,08 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H).

Альтернативно, рацемическую смесь метил 1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозин-8-карбоксилата получали с помощью следующего способа (рац)-метил 1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозин-8-карбоксилат

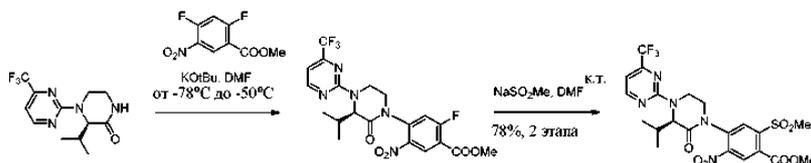


Этап 1



В раствор (R)-3-изопропилпиперазин-2-он-хлорида (2,61 г, 14,62 ммоль) и *n*-Pr₂NEt (7,60 мл, 43,86 ммоль) в DMF (20 мл) добавляли раствор 2-хлор-4-(трифторметил)пиримидина (3,47 г, 19,00 ммоль) в DMF (2 мл). Полученный раствор взбалтывали при 100°C в N₂ среде в течение 3 ч, после чего реакцию считали завершённой по результатам ВЭЖХ-МС. Насыщенный водный раствор NH₄Cl (30 мл) добавляли для завершения реакции с последующим добавлением EtOAc (30 мл). EtOAc слой отделяли, при этом водный слой экстрагировали EtOAc (3×20 мл). EtOAc слои объединяли, сушили с помощью Na₂SO₄ и выпаривали для получения практически чистого необработанного продукта. Очистка на кварцевом картридже с применением ISCO FCC элюирования 100% EtOAc позволила получить 4,03 г (R)-3-изопропил-4-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)пиперазин-2-она (96%) в виде вязкого масла бледно-оранжевого цвета. ВЭЖХ-МС *m/z* 289,17 [M + H]⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 8,52 (д, J = 4,8 Гц, 1H), 6,82 (д, J = 4,4 Гц, 1H), 6,56 (шс, 1H), 5,20 (д, J = 6,8 Гц, 1H), 4,83-4,77 (м, 1H), 3,55-3,37 (м, 3H), 2,49-2,41 (м, 1H), 1,15 (д, J = 6,8 Гц, 3H), 1,04 (д, J = 6,8 Гц, 3H).

Этапы 2 и 3

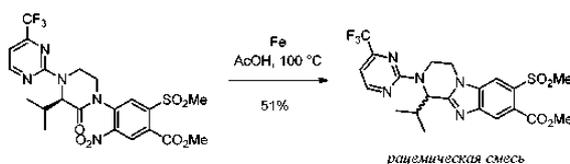


В раствор (R)-3-изопропил-4-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)пиперазин-2-она (986 мг, 3,42 ммоль) в DMF (5 мл) добавляли 2 М раствор KOtBu в THF (2,14 мл, 4,28 ммоль) по каплям при 0°C. Реакцию взбалтывали в течение 1 ч при 0°C и затем охлаждали до -78°C. В отдельной колбе раствор метил 2,4-дифтор-5-нитробензоата (928 мг, 4,28 ммоль) в DMF (15 мл) охлаждали до -78°C. В этот раствор добавляли раствор вышеуказанного аниона через канюлю при -78°C в течение 5 мин. Реакции позволяли нагреться до -50°C и взбалтывали при данной температуре в течение 2 ч. Для остановки реакции добавляли насыщенный водный раствор NH₄Cl (20 мл) и далее EtOAc (30 мл). EtOAc слой отделяли, при этом водный слой экстрагировали EtOAc (3×15 мл). EtOAc слои объединяли, сушили и выпаривали для получения необработанного (R)-метил-2-фтор-4-(3-изопропил-2-оксо-4-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)-5-нитробензоата, который непосредственно применяли на следующем этапе без дальнейшей очистки. ВЭЖХ-МС *m/z* 486,20 [M+H]⁺.

В раствор вышеуказанного необработанного (R)-метил-2-фтор-4-(3-изопропил-2-оксо-4-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)-5-нитробензоата в DMF (15 мл) добавляли NaSO₂Me (1,05 г, 10,30 ммоль) в виде одной части при комнатной температуре. После взбалтывания в течение 3 ч реакцию считали завершённой на основе ВЭЖХ-МС анализа. Добавляли воду (100 мл), при этом смесь интенсивно взбалтывали в течение 20 мин до фальтикации твердого материала. В данный твердый материал добавляли 20% EtOAc в гексанах, при этом смесь интенсивно взбалтывали в течение 10 мин.

Фильтрат EtOAc/гексаны собирали и выпаривали с получением 1,45 г (R)-метил 4-(3-изопропил-2-оксо-4-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)-2-(метилсульфонил)-5-нитробензоата в виде не совсем белого твердого вещества (78%, 2 этапа). ВЭЖХ-МС *m/z* 546,27 [M + H]⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 8,59 (д, J = 4,4 Гц, 1H), 8,32 (с, 1H), 8,14 (с, 1H), 6,92 (д, J = 5,2 Гц, 1H), 5,32 (д, J = 6,8 Гц, 1H), 5,04-5,00 (м, 1H), 4,12-4,02 (м, 1H), 4,03 (с, 3H), 3,88-3,80 (м, 2H), 3,44 (с, 3H), 2,55-2,50 (м, 1H), 1,15 (д, J = 6,8 Гц, 3H), 1,06 (д, J = 6,8 Гц, 3H).

Этап 4

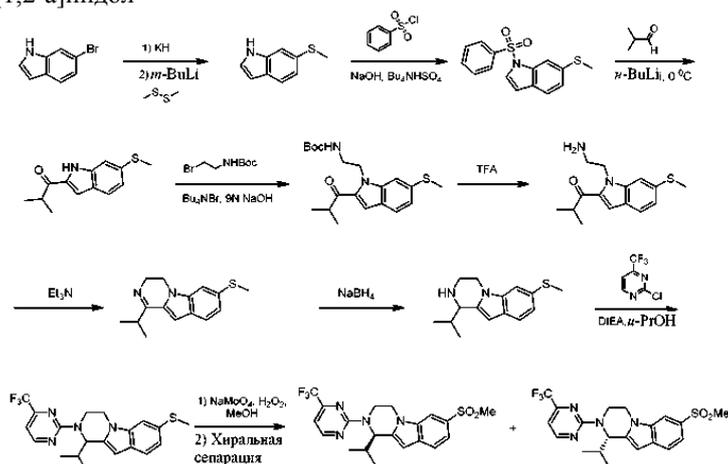


В раствор (R)-метил-4-(3-изопропил-2-оксо-4-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)пиперазин-1-ил)-2-(метилсульфонил)-5-нитробензоата (1,45 г, 2,66 ммоль) в ледяной уксусной кислоте (17 мл) добавляли порошок железа (445 мг, 7,97 ммоль). Смесь нагревали до 100°C. Спустя 5 мин суспендированное железо растворялось в растворе. Смесь взбалтывали при 100°C в течение 48 ч, после чего колбу охлаждали до комнатной температуры, а ее содержимое выливали на лед. Смесь экстрагировали EtOAc (2×75 мл), затем объединенные органические слои промывали водой (2×50 мл) и соевым раствором (50 мл). Раствор

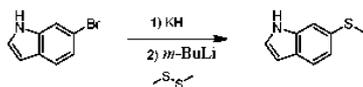
сушили с помощью $MgSO_4$, фильтровали через вату и концентрировали при вакууме. Остаток очищали на кварцевом картридже (0% EtOAc в гексанах, затем 50%) с выходом 680 мг метил-1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидробензо[4,5]имидазо[1,2-а]пирозин-8-карбоксилата в виде рацемической смеси (51%). ВЭЖХ-МС m/z 498,32 $[M+H]^+$. 1H ЯМР ($CDCl_3$, 400 МГц): δ 8,58 (д, $J=4,8$ Гц, 1H), 8,20 (с, 1H), 8,12 (с, 1H), 6,90 (д, $J=4,8$ Гц, 1H), 6,13 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 5,39 (дд, $J=4,8$ Гц, 14,4 Гц, 1H), 4,35 (ддд, $J=1,2$ Гц, 4,4 Гц, 12,0 Гц, 1H), 4,21 (дт, $J=4,8$ Гц, 12,0 Гц, 1H), 4,00 (с, 3H), 3,78 (ддд, $J=4,4$ Гц, 11,6 Гц, 14,4 Гц, 1H), 3,45 (с, 3H), 2,48 (септ., $J=7,2$ Гц, 1H), 1,32 (д, $J=6,4$ Гц, 3H), 1,08 (д, $J=6,8$ Гц, 3H).

Пример 3

(R)-1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидропирозино[1,2-а]индол и (S)-1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидропирозино[1,2-а]индол

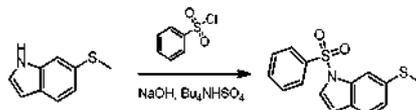


Этап 1



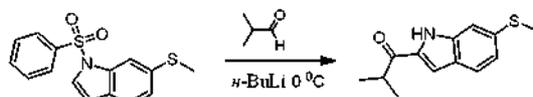
В раствор 6-бром-1H-индола (5 г, 25,50 ммоль) в безводной THF (60 мл) при 0 °С добавляли KN (6,80 г, 51,00 ммоль, 30 мас.% в минеральном масле). После взбалтывания в течение 30 мин смесь охлаждали до -78°С и добавляли *n*-BuLi (39,23 мл, 51,0 ммоль, 1,3 М) в азотной среде. Спустя 30 мин в смесь добавляли 1,2-диметилдисульфид (4,80 г, 51,0 ммоль). Реакционную смесь взбалтывали при -78°С в течение 1 ч и медленно останавливали реакцию насыщенным водным раствором NH_4Cl (30 мл) при -78°С (Осторожно: пламя), устанавливали pH 7 с помощью 1 N водного раствора фосфорной кислоты и экстрагировали EtOAc (50 мл × 3). Объединенные органические слои сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали, концентрировали и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с элюированием (петролейный эфир/EtOAc 10:1) для получения 6-(метилтио)-1H-индола (3,9 г, 93,67% выход) в виде твердого серого вещества. ВЭЖХ-МС (электроспрей) m/z 164,1 $[M+H]^+$. 1H ЯМР ($CDCl_3$, 400 МГц): δ 8,14 (шс, 1H), 7,56 (д, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,37 (с, 1H), 7,18-7,11 (м, 1H), 6,56-6,51 (м, 1H), 2,52 (с, 3H).

Этап 2



В раствор 6-(метилтио)-1H-индола (1 г, 6,13 ммоль), NaOH (4,90 г, 122,6 ммоль) и Bu_4NHSO_4 (207,8 мг, 0,613 ммоль) в дихлорметане (20 мл) добавляли бензенсульфонилхлорид (1,29 г, 7,36 ммоль). Реакционную смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение ночи. Реакцию останавливали водой (30 мл) и экстрагировали смесь CH_2Cl_2 (30 мл × 3). Объединенные органические слои сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали, концентрировали и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с элюированием (петролейный эфир/EtOAc 10:1) для получения 6-(метилтио)-1-(фенилсульфонил)-1H-индола (1,1 г, 59,18% выход) в виде твердого белого вещества. ВЭЖХ-МС (электроспрей) m/z 304,0 $[M+H]^+$. 1H ЯМР ($CDCl_3$, 400 МГц): δ 7,93-7,75 (м, 3H), 7,58-7,41 (м, 5H), 7,17 (дд, $J_1=8,0$ Гц, $J_2=1,6$ Гц, 1H), 6,63-6,60 (м, 1H), 2,53 (с, 3H).

Этап 3

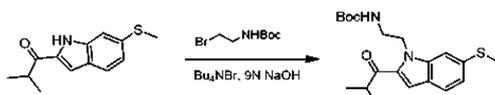


В раствор 6-(метилтио)-1-(фенилсульфонил)-1H-индола (890 мг, 2,93 ммоль) в безводной THF (10

мл) при 0°C в азотной среде добавляли *n*-BuLi (5,86 мл, 14,65 ммоль, 2,5 М). После взбалтывания в течение 30 мин добавляли изобутиральдегид (1,05 г, 14,65 ммоль). Реакционную смесь взбалтывали при 0°C в течение 1 ч и останавливали реакцию насыщенным водным раствором NH₄Cl (10 мл) при 0°C и экстрагировали EtOAc (20 мл × 3). Объединенные органические слои сушили с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали, концентрировали и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с элюированием (петролейный эфир/EtOAc 20:1) для получения 2-метил-1-(6-(метилтио)-1H-индол-2-ил)пропан-1-она (440 мг, 64,28% выход) в виде бесцветного масла.

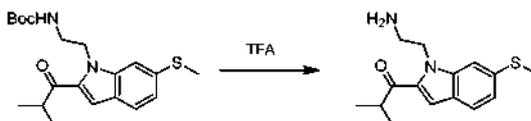
ВЭЖХ-МС (электроспрей) *m/z* 234,1 [M + H]⁺. ¹H NMR (CD₃OD 400 МГц): δ 8,86 (шс, 1H), 7,52 (д, J = 8,4 Гц, 1H), 7,19 (с, 1H), 7,14-7,11 (м, 1H), 7,01 (дд, J₁ = 8,4 Гц, J₂ = 1,6, 1H), 3,42-3,38 (м, 1H), 2,47 (с, 3H), 1,20 (д, J = 6,8 Гц, 6H).

Этап 4



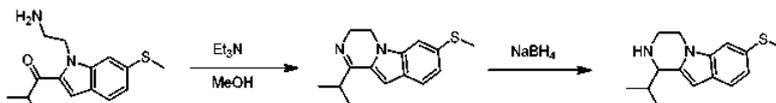
В раствор 2-метил-1-(6-(метилтио)-1H-индол-2-ил)пропан-1-она (600 мг, 2,57 ммоль) и Bu₄NBr (4,12 г, 12,85 ммоль) в 9 N NaOH (10 мл, охлажденный) добавляли трет-бутил(2-бромэтил)карбамат (2,87 г, 12,85 ммоль). Реакционную смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение 72 ч. Смесь разбавляли водой (20 мл) при 0°C и экстрагировали EtOAc (20 мл × 3). Объединенные органические слои сушили с помощью безводного Na₂SO₄, фильтровали, концентрировали и очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с элюированием (петролейный эфир/EtOAc 10:1) для получения трет-бутил(2-(2-изобутирил-6-(метилтио)-1H-индол-1-ил)этил)карбамата (200 мг, 20,66% выход) в виде бесцветного масла. ВЭЖХ-МС (электроспрей) *m/z* 321,1 [M - 56 + H]⁺, 277,1 [M - 100 + H]⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 7,57 (д, J = 8,4 Гц, 1H), 7,38 (с, 1H), 7,29 (с, 1H), 7,10 (д, J = 8,4 Гц, 1H), 4,80 (шс, 1H), 4,62 (т, J = 6,4 Гц, 2H), 3,58-3,42 (м, 3H), 2,58 (с, 3H), 1,38 (с, 9H), 1,24 (д, J = 6,8 Гц, 6H).

Этап 5



В раствор трет-бутил(2-(2-изобутирил-6-(метилтио)-1H-индол-1-ил)этил)карбамата в CH₂Cl₂ (9 мл) при 0°C добавляли TFA (1 мл). Реакционную смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение 1 ч. Смесь концентрировали (T < 25°C), обрабатывали водой (5 мл), доводили до pH 11 с помощью насыщенного раствора NaHCO₃ и экстрагировали EtOAc (20 мл × 3). Объединенные органические слои сушили с помощью безводного Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали для получения 1-(1-(2-аминоэтил)-6-(метилтио)-1H-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-она (210 мг, 100% выход) в виде бесцветного масла. ВЭЖХ-МС (электроспрей) *m/z* 258,8 [M-18+H]⁺.

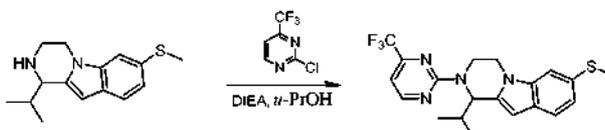
Этап 6



В раствор 1-(1-(2-аминоэтил)-6-(метилтио)-1H-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-она (200 мг, 0,724 ммоль) в MeOH (5 мл) добавляли Et₃N (219,3 мг, 2,172 ммоль). Реакционную смесь взбалтывали при 60°C в течение 1 ч. Добавляли NaBH₄ (82,53 мг, 2,172 ммоль). Смесь взбалтывали при 60°C в течение 1 ч. Смесь концентрировали, обрабатывали водой (10 мл) и экстрагировали EtOAc (20 мл × 3). Объединенные органические слои сушили с помощью безводного Na₂SO₄, фильтровали, концентрировали и очищали с помощью подготовительной TLC на силикагеле с элюированием (петролейный эфир/EtOAc 1:1) для получения 1-изопропил-7-(метилтио)-1,2,3,4-тетрагидропиразино[1,2-а]индола (80 мг, 42,46% выход, хранение при 0°C) в виде бесцветного масла.

ВЭЖХ-МС 1-изопропил-7-метилсульфанил-3,4-дигидропиразино[1,2-а]индола (электроспрей) *m/z* 259,1 [M + H]⁺. ВЭЖХ-МС 1-изопропил-7-(метилтио)-1,2,3,4-тетрагидропиразино[1,2-а]индола (электроспрей) *m/z* 261,2 [M + H]⁺. ¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц): δ 7,41 (д, J = 8,4 Гц, 1H), 7,20 (с, 1H), 7,05 (дд, J₁ = 8,4 Гц, J₂ = 1,6 Гц, 1H), 6,12 (с, 1H), 4,02-3,97 (м, 2H), 3,86-3,80 (м, 1H), 3,46-3,42 (м, 1H), 3,16-3,10 (м, 1H), 2,48 (с, 3H), 2,32-2,27 (м, 1H), 1,09 (д, J = 6,8 Гц, 3H), 0,86 (д, J = 6,8 Гц, 3H).

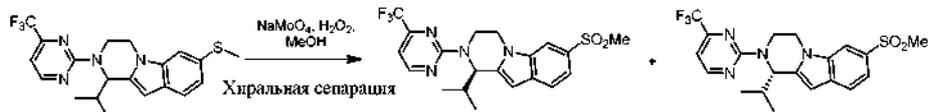
Этап 7



В раствор 1-изопропил-7-(метилтио)-1,2,3,4-тетрагидропиразино[1,2-а]индола (50 мг, 0,19 ммоль) в

и-PrOH (2 мл) добавляли 2-хлор-4-(трифторметил)пиримидин (105 мг, 0,58 ммоль) и DIEA (185 мг, 0,96 ммоль). Смесь взбалтывали при 100°C в течение 4 ч. Смесь концентрировали при вакууме, при этом остаток очищали с помощью подготовительной TLC для получения 1-изопропил-7-(метилтио)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидропиразино[1,2-а]индола (45 мг, 57,7% выход) в виде желтого масла. ВЭЖХ-МС (электроспрей) m/z 407,1 $[M + H]^+$.

Этап 8



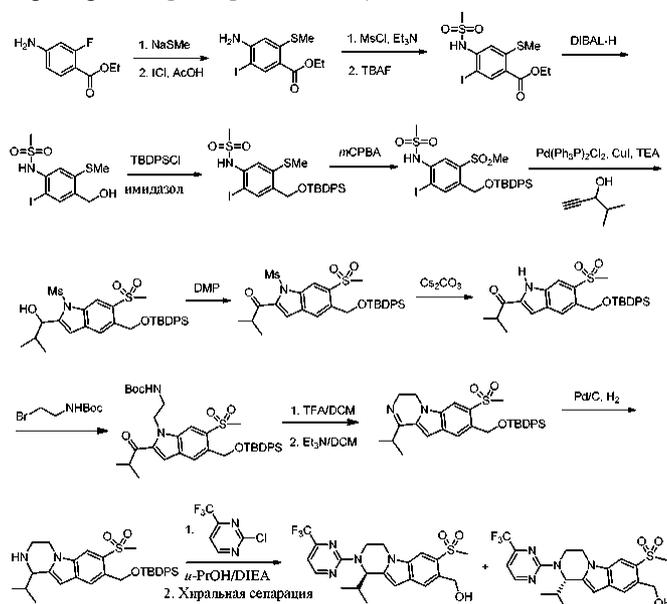
В раствор 1-изопропил-7-(метилтио)-1,2,3,4-тетрагидропиразино[1,2-а]индола (45 мг, 0,11 ммоль) в MeOH (1 мл) добавляли $NaMoO_4 \cdot 2H_2O$ (61 мг, 0,33 ммоль) и 30% H_2O_2 (67 мг, 0,55 ммоль) при 0°C. Смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение 2 ч. Добавляли насыщенный раствор $Na_2S_2O_3$ (5 мл) и концентрировали смесь при вакууме. Водный слой экстрагировали EtOAc (3×10 мл). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при вакууме. Остаток очищали с помощью подготовительной TLC и СФХ сепарации на хиральной колонке для получения изомера 1 (20,10 мг, 46,6% выход) в виде твердого белого вещества и изомера 2 (20,30 мг, 47,1% выход) в виде твердого белого вещества.

Изомер 1: Аналитическая хиральная ВЭЖХ: $t_R = 6,64$ мин при 15-минутной хроматографии (Способ: AD-H_5_5_40_2,35 мл). ВЭЖХ-МС (электроспрей) m/z 439,0 $[M + H]^+$. 1H ЯМР (CD_3OD 300 МГц): δ 8,63 (д, $J = 4,8$ Гц, 1H), 7,98 (с, 1H), 7,69 (д, $J = 8,4$ Гц, 1H), 7,57 (дд, $J = 1,5$ и 8,4 Гц, 1H), 6,94 (д, $J = 4,8$ Гц, 1H), 6,50 (с, 1H), 5,88 (д, $J = 8,4$ Гц, 1H), 5,11-5,07 (м, 1H), 4,45-4,38 (м, 1H), 4,05 (дт, $J = 4,8$ и 11,4 Гц, 1H), 3,91-3,83 (м, 1H), 3,11 (с, 3H), 2,35-2,27 (м, 1H), 1,14 (д, $J = 6,6$ Гц, 3H), 1,01 (д, $J = 6,6$ Гц, 3H).

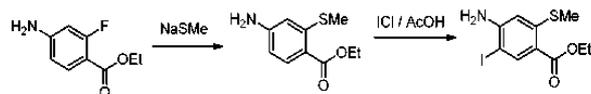
Изомер 2: Аналитическая хиральная ВЭЖХ: $t_R = 7,37$ мин при 15-минутной хроматографии (Способ: AD-H_5_5_40_2,35 мл). ВЭЖХ-МС (электроспрей) m/z 439,0 $[M + H]^+$. 1H ЯМР (CD_3OD 300 МГц): δ 8,63 (д, $J = 4,5$ Гц, 1H), 7,98 (с, 1H), 7,68 (д, $J = 8,4$ Гц, 1H), 7,57 (дд, $J = 1,5$ и 8,4 Гц, 1H), 6,94 (д, $J = 4,8$ Гц, 1H), 6,49 (с, 1H), 5,87 (д, $J = 8,1$ Гц, 1H), 5,10-5,06 (м, 1H), 4,44-4,37 (м, 1H), 4,03 (дт, $J = 4,8$ и 11,4 Гц, 1H), 3,90-3,80 (м, 1H), 3,11 (с, 3H), 2,34-2,26 (м, 1H), 1,14 (д, $J = 6,6$ Гц, 3H), 1,00 (д, $J = 6,6$ Гц, 3H).

Пример 4

(R)-(1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидропиразино[1,2-а]индол-8-ил)метанол и (S)-(1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидропиразино[1,2-а]индол-8-ил)метанол



Этап 1



В раствор этил-4-амино-2-фторбензоата (12 г, 65,5 ммоль) в DMF (100 мл) добавляли NaSMe (9,17 г, 131 ммоль), при этом смесь взбалтывали при 60°C в течение 20 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакцию разбавляли H_2O и экстрагировали EtOAc (3×100 мл). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при вакууме для получения этил-4-амино-2-(метилтио)бензоата.

В предварительно нагретый до 60°C раствор этил-4-амино-2-(метилтио)бензоата (65 ммоль) в уксусной кислоте (150 мл) добавляли раствор ICl/AcOH (1M, 72 мл, 72 ммоль) по каплям в течение 40 мин, при этом поддерживали температуру 60°C в течение 3 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакцию разбавляли EtOAc (500 мл), промывали 5% раствором $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (3×100 мл) и соевым раствором (200 мл), сушили с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали при вакууме.

Неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии с силикагелем (0-20% $\text{EtOAc}/\text{гексаны}$) для получения этил-4-амино-5-иодо-2-(метилтио)бензоата (13,67 г, 53% выход).

Для этил-4-амино-2-(метилтио)бензоата: ВЭЖХ-МС m/z 212 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Для этил-4-амино-5-иодо-2-(метилтио)бензоата: ВЭЖХ-МС m/z 338 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 8,29 (с, 1H), 6,47 (с, 1H), 4,49 (шс, 2H), 4,31 (к, $J=7,2$ Гц, 2H), 2,38 (с, 3H), 1,37 (т, $J=7,2$ Гц, 3H).

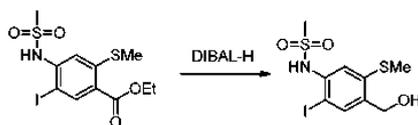
Этап 2



В раствор этил-4-амино-5-иодо-2-(метилтио)бензоата (13,6 г, 40 ммоль) в DCM (100 мл) добавляли Et_3N (13,8 мл, 100 ммоль) и далее MsCl (7,7 мл, 100 ммоль) при 0°C. После добавления смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение 2 ч. Добавляли раствор 1N HCl (50 мл) в смесь, при этом водную фазу экстрагировали DCM (1×100 мл). Органический раствор промывали соевым раствором, сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при вакууме для получения этил-5-иодо-4-(N-(метилсульфонил)метилсульфонамидо)-2-(метилтио)бензоата.

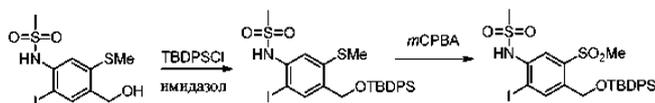
Указанную выше неочищенную реакционную смесь растворяли в 100 мл THF . В этот раствор добавляли раствор TBAF в THF (1M, 100 мл), при этом смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение 2 ч. В смесь добавляли H_2O , при этом водную фазу экстрагировали EtOAc (3×100 мл). Объединенный органический раствор промывали соевым раствором, сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при вакууме для получения этил-5-иодо-4-(метилсульфонамидо)-2-(метилтио)бензоата. Его применяли на следующем этапе без дальнейшей очистки. Для этил-5-иодо-4-(N-(метилсульфонил)метилсульфонамидо)-2-(метилтио)бензоата: ВЭЖХ-МС m/z 494 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Для этил-5-иодо-4-(метилсульфонамидо)-2-(метилтио)бензоата: ВЭЖХ-МС m/z 415 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Этап 3



В раствор этил-5-иодо-4-(метилсульфонамидо)-2-(метилтио)бензоата (неочищенный, из этапа 2) в сухом толуоле (200 мл) при 0°C медленно добавляли диизобутилалюминийгидрид (1,0 M в толуоле, 100 мл, 100 ммоль). После добавления смесь взбалтывали при 0°C в течение 3 ч и останавливали реакцию метанолом/ H_2O (1/1). Реакционную смесь выливали в интенсивно взбалтываемый раствор тартрата калия-натрия (1M, 300 мл) и интенсивно взбалтывали в течение 2 ч, после чего она разделялась на две прозрачные фазы. Органический слой отделяли, при этом водный слой экстрагировали EtOAc (3×200 мл). Объединенный органический раствор промывали соевым раствором, сушили с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали при вакууме. Неочищенный продукт очищали с помощью хроматографии с силикагелем (0-40% $\text{EtOAc}/\text{гексаны}$) для получения N-(4-(гидроксиметил)-2-иодо-5-(метилтио)фенил)метансульфонамида (11,9 г, 80% выход за два этапа). ВЭЖХ-МС m/z 356 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 7,82 (с, 1H), 7,49 (с, 1H), 4,67 (с, 2H), 2,99 (с, 3H), 2,50 (с, 3H).

Этап 4



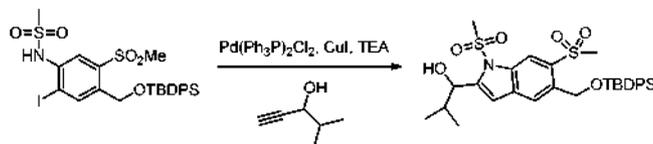
В размешанный раствор N-(4-(гидроксиметил)-2-иодо-5-(метилтио)фенил)метансульфонамида (6,4 г, 17,2 ммоль) и имидазола (1,76 г, 25,8 ммоль) в CH_2Cl_2 (100 мл) и DMF (50 мл) при 0°C добавляли трет-бутилдифенилсилилхлорид (5,8 мл, 22,4 ммоль). Смесь оставляли для смешивания при комнатной температуре. Смесь разбавляли CH_2Cl_2 (100 мл), промывали раствором 1N HCl , насыщенным водным раствором NaHCO_3 и соевым раствором, сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при вакууме для получения N-(4-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-2-иодо-5-(метилтио)фенил)метансульфонамида. Его применяли на следующем этапе без дальнейшей очистки.

Суспензию неочищенного N-(4-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-2-иодо-5-(метилтио)фенил)метансульфонамида и $m\text{CPBA}$ (8,9 г, 51,6 ммоль) в CH_2Cl_2 (100 мл) взбалтывали в течение 2 ч при комнатной температуре. Добавляли насыщенный водный раствор NaHCO_3 (50 мл) и $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (50 мл) и отделяли слои. Водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 (2×100 мл). Объединенные органические слои су-

шили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при сниженном давлении. Остаток очищали с помощью флеш-хроматографии на силикагеле с элюированием EtOAc /гексаны (3/7) для получения *N*-(4-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-2-иодо-5-(метилсульфонил)фенил)метансульфонамида (8,8 г, 80% выход за два этапа). Для *N*-(4-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-2-иодо-5-(метилтио)фенил)метансульфонамида:

ВЭЖХ-МС m/z 612 $[\text{M}+\text{H}]^+$. Для *N*-(4-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-2-иодо-5-(метилсульфонил)фенил)метансульфонамида: ВЭЖХ-МС m/z 644 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 8,25 (с, 1H), 8,08 (с, 1H), 7,67-7,65 (м, 4H), 7,46-7,37 (м, 6H), 6,77 (с, 1H), 5,05 (с, 2H), 3,11 (с, 3H), 2,83 (с, 3H), 1,12 (с, 9H).

Этап 5



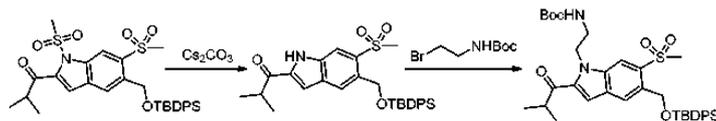
$\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (277 мг, 0,38 ммоль) и CuI (73 мг, 0,38 ммоль) добавляли в раствор *N*-(4-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-2-иодо-5-(метилсульфонил)фенил)метансульфонамида (2,45 г, 3,8 ммоль) в THF (20 мл) и Et_3N (10 мл). Смесь продували азотом в течение 10 мин и далее добавляли 4-метилпент-1-ин-3-ол (745 мг, 7,6 ммоль) и взбалтывали при 65°C в течение 8 ч. Реакционную смесь разбавляли EtOAc (50 мл) и промывали 1N HCl (50 мл). Органический слой отделяли, при этом водный слой экстрагировали EtOAc (3×50 мл). Объединенный органический раствор промывали соевым раствором, сушили с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали при сниженном давлении. Остаток очищали с помощью флеш-хроматографии на силикагеле с элюированием EtOAc /гексаны (3/7) с получением 1-(5-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-1,6-бис(метилсульфонил)-1H-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-ола (2,1 г, 90% выход). ВЭЖХ-МС m/z 614 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 8,68 (с, 1H), 7,90 (с, 1H), 7,71-7,67 (с, 4H), 7,46-7,35 (м, 6H), 6,77 (с, 1H), 5,21 (д, $J = 3,2$ Гц, 2H), 6,94 (т, $J = 6,8$ Гц, 1H), 3,22 (с, 3H), 2,90 (с, 3H), 2,61 (д, $J = 6,8$ Гц, 1H), 2,37-2,32 (м, 1H), 1,12 (с, 9H), 1,05 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H), 1,03 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H). ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3): δ 147,25, 135,54, 135,28, 135,00, 133,66, 133,00, 132,89, 129,96, 127,85, 121,68, 115,96, 108,69, 72,30, 62,98, 44,33, 41,59, 32,88, 26,89, 20,23, 19,30, 17,61.

Этап 6



В размешанный раствор 1-(5-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-1,6-бис(метилсульфонил)-1H-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-ола (2,3 г, 3,8 ммоль) в сухом CH_2Cl_2 (25 мл) добавляли периодинан Десс-Мартина (1,94 г, 4,56 ммоль) в виде одной части. Смесь оставляли для взбалтывания при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакцию прерывали раствором $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (5 г в 30 мл H_2O) и насыщенным водным раствором NaHCO_3 (40 мл). Смесь экстрагировали EtOAc (3×80 мл). Объединенный органический раствор промывали соевым раствором, сушили с помощью безводного Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при сниженном давлении. Остаток очищали с помощью флеш-хроматографии на силикагеле с элюированием EtOAc /гексаны (2/8) с получением 1-(5-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-1,6-бис(метилсульфонил)-1H-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-она (2,0 г, 86% выход). ВЭЖХ-МС m/z 612 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 8,69 (с, 1H), 8,03 (с, 1H), 7,70-7,68 (м, 4H), 7,46-7,36 (м, 6H), 7,22 (с, 1H), 5,20 (с, 2H), 3,80 (с, 3H), 3,36 (м, 1H), 2,89 (с, 3H), 1,29 (д, $J = 6,8$ Гц, 6H), 1,13 (с, 9H). ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3): δ 197,83, 141,53, 136,69, 136,05, 135,50, 135,04, 132,81, 131,14, 129,99, 127,88, 123,17, 117,12, 114,21, 62,87, 44,19, 44,03, 39,09, 26,88, 19,30, 18,41.

Этап 7



В размешанный раствор 1-(5-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-1,6-бис(метилсульфонил)-1H-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-она (780 мг, 1,27 ммоль) в THF /метаноле (15 мл/15 мл) добавляли Cs_2CO_3 (1,25 г, 3,83 ммоль) в виде одной части. Смесь оставляли для взбалтывания при комнатной температуре в течение 4 ч и концентрировали при вакууме для получения неочищенного продукта в виде 1-(5-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-6-(метилсульфонил)-1H-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-она. Его применяли в реакции на следующем этапе без дальнейшей очистки.

В раствор неочищенного 1-(5-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-6-(метилсульфонил)-1H-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-она, 2-(Вос-амино)этилбромид (2,8 г, 12 ммоль), тетрабутиламмонийиодида (235 мг, 0,63 ммоль) в CH_2Cl_2 /толуоле (2 мл / 4 мл) добавляли 40% водный раствор NaOH (20 мл). Смесь

оставляли для взбалтывания при комнатной температуре в течение 20 ч. Реакционную смесь разбавляли CH_2Cl_2 (40 мл) и промывали H_2O (50 мл). Органический слой отделяли, при этом водный слой экстрагировали CH_2Cl_2 (4×50 мл). Объединенный органический раствор промывали солевым раствором, сушили с помощью безводного сульфата натрия, фильтровали и концентрировали при сниженном давлении. Остаток очищали с помощью флеш-хроматографии на силикагеле с CH_2Cl_2 /метанолом (95/5) для получения трет-бутил(2-(5-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-2-изобутирил-6-(метилсульфонил)-1Н-индол-1-ил)этил)карбамата (300 мг, 35% выход за два этапа). Для 1-(5-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-6-(метилсульфонил)-1Н-индол-2-ил)-2-метилпропан-1-она: ВЭЖХ-МС m/z 556 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

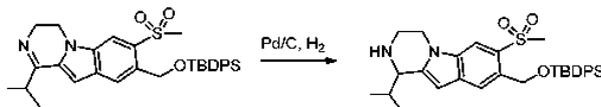
Для трет-бутил(2-(5-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-2-изобутирил-6-(метилсульфонил)-1Н-индол-1-ил)этил)карбамата: ВЭЖХ-МС m/z 699 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3): δ 8,20 (с, 1H), 7,93 (с, 1H), 7,72 (дд, $J_1 = 8,0$ Гц, $J_2 = 1,6$ Гц, 4H), 7,47-7,35 (м, 7H), 5,21 (с, 2H), 4,72 (д, $J = 6,8$ Гц, 2H), 3,55 (д, $J = 6,8$ Гц, 2H), 3,33 -3,26 (м, 1H), 3,00 (с, 3H), 1,46 (с, 9H), 1,30 (д, $J = 6,4$ Гц, 3H), 1,28 (д, $J = 6,4$ Гц, 3H), 1,11 (с, 9H).

Этап 8



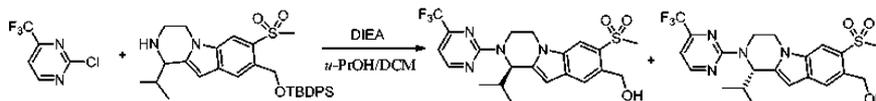
В раствор трет-бутил(2-(5-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-2-изобутирил-6-(метилсульфонил)-1Н-индол-1-ил)этил)карбамата (250 мг, 0,37 ммоль) в CH_2Cl_2 (5,0 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (1,0 мл) и оставляли смесь для взбалтывания при комнатной температуре в течение 1 ч. Излишнее количество TFA удаляли с помощью азеотропического выпаривания толуолом при сниженном давлении. Остаток повторно растворяли в CH_2Cl_2 (5 мл) и добавляли Et_3N (0,5 мл). Реакционную смесь взбалтывали при комнатной температуре в течение 45 мин и концентрировали при вакууме. Остаток очищали флеш-хроматографией на силикагеле с элюированием CH_2Cl_2 /метанол (98/2) для получения 8-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-1-изопропил-7-(метилсульфонил)-3,4-дигидропиразино[1,2-а]индола (135 мг, 65% выход). ВЭЖХ-МС m/z 559 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Этап 9



Раствор 8-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-1-изопропил-7-(метилсульфонил)-3,4-дигидропиразино[1,2-а]индола (140 мг, 0,25 ммоль), 10% палладий на угле (37 мг, 0,025 ммоль) и метанол (5 мл) взбалтывали при комнатной температуре при 1 атмосфере водорода в течение 3 ч. Смесь фильтровали через Celite®, при этом Celite® тщательно промывали метанолом. Объединенный растворитель удаляли при сниженном давлении для получения 8-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-1-изопропил-7-(метилсульфонил)-1,2,3,4-тетрагидропиразино[1,2-а]индола. Его непосредственно применяли без дальнейшей очистки. Небольшую часть продукта очищали с помощью хроматографии для определения характеристик. ВЭЖХ-МС m/z 561 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD): δ 8,00 (с, 1H), 7,73-7,70 (м, 5H), 7,47-7,40 (м, 6H), 6,36 (с, 1H), 5,20 (д, $J = 2,0$ Гц, 2H), 4,24-4,19 (м, 1H), 4,11-4,00 (м, 2H), 3,52-3,47 (м, 1H), 3,20-3,13 (м, 1H), 3,03 (с, 3H), 2,47-2,39 (м, 1H), 1,18 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H), 1,09 (с, 9H), 0,96 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H). ^{13}C ЯМР (100 МГц, CDCl_3): δ 143,06, 135,68, 134,04, 133,31, 131,52, 130,26, 129,79, 129,51, 127,77, 121,39, 111,22, 97,14, 63,76, 59,28, 45,00, 42,94, 42,47, 31,55, 26,94, 19,72, 19,31, 16,49.

Этап 10



Смесь 2-хлор-4-(трифторметил)пиримидина (80 мг, 0,44 ммоль), 8-(((трет-бутилдифенилсилил)окси)метил)-1-изопропил-7-(метилсульфонил)-1,2,3,4-тетрагидропиразино[1,2-а]индола (неочищенный, из этапа 9) и DIEA (115 мкл, 0,66 ммоль) в $n\text{-PrOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (2 мл / 1 мл) взбалтывали при 110°C в течение 30 ч. Растворитель удаляли при сниженном давлении, при этом неочищенный остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле и СФХ сепарации на хиральной колонке для получения изомеров (1-изопропил-7-(метилсульфонил)-2-(4-(трифторметил)пиримидин-2-ил)-1,2,3,4-тетрагидропиразино[1,2-а]индол-8-ил)метанола (75 мг, 72% выход за два этапа).

Изомер 1: Аналитическая хиральная ВЭЖХ: $t_R = 11,8$ мин при 15-минутной хроматографии (Способ: AD-H_5_5_40_2,35 мл). ВЭЖХ-МС m/z 469 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD): δ 8,65 (д, $J = 4,8$ Гц, 1H), 8,10 (с, 1H), 7,78 (с, 1H), 6,95 (д, $J = 4,8$ Гц, 1H), 6,52 (с, 1H), 5,91-5,89 (м, 1H), 5,14-5,09 (м, 1H), 5,06 (с, 2H), 4,47-4,42 (м, 1H), 4,12-4,05 (м, 1H), 3,94-3,86 (м, 1H), 3,26 (с, 3H), 2,37-2,29 (м, 1H), 1,17 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H), 1,03 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H).

Изомер 2: Аналитическая хиральная ВЭЖХ: $t_R = 9,7$ мин при 15-минутной хроматографии (Способ:

AD-H_5_5_40_2,35 мл). ВЭЖХ-МС m/z 469 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD): δ 8,65 (д, $J = 4,8$ Гц, 1H), 8,10 (с, 1H), 7,78 (с, 1H), 6,95 (д, $J = 4,8$ Гц, 1H), 6,52 (с, 1H), 5,91-5,89 (м, 1H), 5,14-5,09 (м, 1H), 5,06 (с, 2H), 4,47-4,42 (м, 1H), 4,12-4,05 (м, 1H), 3,94-3,86 (м, 1H), 3,26 (с, 3H), 2,37-2,29 (м, 1H), 1,17 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H), 1,03 (д, $J = 6,8$ Гц, 3H).

Пример 5

Анализ связывания радиолигандов LXR α/β

Заявляемые соединения анализировали в рамках конкурентного анализа связывания, в котором различные концентрации соединений инкубировали с доменом связывания лигандов LXR (LBD) в присутствии меченного радиоактивным изотопом LXR лиганда $[^3H]TO901317$. Количество LXR-LBD, которое связывалось с $[^3H]TO901317$, измеряли с помощью сцинтилляционного приближенного анализа (SPA) с применением неспецифического связывания LXR-LBD с покрытыми полилизинами силикатными микросферами иттрия. Частично очищенный LXR α или β LBD белок (15-45 нМ) инкубировали при комнатной температуре в течение 30 мин с 15 нМ $[^3H]TO901317$ (25-40 Ки/ммоль) и различными концентрациями анализируемых соединений в 80 мкл фосфатного буферирующего раствора (PBS), содержащего 2,5% DMSO, 1% глицерин, 2 мМ EDTA, 2 мМ CHAPS и 5 мМ DTT в 96-луночных планшетах. Полилизинные SPA микросферы (50 мкг) добавляли в каждую лунку, при этом общий объем доводили до 120 мкл. Планшеты встряхивали на орбитальном шейкере в течение 20 мин и затем оставляли для отстаивания еще на 10 мин при комнатной температуре перед проведением короткого центрифугирования при 2000 об/мин в течение 1 мин. SPA сигнал измеряли с помощью жидкостного сцинтилляционного счетчика MicroBeta® (Perkin Elmer, Waltham, MA), при этом результаты применяли для подсчета IC50 значений на основе контролей общего связывания (DMSO контроль) и неспецифического связывания (5 мкл немеченого TO901317). K_i значения подсчитывали в соответствии с уравнением 1, где [RL] представляет собой конечную концентрацию $[^3H]TO901317$ в анализе, а K_d значения 20 и 10 нМ TO901317 для LBD LXR α и LXR β соответственно были определены с помощью прямого титрования радиолигандов данными белками.

$$K_i = \frac{IC50}{\left(1 + \frac{[RL]}{K_d}\right)^{(1)}}$$

Пример 6

Анализ репортерного транскрипционного гена люциферазы LXR

Анализ репортерного транскрипционного гена люциферазы LXR позволяет определить способность LXR лигандов промотировать транскрипционную активацию с помощью домена связывания лигандов (LBD) LXR. Клетки HEK293 культивировали в DMEM среде, содержащей 10% FBS (Gibco®, #11995-065) и 1xPenStrep (Gibco®, #15140) при 37°C в 5% CO_2 среде. 90% конфлюэнтных клеток из 150 мм чашек высевали в шесть 100 мм чашек. Клетки подвергали множественной трансфекции экспрессионной плазмидой, содержащей Gal4 ДНК-связывающий домен, слитый с LBD LXR α или LXR β , и люциферазную репортерную плазмиду pG5-Luc (Promega, Madison, WI), которая включает Gal4 респонсные элементы выше гена люциферазы светлячка (luc+). Трансфекцию осуществляли с применением Lipofectamine™ 2000 (Gibco®) в соответствии с рекомендуемым протоколом производителя. Спустя 5 ч после трансфекции 15 мл 10% обработанного углем FBS (Hyclone, #SH30070.03) в DMEM добавляли в трансфекционные чашки без удаления трансфекционной среды и затем культивировали клетки при 37°C в течение ночи. На следующий день клетки из трансфекционной чашки были обработаны трипсином, промыты PBS, ресуспендированы в 10% обработанной углем DMEM среде и посеяны в 96-луночные планшеты в количестве 60000 клеток/100 мкл на лунку. Клетки культивировали при 37°C в течение ~4 ч перед добавлением 100 мкл анализируемого соединения или контрольного лиганда при различных концентрациях (конечная концентрация DMSO 0,2%). После культивирования клеток в течение 16 ч с соединениями культуральную среду удаляли и добавляли люциферазный агент Bright-Glo™ (Promega, Cat. #E2610) для лизиса клеток и начала люциферазной реакции. Люминесценцию, в качестве меры люциферазной активности, определяли с помощью планшет-ридера (Victor2, PE-Wallac). Транскрипционная активация в присутствии анализируемого соединения выражалась в виде многократного изменения люминесценции по сравнению с активацией клеток, культивируемых при отсутствии соединения. EC₅₀ значения подсчитывали с применением программы XLfit™ (IDBS, Guilford, UK).

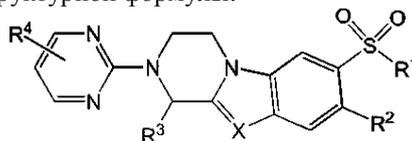
Пример 7

Заявляемые соединения анализировали как описано в примере 5 и 6. Биологические данные приведены в таблице ниже.

№ Соединения	№ Примера	K _i значение связывания LXR α (нМ)	K _i значение связывания LXR β (нМ)	EC50 значение LXR α для клеток (нМ)	EC50 значение LXR β для клеток (нМ)
E1	Пример 1	1770	256	3370	313
E2a	Пример 2, изомер 1	318	20	340	13
E2b	Пример 2, изомер 2	> 3330	> 2500	17300	6940
E3a	Пример 3, изомер 1	398	27	1100	87
E3b	Пример 3, изомер 2	> 3330	1750	> 20000	> 20000
E4a	Пример 4, изомер 1	43	4	163	10
E4b	Пример 4, изомер 2	> 3330	846	> 20000	> 20000

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение следующей структурной формулы:



или его фармацевтически приемлемая соль, при этом

X представляет собой N или CR^C;

R¹ представляет собой C₁-C₆-алкил;

R² представляет собой H или C₁-C₆-алкил, необязательно замещенный гидроксигруппой;

R³ представляет собой C₁-C₆-алкил;

R⁴ представляет собой C₁-C₆-галоалкил и

R^C представляет собой H.

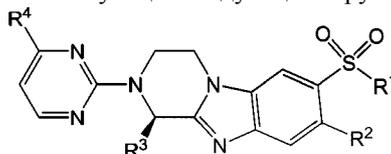
2. Соединение по п.1, в котором

R¹ представляет собой метил;

R² представляет собой H или -CH₂OH и

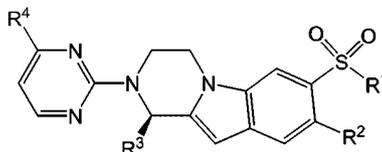
R³ представляет собой изопропил.

3. Соединение по п.1 или 2, соответствующее следующей структурной формуле:



или его фармацевтически приемлемая соль.

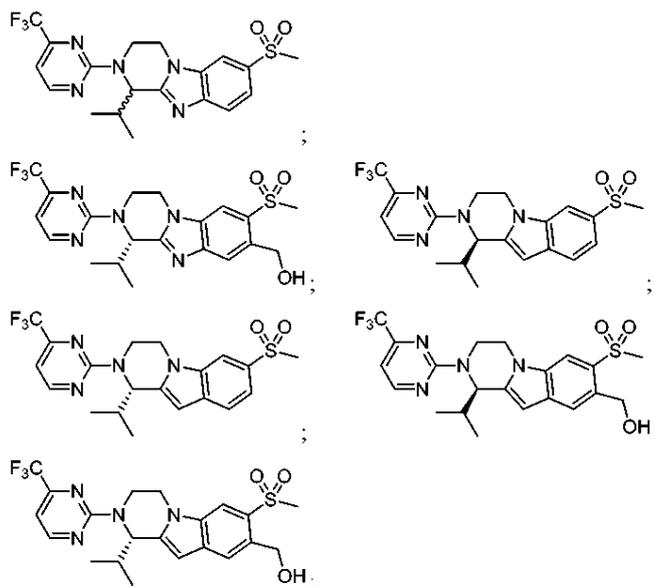
4. Соединение по п.1 или 2, соответствующее следующей структурной формуле:



или его фармацевтически приемлемая соль.

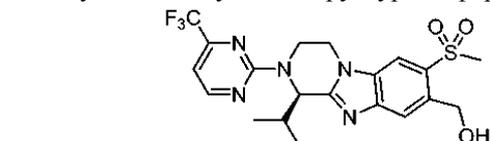
5. Соединение по любому из предыдущих пунктов, в котором R⁴ представляет собой CF₃.

6. Соединение структурной формулы, выбранной из



или фармацевтически приемлемая соль любого из соединений.

7. Соединение, соответствующее следующей структурной формуле:



или его фармацевтически приемлемая соль.

8. Фармацевтическая композиция для лечения заболевания или расстройства, связанного с LXR активностью, включающая фармацевтический носитель или разбавитель и соединение по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемую соль в эффективном количестве.

9. Композиция по п.8, отличающаяся тем, что заболевание или расстройство представляет собой atopический дерматит.

10. Способ лечения субъекта с заболеванием или расстройством, выбранным из атеросклероза, болезни Альцгеймера или дерматита, включающий введение субъекту эффективного количества соединения по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемой соли.

11. Способ по п.10, отличающийся тем, что заболевание или расстройство представляет собой atopический дерматит.

