



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **120162** (13) **C2**  
(51) МПК**C07D 487/04** (2006.01)**C07F 5/04** (2006.01)**C07D 401/14** (2006.01)МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>а 2015 09637</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Лю Пінлі (US),</b> <b>Ван Денцзін (US),</b> <b>У Юнчжун (US),</b> <b>Цао Ганьфен (US),</b> <b>Ксіа Майкл (US)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>05.03.2014</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>ІНСАЙТ ХОЛДІНГС КОРПОРЕЙШН,</b> 1801 Augustine Cut-Off, Wilmington, Delaware 19803, United States of America (US)
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>25.10.2019</b>	<b>(74)</b> Представник: <b>Бочаров Максим Анатолійович, реєстр.</b> <b>№367</b>
<b>(31)</b> Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>61/773,659</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2012/177606 A1 (INCYTE CORP [US], et al.), 27.12.2012 WO 2011/130146 A1 (ARRAY BIOPHARMA INC [US], et al.), 20.10.2011 WO 2009/064835 A1 (INCYTE CORP [US], et al.), 22.05.2009 WO 2009/114512 A1 (INCYTE CORP [US], et al.), 17.09.2009 WO 2011/112662 A1 (INCYTE CORP [US], et al.), 15.09.2011
<b>(32)</b> Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>06.03.2013</b>	
<b>(33)</b> Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: <b>US</b>	
<b>(41)</b> Публікація відомостей про заявку: <b>10.11.2015, Бюл.№ 21</b>	
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.10.2019, Бюл.№ 20</b>	
<b>(86)</b> Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: <b>PCT/US2014/020554,</b> <b>05.03.2014</b>	

**(54) СПОСОБИ І ПРОМІЖНІ СПОЛУКИ ПРИ ОТРИМАННІ ІНГІБІТОРА ЯК****(57) Реферат:**

Даний винахід стосується способів і проміжних сполук при отриманні {1-{1-[3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиноіл]піперидин-4-іл}-3-[4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу, який є корисним при лікуванні захворювань, пов'язаних з активністю Янус-кіназ (ЯК), включаючи запальні захворювання, аутоімунні захворювання, рак та інші захворювання.

UA 120162 C2



## Інгібітора JAK

Ця заявка заявляє пріоритет попередньої заявки США № 61/773659, поданої 6 березня 2013 року, яка включена в цю заявку у вигляді посилання в повному обсязі.

## Область техніки

Даний винахід відноситься до способів і проміжних сполук при отриманні {1-{1-[3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиноіл]піперидин-4-іл}- 3-[4-(7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу, який є корисним при лікуванні захворювань, пов'язаних з активністю Янус-кіназ (JAK), включаючи запальні захворювання, аутоімунні захворювання, рак і інші захворювання.

## Рівень техніки

Протеїнкінази (ПК) регулюють різні біологічні процеси, в тому числі, серед іншого, ріст, виживання та диференціацію клітин, формування органів, морфогенез, неоваскуляризацію, репарацію і регенерацію тканин. Крім того, протеїнкінази грають особливу роль у великій кількості захворювань людини, включаючи рак. Цитокіни, низькомолекулярні поліпептиди або глікопротеїни, регулюють багато шляхів, залучених до запальної реакції господаря на сепсис. Цитокіни впливають на диференціацію, проліферацію і активацію клітин, і можуть модулювати прозапальні та протизапальні реакції, що дозволяє реципієнту належним чином реагувати на патогенні фактори. Проведення сигналу широкого спектру цитокінів включає родину Янус-кіназ (JAK) протеїн-тирозинкіназ, а також сигнальні трансдуктори і активатори транскрипції (STAT). Існують чотири відомих JAK ссавців: JAK1 (Янус-кіназа-1), JAK2, JAK3 (також відома як Янус-кіназа, лейкоцитарна; JAKL і L-JAK) і TYK2 (протеїн-тирозинкіназа 2).

Стимульовані цитокіном імунні і запальні відповіді сприяють патогенезу захворювань: патологіям, таким як тяжкий комбінований імунodefіцит (SCID), які є результатом прегніченної імунної системи, в той час як гіперактивна або неадекватна імунна/запальна реакція сприяє патології аутоімунних захворювань (наприклад, астма, системний червоний вовчак, тиреоїдит, міокардит), і хворобам, таким як склеродерма і остеоартрит (Ortmann, R. A., T. Cheng, et al.. (2000) Артрит Res 2(1): 16-32).

Недостатня експресія JAK асоціюється з багатьма патологічними станами. Наприклад, миші Jak1-/- народжуються карликовими, не в змозі смоктати і гинуть в перинатальному періоді (Rodig, S. J., M. A. Meraz, et al.. (1998) Cell 93(3): 373-83). Ембріони мишей Jak2-/- анемічні та гинуть приблизно на 12,5 день після коїтусу через відсутність розвинутого еритропоезу.

Метаболічний шлях JAK/STAT, і, зокрема, всі чотири JAK, як вважають, відіграють певну роль в патогенезі астматичної відповіді, хронічної обструктивної хвороби легень, бронхіту та інших пов'язаних із запальними захворюваннями нижніх дихальних шляхів. Безліч цитокінів, які проводять сигнал через JAK, пов'язані із запальними захворюваннями/станами верхніх відділів дихальних шляхів, наприклад, вражаючими ніс і придаткові пазухи носа (наприклад, риніт та синусит), незалежно від того, є вони класичними алергічними реакціями чи ні.

Активация JAK/STAT в ракових захворюваннях може відбуватися шляхом стимуляції цитокінів (наприклад, IL-6 або GM-CSF) або шляхом зниження ендогенних супресорів JAK сигналізації, наприклад SOCS (супресорної або цитокінової сигналізації) або PIAS (білковий інгібітор активованого STAT) (Boudny, V., and Kovarik, J., Neoplasia. 49: 349-355, 2002). Активация сигналізації STAT, а також інших метаболічних шляхів нижче JAK (наприклад, Akt), корелювала з несприятливим прогнозом при багатьох типів раку (Bowman, T., et al. Oncogene 19: 2474-2488, 2000). Підвищення рівня цитокінів в кровотоці, які проводять сигнал через JAK/STAT, відіграє визначальну роль у кахексії та/або хронічній втомі. Як таке, інгібування JAK може бути сприятливим для ракових пацієнтів з причини додаткового посилення потенційної протипухлинної активності.

JAK2 тирозинкіназа може бути корисною для пацієнтів з мієлопроліферативними захворюваннями, наприклад, справжньою поліцитемією (СП), ідіопатичною тромбоцитемією (ІТ), мієлофіброзом з мієлоїдною метаплазією МММ (Levin, et al., Cancer Cell, vol. 7, 2005: 387-397). Інгібування кінази JAK2V617F зменшує проліферацію гемопоетичних клітин, припускаючи JAK2 як потенційну ціль для фармакологічного інгібування у пацієнтів з СП, ІТ, і МММ.

Інгібування JAK може принести користь пацієнтам, що страждають від шкірних імунних розладів, таких як псоріаз і сенсibiliзація шкіри. Підтримання псоріазу, як вважають, залежить від низки запальних цитокінів на додаток до різних хемокинів і факторів росту (JCI, 113: 1664-1675), багато з яких передають сигнал через JAK (Adv Pharmacol. 2000; 47: 113-74).

JAK1 відіграє центральну роль у низці сигнальних шляхів цитокінів і факторів росту, які, коли дисрегульовані, можуть призвести до, або сприяють хворобливим станам. Наприклад, рівні IL-6 зростають при ревматоїдному артриті, хворобі, в якій, як вважають, це має згубні наслідки (Fonesca, JE et al., Autoimmunity Reviews, 8: 538-42, 2009). Оскільки IL-6 передає сигнал,

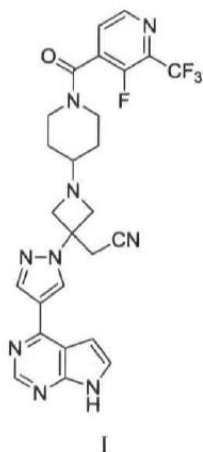
щонайменше частково, через JAK1, протидія IL-6 прямо або опосередковано через інгібування JAK1, як очікується, може забезпечити сприятливий клінічний ефект (Guschin, D., N., et al. *Embo J* 14: 1421, 1995; Smolen, JS, et al. *Lancet* 371: 987, 2008). Крім того, в деяких видах раку JAK1 мутував, що в результаті призвело до небажаного росту пухлинних клітин та їх виживаності (Mullighan CG, *Proc Natl Acad Sci US A* 106: 9414-8, 2 009; Flex E., et al. *J Exp Med*. 205: 751-8, 2008). В інших аутоімунних захворюваннях і при раку, збільшувалися системні рівні запальних цитокінів, які активують JAK1, які також можуть сприяти хворобам та/або пов'язаним з ними симптомам. Отже, пацієнти з такими захворюваннями можуть отримувати користь від інгібування JAK1. Селективні інгібітори JAK1 можуть бути ефективними, поки можливе запобігання непотрібним і потенційно небажаним ефектам інгібування інших кіназ JAK.

Селективні інгібітори JAK1, які відносяться до інших кіназ JAK, можуть мати декілька терапевтичних переваг в порівнянні з менш селективними інгібіторами. Відносно селективності по відношенню до JAK2, низка важливих цитокінів і факторів росту передають сигнал через JAK2, у тому числі, наприклад, еритропоєтин (Еро) і тромбопоєтин (Тро) (Parganas E, et al. *Cell*. 93: 385-95, 1998). Еро є ключовим чинником росту для виробництва червоних кров'яних тілець; отже, недолік Еро-залежної сигналізації може призвести до скорочення числа червоних кров'яних клітин і анемії (Kaushansky K, *NEJM* 354: 2034-45, 2006). Тро, інший приклад JAK2, який залежить від чинника росту, який відіграє центральну роль у контролі проліферації і дозрівання мегакаріоцитів - клітин, з яких виробляються тромбоцити (Kaushansky K, *NEJM* 354: 2034-45, 2006). Таким чином, зниження сигналізації Тро буде зменшувати кількість мегакаріоцитів (мегакаріоцитопенія) і знижувати кількість циркулюючих тромбоцитів (тромбоцитопенія). Це може призвести до небажаної і/або невіддатливій контролю кровотечі. Зниження інгібування інших JAK, таких як JAK3 і Tyk2, також може бути бажане, так як люди, що не мають функціональну версію цих кіназ, як було показано, страждають від численних хвороб, таких як важкий комбінований імунodefіцит або синдромом гіперімуноглобуліну Е (Minegishi, Y, et al. *Immunity* 25: 745-55, 2006; Macchi P, et al. *Nature*. 377: 65-8, 1995). Отже, інгібітор JAK1 зі зниженою афінністю до інших JAK матиме значні переваги в порівнянні з менш селективним інгібітором відносно зниження побічних ефектів, включаючи пригнічення імунітету, анемію і тромбоцитопенію.

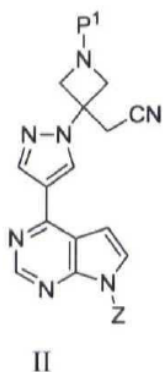
Завдяки користі інгібіторів JAK існує необхідність у розробці нових способів отримання інгібіторів JAK. Даний винахід спрямовано на задоволення цієї та інших потреб.

Суть винаходу

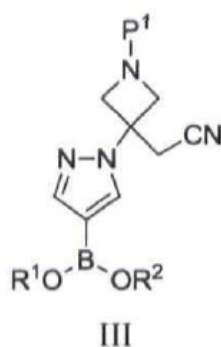
Інгібітори JAK описані в патенті США 2011/0224190, який включений в даний опис у повному обсязі за допомогою посилання, у тому числі {1-{1-[3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиноїл]піперидин-4-іл}-3-[4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил, який зображений нижче у вигляді Формули I.



У даному винаході запропоновані, зокрема, способи і проміжні сполуки для отримання сполуки Формули I. Зокрема, даний винахід відноситься до способів отримання сполуки Формули II:

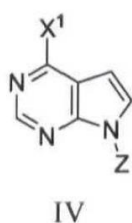


які включають приведення в контакт сполуки Формули III:



5

зі сполукою Формули IV:



10

в умовах реакції Сузукі з отриманням сполуки Формули II, де:

Z являє собою H або захисну групу;

P<sup>1</sup> являє собою захисну групу;

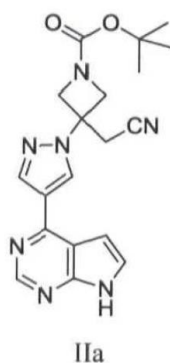
X<sup>1</sup> являє собою галоген; і

R<sup>1</sup> і R<sup>2</sup> кожен незалежно являє собою H або C<sub>1-6</sub> алкіл; або

15

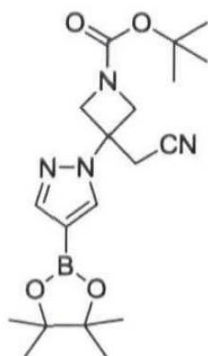
R<sup>1</sup> і R<sup>2</sup>, разом з двома атомами Оксигену, до яких вони приєднані і атомом Бору, до якого приєднані атоми Оксигену, утворюють 5- або 6-членне гетероциклоалкільне кільце, яке необов'язково заміщене 1, 2, 3 або 4 C<sub>1-4</sub> алкільними групами.

Даний винахід також відноситься до способів отримання сполуки Формули IIa:



20

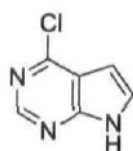
включаючи приведення в контакт сполуки Формули IIIa:



IIIa

5

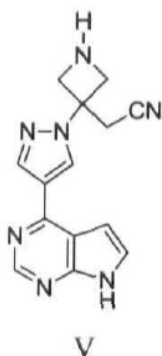
зі сполукою Формули IVa:



IVa

10 в умовах реакції Сузукі з отриманням сполуки Формули IIa, причому умови реакції Сузукі включають нагрівання реакційної суміші, яка містить сполуку Формули IIIa, сполуку Формули IVa, [1,1'- біс(дициклогексилфосфіно)фероцен]дихлоропаладій (II), фторид цезія, і компоненту розчинника, причому компонент розчинника містить воду і трет-бутанол.

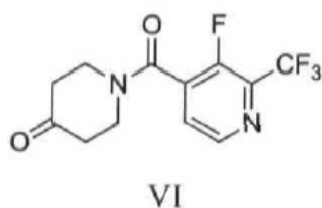
15 Спосіб додатково включає спосіб зняття захисних груп зі сполуки Формули II або IIa, з отриманням сполуки Формули V:



V

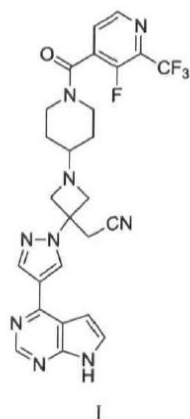
або її солі.

20 У даному винаході також запропоновано спосіб, що додатково включає приведення в контакт сполуки Формули V, або її солі, зі сполукою Формули VI:



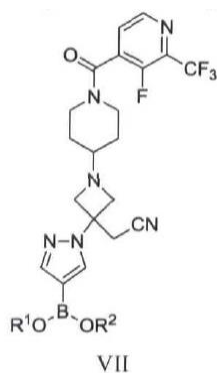
VI

25 в присутності відновлюючого агента з отриманням сполуки Формули I:



або її солі.

5 У даному винаході додатково запропоновані сполуки Формули VII:



або їх солей, де:

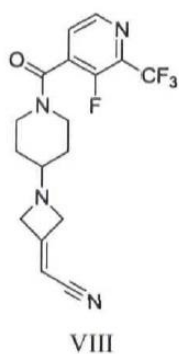
10

$R^1$  і  $R^2$  кожен незалежно являє собою H або  $C_{1-6}$  алкіл; або

$R^1$  і  $R^2$ , разом з двома атомами Оксигену, до яких вони приєднані і атомом Бору, до якого приєднані атоми Оксигену, утворюють 5- або 6-членне гетероциклоалکیلне кільце, яке необов'язково заміщене 1, 2, 3 або 4  $C_{1-4}$  алкільними групами.

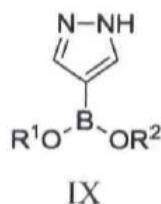
15

У даному винаході додатково запропоновані способи отримання сполуки Формули VII, що включають приведення в контакт сполуки Формули VIII:



20

зі сполукою Формули IX:

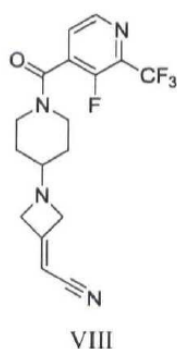


у присутності зв'язуючого агента з отриманням сполуки Формули VII; де:

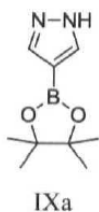
R¹ і R² кожен незалежно являє собою H або C₁-₆ алкіл; або

5 R¹ і R², разом з двома атомами Оксигену, до яких вони приєднані і атомом Бору, до якого приєднані атоми Оксигену, утворюють 5- або 6-членне гетероциклоалкільне кільце, яке необов'язково заміщене 1, 2, 3 або 4 C₁-₄ алкільними групами.

Даний винахід також відноситься до способів отримання сполуки Формули VIIa, що включають приведення в контакт сполуки Формули VIII або її солі:

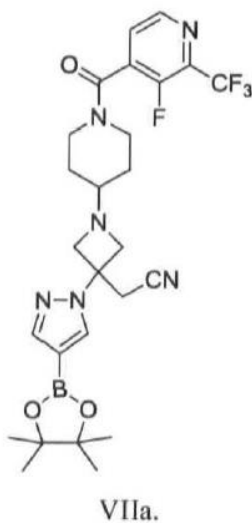


зі сполукою Формули IXa:



15

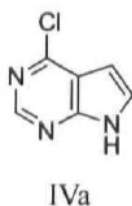
в присутності відновлюючого агента з отриманням сполуки Формули VIIa:



20

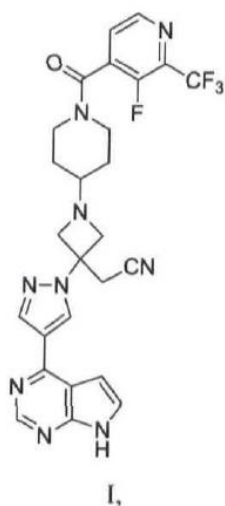


У даному винаході додатково запропоновані способи отримання сполуки Формули I, що включають приведення в контакт сполуки Формули VII або VIIa зі сполукою Формули IVa:



5

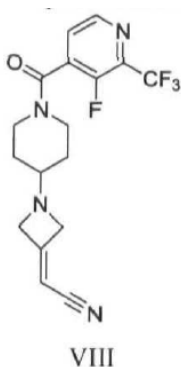
в умовах реакції Сузукі з отриманням сполуки Формули I:



10

в якому умови реакції Сузукі включають нагрівання реакційної суміші, яка містить сполуку Формули VII або VIIa, сполуку Формули IVa, зв'язуючий каталізатор Сузукі, основу та компонент розчинника.

У даному винаході також запропоновано сполуку Формули VIII:

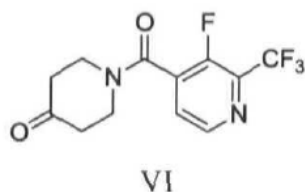


15

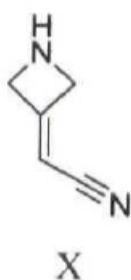
або її сіль.

У даному винаході додатково запропоновані способи отримання сполуки Формули VIII або її солі, що включають приведення в контакт сполуки Формули VI:

20



зі сполукою Формули X:

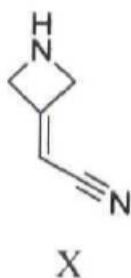


5

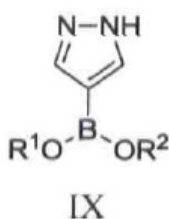
або її сіллю, у присутності відновлюючого агента.

У даному винаході додатково запропоновані способи отримання сполуки Формули III, що включають приведення в контакт сполуки Формули X:

10



або її солі, зі сполукою Формули IX:



15

у присутності агента зв'язування з отриманням сполуки Формули III або її солі; де:

$R^1$  і  $R^2$  кожен незалежно являє собою H або  $C_{1-6}$  алкіл; або

$R^1$  і  $R^2$ , разом з двома атомами Оксигену, до яких вони приєднані і атомом Бору, до якого приєднані атоми Оксигену, утворюють 5- або 6-членне гетероциклоалکیلне кільце, яке необов'язково заміщене 1, 2, 3 або 4  $C_{1-4}$  алкільними групами.

20

Детальний опис суті винаходу

У різних місцях в даному описі, замісники сполук винаходу, описані в групах або в діапазонах. Зокрема це передбачає, що даний винахід включає кожні окремі підкомбінації зазначених членів таких груп і діапазонів. Наприклад, термін " $C_{1-6}$  алкіл" спеціально призначений, щоб описати окремо метил, етил,  $C_3$  алкіл,  $C_4$  алкіл,  $C_5$  алкіл, та  $C_6$  алкіл.

25

Це додатково припускає, що певні ознаки винаходу, які для ясності описані в контексті окремих варіантів реалізації винаходу, також можуть бути представлені в комбінації в одному варіанті реалізації винаходу. Навпаки, різні ознаки винаходу, які, для стислості, описані в контексті одного варіанту винаходу, також можуть бути представлені окремо або в будь-якій

30

зручний підкомбінації.

Термін "n-членний", де n є цілим числом, зазвичай описує кількість утворюючих кільце атомів у фрагменті, де кількість утворюючих кільце атомів являє собою n. Наприклад, піперидиніл являє собою приклад 6-членного гетероциклоалкільного кільця і 1,2,3,4-тетрагідронафтalin являє собою приклад 10-членної циклоалкільної групи.

Для сполук за даним винаходом, в якому змінна зустрічається більше одного разу, кожна змінна може бути іншим фрагментом, незалежно вибраним з групи, що визначає змінну. Наприклад, якщо описана структура являє собою дві групи R, які одночасно присутні в одній і тій самій сполуці, ці дві групи R можуть являти собою різні фрагменти, незалежно вибрані з групи, визначеної для R.

Як використовується в даному документі, фраза "необов'язково заміщений" означає незаміщений або заміщений. Як використовується в даному документі, термін "заміщений" означає, що атом водню вилучений і замінений замісником. Зрозуміло, що заміщення при будь-якому взятому атомі обмежене валентністю.

Як використовується в даному документі, термін "алкіл", який використовується окремо або в комбінації з іншими термінами, відноситься до насиченої вуглеводневої групи, яка може бути лінійним або розгалуженим ланцюгом. У деяких варіантах реалізації винаходу алкільна група містить від 1 до 12, від 1 до 8, або від 1 до 6 атомів Вуглецю. Приклади алкільних фрагментів включають, але не обмежуються ними, хімічні групи, такі як метил, етил, n-пропіл, ізопропіл, n-бутил, трет-бутил, ізобутил, втор-бутил; вищі гомологи, такі як 2-метил-1-бутил, n-пентил, 3-пентил, n-гексил, 1,2,2-триметилпропіл, n-гептил, n-октил, і подібні. У деяких варіантах реалізації винаходу, алкільний фрагмент являє собою метил, етил, n-пропіл, ізопропіл, n-бутил, ізобутил, трет-бутил, n-пентил, ізопентил, неопентил, n-гексил, або 2,4,4-триметилпентил. В деяких варіантах реалізації винаходу алкільний фрагмент являє собою метил.

Як використовується в даному документі, терміни "гало" і "галоген", що використовуються окремо або в комбінації з іншими термінами, відносяться до Флуору, Хлору, Брому і Йоду. У деяких варіантах реалізації винаходу гало являє собою хлоро, бромо або йодо. У деяких варіантах реалізації винаходу, гало являє собою хлоро.

Як використовується у даному документі, "гетероциклоалкіл" відноситься до неароматичного моноциклічного кільця, включаючи циклізовані алкільні або алкенільні групи, де один або більше з утворюючих кільце атомів Вуглецю замінено гетероатомом, таким як O, N, S, або атомом B.

Способи, описані в даному документі, можуть бути перевірені відповідно до будь-якого придатного методу, відомого в даній галузі техніки. Наприклад, утворення продукту можна контролювати за допомогою спектроскопічних методів, таких як спектроскопія ядерного магнітного резонансу (наприклад,  $^1\text{H}$  або  $^{13}\text{C}$ ), інфрачервона спектроскопія, або спектроскопія (наприклад, УФ-видима); або за допомогою хроматографії, такої як високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) або тонкошарова хроматографія (ТШХ) або іншими пов'язаних з ними методами.

Як використовується у даному документі, термін "приведення в контакт" використовується так, як відомо в даній області техніки і зазвичай він відноситься до приведення в контакт реагентів таким чином, щоб зробити можливим їх взаємодію на молекулярному рівні для досягнення хімічного або фізичного перетворення. У деяких варіантах реалізації винаходу приведення в контакт включає два реагенти, причому один або більше еквівалентів другого реагента використовують по відношенню до першого реагента. Етапи приведення в контакт способів, описаних в даному документі, можуть бути проведені протягом часу і в умовах, відповідних для отримання ідентифікованого продукту.

Отримання сполук може включати захист і видалення захисту різних хімічних груп. Необхідність захисту і зняття захисту, і вибору відповідних захисних груп може бути легко визначена фахівцем у цій галузі техніки. Хімію захисних груп можна знайти, наприклад, Greene, et al., Protective Groups in Organic Synthesis, 4d. Ed., Wiley & Sons, 2007, яка включена в даний документ у повному обсязі за допомогою посилання. Підбір захисних груп і способів їх утворення та розщеплення, описаних в даному документі, можуть бути скориговані по мірі необхідності з урахуванням різних замісників.

Реакції способів, описаних в даному документі, можуть бути виконані в підходящих розчинниках, які можуть бути легко вибрані фахівцем в області органічного синтезу. Підходящі розчинники можуть бути істотно нереакційноздатними з вихідними речовинами (реагентами), проміжними продуктами при температурах, при яких проходять реакції, наприклад, температури які можуть варіюватися від температури замерзання розчинника до температури кипіння розчинника. Будь-яка вибрана реакція може бути здійснена в одному розчиннику або в суміші

більш ніж одного розчинника. В залежності від конкретної стадії реакції, можуть бути вибрані відповідні розчинники для конкретної стадії реакції. У деяких варіантах здійснення реакції можна проводити за відсутності розчинника, наприклад, коли принаймні один з реагентів є рідиною або газом.

Підходящі розчинники можуть включати галогеновані розчинники, такі як чотирихлористий вуглець, бромодихлорометан, дибромохлорометан, бромформ, хлороформ, бромохлорометан, дибромометан, бутил хлорид, диохлорометан, тетрахлороетилен, трихлороетилен, 1,1,1-трихлороетан, 1,1,2- трихлороетан, 1,1-дихлороетан, 2-хлоропропан,  $\alpha,\alpha,\alpha$ -трифлуоротолуен, 1,2- дихлороетан, 1,2-дибромоетан, гексафлуоробензен, 1,2,4-трихлоробензен, 1,2-дихлоробензен, хлоробензен, флуоробензен, їх суміші тощо. Відповідні етерні розчинники включають: диметоксиметан, тетрагідрофуран, 1,3-діоксан, 1,4-діоксан, фуран, діетиловий етер, диметиловий етер етиленгліколю, діетиловий етер етиленгліколю, диметиловий етер діетиленгліколю, діетиловий етер діетиленгліколю, диметиловий етер триетиленгліколю, анізол, трет-бутилметиловий етер, їх суміші і т. д.

Відповідні протонні розчинники можуть включати, як приклад і без обмеження, воду, метанол, етанол, 2-нітроетанол, 2-флуоретанол, 2,2,2-трифлуоретанол, етиленгліколь, 1-пропанол, 2-пропанол, 2-метоксиетанол, 1- бутанол, 2-бутанол, ізобутиловий спирт, трет-бутиловий спирт, 2- етоксиетанол, діетиленгліколь, 1-, 2- або 3-пентанол, неопентиловий спирт, трет-пентиловий спирт, монометиловий етер діетиленгліколю, моноетиловий етер діетиленгліколю, циклогексанол, бензиловий спирт, фенол або гліцерин.

Відповідні апротонні розчинники можуть включати, як приклад і без обмеження, тетрагідрофуран (ТГФ), N,N-диметилформамід (ДМФА), N,N- диметилацетамід (ДМА), 1,3-диметил-3,4,5,6-тетрагідро-2(1H)-піримідинон (DMPU), 1,3-диметил-2-імідазолідинон (DMI), N-метилпіролідинон (NMP), формамід, N-метиладель, N-метилформамід, ацетонітрil, диметилсульфоксид, пропіонітрil, етилформиат, метиладель, гексахлороацетон, ацетон, етилметиладель, етиладель, сульфолан, N,N- диметилпропіонамід, тетраметилсечовина, нітрометан, нітробензен або гексаметилфосфороамід.

Відповідні вуглеводневі розчинники включають бензен, циклогексан, пентан, гексан, толуен, циклогептан, метилциклогексан, гептан, етилбензен, м-, о- або п-кислil, октан, індан, нонан, або нафталін.

Реакції способів, описаних в даному документі, можуть бути виконані при відповідних температурах, які можуть бути легко визначені фахівцем у даній галузі техніки. Температура реакції буде залежати від, наприклад, температури плавлення і кипіння реагентів і розчинника, якщо він присутній; термодинаміки реакції (наприклад, може знадобитися проведення сильно екзотермічних реакцій при знижених температурах); і кінетики реакції (наприклад, підвищення температури може вимагатися для подолання високої активації енергетичного бар'єру). "Підвищена температура" відноситься до температури вище кімнатної температури (приблизно 22 °C).

Реакції способів, описаних в даному документі, можуть бути проведені на повітрі або в інертній атмосфері. Як правило, реакції, які містять реагенти або продукти, які істотно вступають у взаємодію з повітрям, можуть бути проведені, використовуючи чутливі до впливу повітря методи синтезу, які добре відомі фахівцям у даній галузі техніки.

У деяких варіантах реалізації винаходу, отримання сполук може включати додавання кислот або основ для здійснення, наприклад, каталізу бажаної реакції або утворення сольових форм, таких як кислотно-адитивні солі.

Наприклад, кислоти можуть бути неорганічні та органічні. Неорганічні кислоти включають хлороводневу кислоту, бромоводневу кислоту, сірчану кислоту, фосфорну кислоту та азотну кислоту. Органічні кислоти включають мурашину кислоту, оцтову кислоту, пропіонову кислоту, бутанову кислоту, бензойну кислоту, 4-нітробензойну кислоту, метансульфонову кислоту, п-толуенсульфонову кислоту, бензенсульфонову кислоту, винну кислоту, трифлуорооцтову кислоту, пропіолову кислоту, масляну кислоту, 2-бутинову кислоту, вінілоцтову кислоту, пентанову кислоту, гексанову кислоту, гептанову кислоту, октанову кислоту, нонанову кислоту і деканову кислоту.

Приклади основ включають гідроксид літію, гідроксид натрію, гідроксид калію, карбонат натрію, карбонат калію, і бікарбонат натрію. Деякі приклади сильних основ включають, але не обмежуються ними, гідроксид, алкоксиди, амідні металів, гідриди металів, діалкіламіди металів і ароматичні аміни, причому; алкоксиди включають солі літію, натрію і калію метил-, етил- і трет-бутил оксидів; амідні металів включають амід натрію, амід калію та амід літію; гідриди металів включають гідрид натрію, гідрид калію і гідрид літію; і діалкіламіди металів включають натрієві і калієві солі метил-, етил-, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, трет-бутил, триметилсиліл та

циклогексил заміщених амідів.

Проміжні сполуки і продукти можуть також включати солі сполук описаних в даному документі. Як використовується в даному документі, термін "сіль" відноситься до солі, утвореної додаванням відповідної кислоти або основи до сполуки, описаної в даному документі. У деяких варіантах реалізації винаходу, солі являють собою фармацевтично прийнятні солі. Як використано в даному документі, вираз "фармацевтично прийнятний" відноситься до речовини, яка прийнятна для використання у фармацевтичній промисловості з токсикологічної точки зору і не має шкідливої взаємодії з активним інгредієнтом. Фармацевтично прийнятні солі, у тому числі моно- і бі- солі, включають, але не обмежуються ними, солі, отримані з органічних і неорганічних кислот, таких як, але не обмежуються ними, оцтова, молочна, лимонна, корична, винна, бурштинова, фумарова, малеїнова, малінова, мигдальна, яблучна, щавелева, пропіонова, хлороводнева, бромоводнева, фосфорна, азотна, сірчана, гліколева, піровиноградна, метансульфонова, етансульфонова, толуенсульфонова, саліцилова, бензойна і подібні відомі прийнятні кислоти. Списки придатних солей можна знайти в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 і Journal Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977), кожен з яких включений в даний документ у повному обсязі за допомогою посилання.

При одержанні сполук згідно зі способами описаними в даному документі, можуть бути використані звичайні дії по виділенню та очистці, такі як концентрація, фільтрація, екстракція, твердофазна екстракція, перекристалізація, хроматографія і т.д., щоб виділити необхідний продукт.

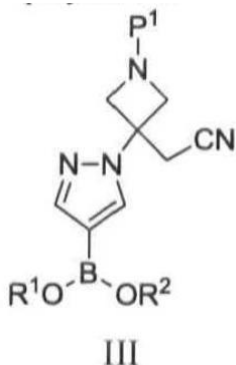
У деяких варіантах реалізації винаходу сполуки, описані в даному документі, та їх солі, в істотному ступені виділені. Під "в істотному ступені виділений" мають на увазі, що сполуку щонайменше частково або істотно відокремлено від середовища, в якому воно створено, або виявлено. Часткове розділення може включати, наприклад, композицію збагачену сполукою за даним винаходом. Істотний поділ може включати композиції, які містять щонайменше приблизно 50%, щонайменше приблизно 60%, щонайменше приблизно 70%, щонайменше приблизно 80%, щонайменше приблизно 90%, щонайменше приблизно 95%, щонайменше приблизно 97%, або щонайменше приблизно 99% по масі сполуки даного винаходу, або її солі. Методи виділення сполук та їх солей є звичайними в даній галузі техніки.

Способи отримання деяких проміжних продуктів можна знайти в попередній патентній заявці США № 61/531896, поданої 7 вересня 2011, патентній заявці США № 12/687623, поданої 14 січня 2010, і патентній заявці США № 13/043986, поданої 9 березня 2011, кожна з яких включена в даний документ у повному обсязі за допомогою посилання.

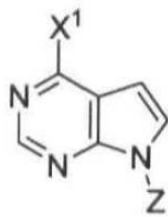
#### Способи і проміжні сполуки

У даному винаході запропоновані, зокрема, способи і проміжні сполуки для отримання сполуки Формули I. Відповідно, в одному аспекті даний винахід відноситься до способу, що включає:

приведення в контакт сполуки Формули III:

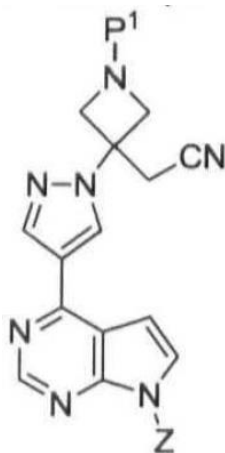


зі сполукою Формули IV



IV

в умовах реакції Сузукі з отриманням сполуки Формули II:



II

5

де:

Z являє собою H або захисну групу;

P¹ являє собою захисну групу;

10 X¹ являє собою галоген; i

R¹ і R² кожен незалежно являє собою H або C₁-₆ алкіл; або

R¹ і R², разом з двома атомами Оксигену, до яких вони приєднані і атомом Бору, до якого приєднані атоми Оксигену, утворюють 5- або 6-членне гетероциклоалкільне кільце, яке необов'язково заміщене 1, 2, 3 або 4 C₁-₄ алкільними групами.

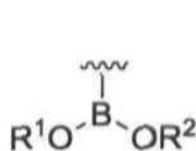
15 У деяких варіантах реалізації винаходу P¹ являє собою трет-бутоксикарбоніл. Відповідні P¹ захисні групи включають, але не обмежуються ними, захисні групи для амінів описаних в Wuts і Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, 4 вид., John Wiley & Sons: New-Jersey, pages 696-887 (i, зокрема, pages 872-887) (2007), яка включена в даний документ у повному обсязі за допомогою посилання. У деяких варіантах реалізації винаходу P¹ являє собою

20 бензилоксикарбоніл (Cbz), 2,2,2-трихлороетоксикарбоніл (Troc), 2- (триметилсиліл)етоксикарбоніл (Teoc), 2-(4- трифлуорометилфенілсульфоніл)етоксикарбоніл (Tsc), трет-бутоксикарбоніл (BOC), 1-адамантілоксикарбоніл (Adoc), 2-адамантілкарбоніл (2-Adoc), 2,4- диметилпент-3-ілоксикарбоніл (Doc), циклогексилоксикарбоніл (Hoc), 1,1- диметил-2,2,2-трихлороетоксикарбоніл (TсBOC), вініл, 2-хлороетил, 2-фенілсульфонілетил, алліл,

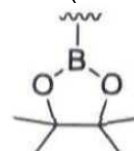
25 бензил, 2-нітробензил, 4-нітробензил, дифеніл-4- піридилметил, N',N'-диметилгідразин, метоксиметил, трет-бутоксиметил (Bum), бензилоксиметил (BOM), або 2-тетрагідропіраніл (THP). У деяких варіантах реалізації винаходу, P¹ являє собою три(C1-4 алкіл)силіл (наприклад, три(ізопропіл)силіл). У деяких варіантах реалізації винаходу, P¹ являє собою 1,1-діетоксиметил. У деяких варіантах реалізації винаходу, P¹ являє собою 2- (триметилсиліл)етоксиметил (SEM).

30 У деяких варіантах реалізації винаходу, P¹ являє собою N-півалоілоксиметил (POM).

У деяких варіантах реалізації винаходу,



являє собой

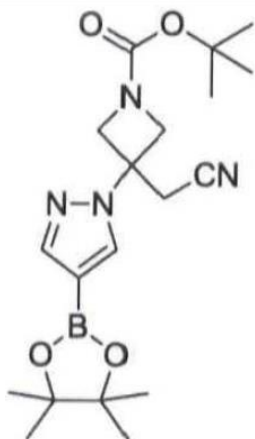


У деяких варіантах реалізації винаходу,  $R^1$  і  $R^2$  кожен незалежно являє собою метил або етил. У деяких варіантах реалізації винаходу,  $R^1$  і  $R^2$  кожен являє собою метил. У деяких варіантах реалізації винаходу,  $R^1$  і  $R^2$  кожен являє собою етил.

У деяких варіантах реалізації винаходу,  $X^1$  являє собою Хлор.

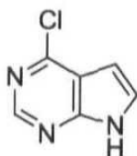
5 У деяких варіантах реалізації винаходу, Z являє собою Н.

У деяких варіантах реалізації винаходу, сполука Формули III має Формулу IIIa:



IIIa.

10 У деяких варіантах реалізації винаходу, сполука Формули IV являє собою Формулу IVa:



IVa.

15 У деяких варіантах реалізації винаходу, умови реакції Сузукі включають нагрівання реакційної суміші, яка містить сполуку Формули III, сполуку Формули IV, каталізатор реакції Сузукі, основу і компонент розчинника.

Реакція Сузукі в способах описаних в даному документі, може бути ініційована за допомогою низки різних відомих каталізаторів Сузукі, у тому числі каталізаторів на основі паладію (0) і паладію (II), і проведена в умовах, відомих у даній області техніки (див., наприклад, Miyaura і Suzuki, Chem. Rev. 1 995, 95, 2457-2483, яка включена в повному обсязі в даний опис). У деяких варіантах реалізації винаходу, "у присутності каталізатора" може відноситися до додавання попередника каталізатора, який присутній в якій-небудь іншій формі під час реакційного циклу. У деяких варіантах реалізації винаходу, паладієвий каталізатор являє собою  $Pd(PPh_3)_4$  і  $Pd(dppf)_2Cl_2$ . У деяких варіантах реалізації винаходу каталізатором є [1,1'-біс(дициклогексилфосфіно)фероцен]дихлоропаладій (II). У деяких варіантах реалізації винаходу, паладієвий каталізатор являє собою [1,1'-біс(дициклогексилфосфіно)фероцен]дихлоропаладій (II) ("Pd-127"), тетракіс(трифенілфосфін)паладій (0), або тетракіс(три(o-толіл)фосфін)паладій (0). У деяких варіантах реалізації винаходу, паладієвий каталізатор являє собою тетракіс(трифенілфосфін)паладій (0). У деяких варіантах реалізації винаходу, завантаження паладієвого каталізатора становить від приблизно  $1 \times 10^{-4}$  до приблизно 0,1 еквівалентів. У деяких варіантах реалізації винаходу, завантаження паладієвого каталізатора становить від приблизно 0,0010 до приблизно 0,0015 еквівалентів.

У деяких варіантах реалізації винаходу, основа являє собою фторид цезію. У деяких варіантах реалізації винаходу, фторид цезію присутній в кількості 3 еквівалентів або більше (наприклад, 3,5 еквіваленти) у розрахунку на сполуку Формули IV. У деяких варіантах реалізації винаходу, компонента розчинника може включати трет-бутанол і воду. У деяких варіантах реалізації винаходу, трет-бутанол і вода присутні в об'ємному співвідношенні 1:1.

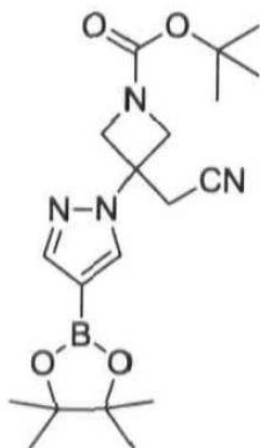
У деяких варіантах реалізації винаходу, сполуки Формули III і IV присутні в молярному співвідношенні приблизно 1:1.

У деяких варіантах реалізації винаходу, компонента розчинника містить воду і органічний розчинник. У деяких варіантах реалізації винаходу, органічний розчинник являє собою 1,4-діоксан, 1-бутанол, трет-бутанол, 1,2-диметоксиетан (DME), ДМФА, 2-пропанол, толуен або етанол, або їх комбінації.

У деяких варіантах реалізації винаходу, основа являє собою неорганічну основу. У деяких варіантах реалізації винаходу, основа являє собою органічну основу. У деяких варіантах реалізації винаходу, основа являє собою карбонат лужного металу (наприклад,  $K_2CO_3$  або  $Na_2CO_3$ ). У деяких варіантах реалізації винаходу, основа являє собою карбонат калію ( $K_2CO_3$ ) або CsF. У деяких варіантах реалізації винаходу, застосовують від двох до п'яти еквівалентів основи (наприклад,  $K_2CO_3$ , CsF).

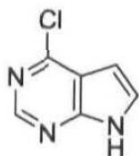
У деяких варіантах реалізації винаходу, реакцію Сузукі проводять при температурі від приблизно 80 °C до приблизно 100 °C. У деяких варіантах реалізації винаходу реакцію проводять протягом від двох до дванадцяти годин. У деяких варіантах реалізації винаходу сполуки Формули II або IIa можуть бути необов'язково виділені після водної обробки реакційної суміші реакції Сузукі або використані безпосередньо.

В іншому аспекті даний винахід відноситься до способів отримання сполуки Формули IIa, що включає приведення в контакт сполуки Формули IIIa:



IIIa

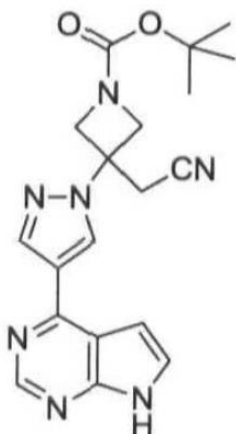
зі сполукою Формули IVa:



IVa

в умовах реакції Сузукі з утворенням сполуки Формули IIa:

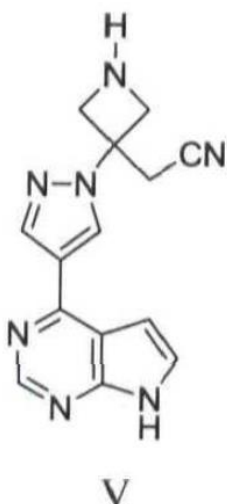




IIIa,

причому умови реакції Сузукі включають нагрівання реакційної суміші, яка містить сполуку  
 5 Формули IIIa, сполуку Формули IVa, [1,1'- бис(дициклогексилфосфіно)фероцен]дихлоропаладій  
 (II), фторид цезію, і компоненту розчинника, причому компонента розчинника містить воду і  
 трет-бутанол.

Способи отримання сполук Формули II або IIa додатково можуть включати зняття захисту  
 зі сполуки Формули II з отриманням сполуки Формули V:

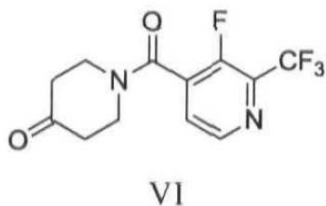


V

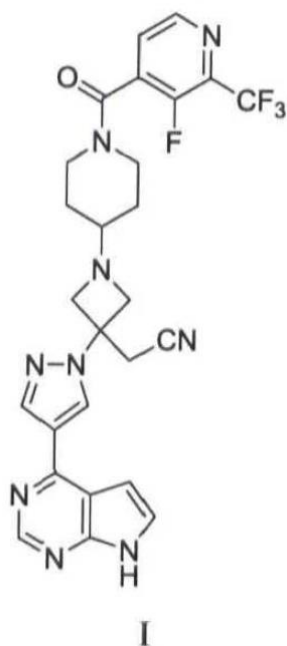
10

або її солі. Зняття захисту може включати приведення в контакт сполуки Формули II або  
 Формули IIa з хлороводною кислотою (наприклад, приблизно 5 М хлороводною кислотою) у  
 другій компоненті розчинника (наприклад, воді і дихлорометані). У деяких варіантах реалізації  
 винаходу, хлороводню кислоту застосовують у кількості від 5 до 8 еквівалентів в розрахунку  
 15 на сполуку Формули II. У даному описі "друга" у виразі "друга компонента розчинника"  
 використовують для розрізнення компоненти розчинника від інших компонентів розчинника, що  
 використовуються на більш ранніх або більш пізніх етапах способів і не вказує, що обидва  
 розчинника повинні бути присутніми.

20 У деяких варіантах реалізації винаходу, сполука Формули V, або їх сіль, далі приводиться в  
 контакт зі сполукою Формули VI:



в присутності відновлюючого агента з утворенням сполуки Формули I:



5

або її солі.

У деяких варіантах реалізації винаходу, відновлюючий агент, який являє собою  
 10 ціаноборогідрід натрію або триацетоксиборогідрід натрію, або їх солі, додатково приводять у  
 контакт зі сполукою Формули VI. У деяких варіантах реалізації винаходу, відновлюючий агент  
 являє собою триацетоксиборогідрід натрію. У деяких варіантах реалізації винаходу,  
 застосовують більш ніж 1 еквівалент (наприклад, 2 еквівалента) триацетоксиборогідріду натрію  
 в розрахунку на сполуку Формули V.

Відновлюючим агентом може бути будь-який відновлюючий агент, придатний для  
 15 використання у відновному амінуванні, в тому числі різні борогідридні і боран-вмісні  
 відновлюючі агенти, такі, як описані в Ellen W. Baxter і Allen B. Reitz, Reductive Aminations of  
 Carbonyl Compounds with Borohydride and Borane Reducing Agents, Organic Reactions, Chapter 1,  
 Pages 1-57 (Wiley, 2002), яка включена в повному обсязі в даний документ за допомогою  
 20 посилання. Необмежуючі класи придатних відновників включають борогідрид, ціаноборогідрід,  
 три(C<sub>1-4</sub> ацил)оксиборогідрід (наприклад, похідні триацетоксиборогідриду), 9-  
 боробіцикло[3.3.1]нонангідрид, три(C<sub>1-4</sub> алкіл)борогідрид, і діізопінокамptілціаноборогідридні  
 похідні, аміноборани, боран-піридин, і алкіламіни боранів. Необмежуючі приклади підходящих  
 відновлюючих агентів включають ціаноборогідрид натрію, триацетоксиборогідрид натрію, ціано-  
 9-боробіцикло[3.3.1]нонангідрид натрію, ціаноборогідрид тетрабутиламонію, ціаноборогідрид на  
 25 твердому носії, триацетоксиборогідрид тетраметиламонію, триацетоксиборогідрид натрію,  
 триетилборогідрид літію, три(втор-бутил)борогідрид літій, діізопінокамptілціаноборогідрид  
 натрій, катехол боран, боран тетрагідрофуран, борогідрид натрію, борогідрид калію, борогідрид  
 літію, паладій в присутності газоподібного водню, 5-етил-2-метилпіридинборан (РЕМВ), 2-  
 піколінборан або триацетоксиборогідрид на полімерному носії. У деяких варіантах реалізації  
 30 винаходу, будь-який з вищезазначених, і, переважно, ціаноборогідрид натрію, використовують у  
 поєднанні з добавкою титану (IV), дегідратуючого агента, або добавки галогеніду цинку. У  
 деяких варіантах реалізації винаходу, відновлюючий агент являє собою тетра(C<sub>1-4</sub> алкіл)амонію  
 ціаноборогідрид або триацетоксиборогідрид, ціаноборогідрид лужного металу або

триацетоксиборогідрид або ціаноборогідрид лужноземельного або триацетоксиборгідрид. У деяких варіантах реалізації винаходу, відновлюючий агент являє собою ціаноборогідрид лужного металу. У деяких варіантах реалізації винаходу, відновлюючий агент вибраний з

5 винаходу, відновник являє собою триацетоксиборогідрид натрію. Як використовується в даному документі, добавка титану (IV) являє собою кислоту Льюїса, яка містить титан (IV) (наприклад, тетрахлорид титану, ізопропоксид титану, етоксид титану і т.д.).

У деяких варіантах реалізації винаходу, сполука Формули V, або її сіль являє собою 2-(3- 4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрилдигідрохлорид. У

10 деяких варіантах реалізації винаходу, приведення в контакт здійснюють у присутності щонайменше двох еквівалентів другої основи. У деяких варіантах реалізації винаходу, друга основа являє собою третинний амін (наприклад, триетиламін). Як використовується в даному документі, "другий" у фразі "друга основа" використовують для розрізнення основи від інших основ, що використовуються на більш ранніх або більш пізніх етапах способу і не означає, що

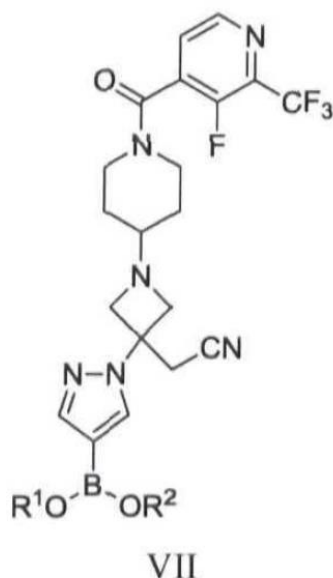
15 обидві основи повинні бути присутніми.

У деяких варіантах реалізації винаходу, застосовують більш, ніж 1 еквівалент сполуки Формули VI по відношенню до сполуки Формули V, або її солі.

У деяких варіантах реалізації винаходу, приведення в контакт сполуки Формули V, або її солі зі сполукою Формули VI виконують в розчиннику дихлорометані.

20 У деяких варіантах реалізації винаходу, спосіб додатково включає приведення в контакт сполуки Формули I з адипінової кислотою з отриманням солі адіпіната сполуки Формули I.

В іншому аспекті, в даному винаході приведено сполуку Формули VII:



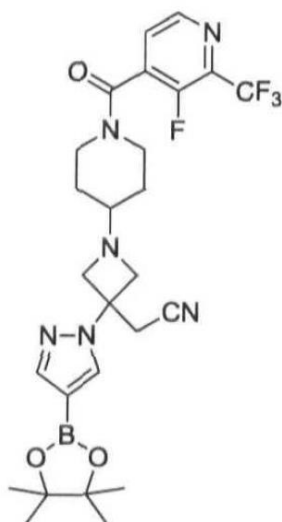
25 або її сіль; де:

$R^1$  і  $R^2$  кожен незалежно являє собою H або  $C_{1-6}$  алкіл; або

$R^1$  і  $R^2$ , разом з двома атомами Оксигену, до яких вони приєднані, і атомом Бору, до якого приєднані атоми Оксигену, утворюють 5- або 6-членне гетероциклоалкільне кільце, яке

30 необов'язково заміщене 1, 2, 3 або 4  $C_{1-4}$  алкільними групами.

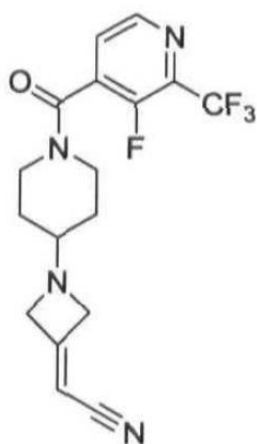
У деяких варіантах реалізації винаходу, сполука Формули VII являє собою сполуку Формули VIIa:



VIIa

або її сіль.

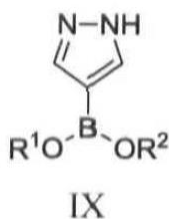
У даному винаході також наведено спосіб отримання сполуки Формули VII, що включає  
5 приведення в контакт сполуки Формули VIII:



VIII

зі сполукою Формули IX:

10



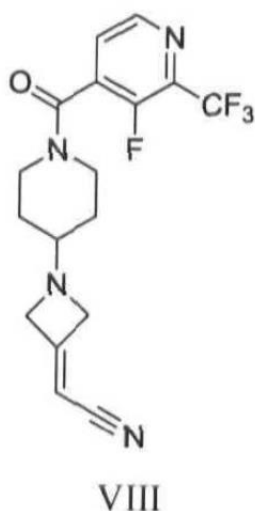
IX

у присутності агента крос-поєднання з отриманням сполуки Формули VII; де:

R¹ і R² кожен незалежно являє собою H або C<sub>1-6</sub> алкіл; або

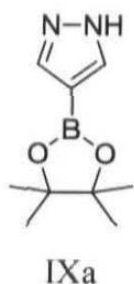
15 R¹ і R², разом з двома атомами Оксигену, до яких вони приєднані, і атомом Бору, до якого приєднані атоми Оксигену, утворюють 5- або 6-членне гетероциклоалкільне кільце, яке необов'язково заміщене 1, 2, 3 або 4 C<sub>1-4</sub> алкільними групами.

У деяких варіантах реалізації винаходу, спосіб включає отримання сполуки Формули VIIa, що включає приведення в контакт сполуки Формули VIII:

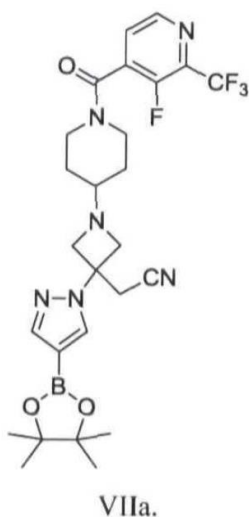


зі сполукою Формули IXa:

5



у присутності агента зв'язування з отриманням сполуки Формули VIIa:



10

У деяких варіантах реалізації винаходу, агент зв'язування для приведення в контакт сполуки Формули VIII зі сполукою Формули IX або сполукою Формули IXa, являє собою 1,8-діазабіцикло[5,4,0]ундецен. У деяких варіантах реалізації винаходу, від приблизно 1,05 до приблизно 1,2 еквівалентів (наприклад, 1,12 еквіваленти) агента зв'язування використовують в розрахунку на кількість сполуки Формули VIII.

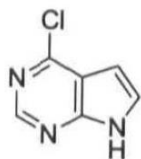
15

У деяких варіантах реалізації винаходу, приведення в контакт сполуки Формули VIII зі сполукою Формули IX або IXa проводять в розчиннику, що містить ацетонітрил при температурі від приблизно 40 °C до приблизно 60 °C. У деяких варіантах реалізації винаходу, від 1 до 1,2

еквівалентів сполуки Формули IX або IXa використовують в розрахунку на кількість сполуки Формули VIII.

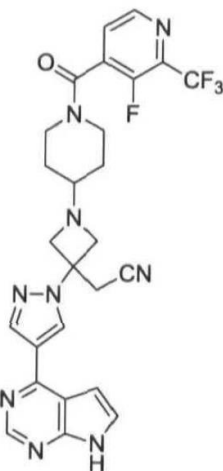
У деяких варіантах реалізації винаходу, сполуку Формули VIIa приводять у контакт зі сполукою Формули IVa:

5



IVa

в умовах реакції Сузукі з утворенням сполуки Формули I:



I,

10

причому умови реакції Сузукі включають нагрівання реакційної суміші, яка містить сполуку Формули VIIa, сполуку Формули IVa, каталізатор реакції Сузукі, основу та другу компоненту розчинника.

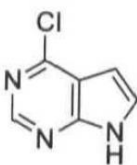
У деяких варіантах реалізації винаходу, каталізатор Сузукі являє собою тетракіс(трифенілфосфін)паладій (0). У деяких варіантах реалізації винаходу, основа (наприклад, бікарбонат натрію) присутня в кількості 4 еквівалентів або більше (наприклад, 5 еквівалентів) у розрахунку на кількість сполуки Формули VII або VIIa.

У деяких варіантах реалізації винаходу, друга компонента розчинника містить 1,4-діоксан і воду, наприклад, 1:1 в об'ємному співвідношенні.

У деяких варіантах реалізації винаходу, сполуки Формули VII або VIIa, і IVa, присутні в приблизно молярному співвідношенні приблизно 1:1.

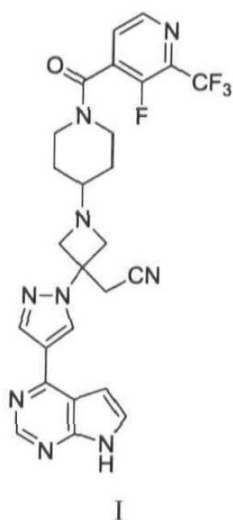
У деяких варіантах реалізації винаходу, сполуки Формули VIIa приводять в контакт зі сполукою Формули IVa:

25

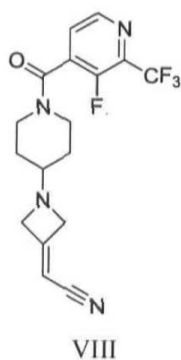


IVa

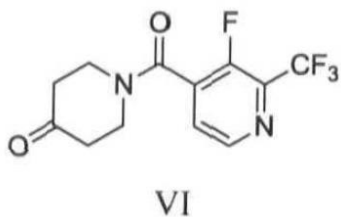
в умовах реакції Сузукі з отриманням сполуки Формули I:



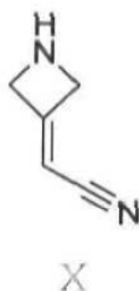
- причому умови реакції Сузукі включають нагрівання реакційної суміші, яка містить сполуку  
 5 Формули VIIa, сполуку Формули IVa, тетракіс(трифенілфосфін)паладій (0), бікарбонат натрію, і  
 другу компоненту розчинника, причому друга компонента розчинника містить воду і 1,4-діоксан.  
 В іншому аспекті, в даному винаході також запропонована сполуку Формули VIII:



- 10 або її сіль.  
 В ще одному аспекті, даний винахід відноситься до способу отримання сполуки Формули  
 VIII, або її солі, що включає приведення в контакт сполуки Формули VI:



- 15 зі сполукою Формули X:



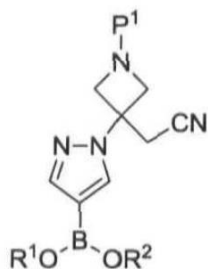
або її сіллю, у присутності відновлюючого агента.

У деяких варіантах реалізації винаходу, сполука Формули X, або її сіль, являє собою 2-(азетидин-3-іліден)ацетонітрил гідрохлорид.

5 У деяких варіантах реалізації винаходу, приведення в контакт сполуки Формули VI і сполуки Формули X, або її солі, проводять у присутності відновлюючого агента, такого як ціаноборогідрид натрію або триацетоксиборогідрид натрію (наприклад, триацетоксиборогідрид натрію). Від приблизно 1,5 до приблизно 2,5 еквівалентів (наприклад, 2 еквіваленти) відновника можуть бути застосовані у розрахунку на кількість сполуки Формули X, або її солі.

10 У деяких варіантах реалізації винаходу, приведення в контакт сполуки Формули VI і сполуки Формули X, або її солі, здійснюють в компоненті розчинника, який містить дихлорометан.

В ще одному аспекті, даний винахід пропонує сполуку Формули III:



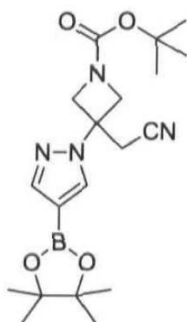
15 III

або її солі; де:

R<sup>1</sup> і R<sup>2</sup> кожен незалежно являє собою H або C<sub>1-6</sub> алкіл; або

20 R<sup>1</sup> і R<sup>2</sup>, разом з двома атомами Оксигену, до яких вони приєднані, і атомом Бору, до якого приєднані атоми Оксигену, утворюють 5- або 6-членне гетероциклоалкільне кільце, яке необов'язково заміщене 1, 2, 3 або 4 C<sub>1-4</sub> алкільними групами.

У деяких варіантах реалізації винаходу сполука Формули III являє собою сполуку Формули IIIa:

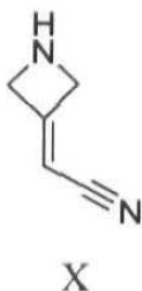


25 IIIa

або її сіль.

В іншому аспекті, в даному винахід пропонується спосіб отримання сполуки Формули III, що включає приведення в контакт сполуки Формули X:

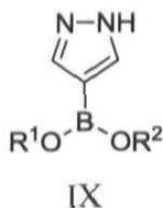
30



X



або її солі, зі сполукою Формули IX:



5

у присутності агента зв'язування з отриманням сполуки Формули III, або її солі; де

$R^1$  і  $R^2$  кожен незалежно являє собою H або  $C_{1-6}$  алкіл; або

$R^1$  і  $R^2$ , разом з двома атомами Оксигену, до яких вони приєднані, і атомом Бору, до якого приєднані атоми Оксигену, утворюють 5- або 6-членне гетероциклоалкільне кільце, яке

10

необов'язково заміщене 1, 2, 3 або 4  $C_{1-4}$  алкільними групами.  
У деяких варіантах реалізації винаходу, агент зв'язування, що застосовується для приведення в контакт сполуки Формули X, або її солі, зі сполукою Формули IX, являє собою 1,8-діазабіцикло[5,4,0]ундецен. У деяких варіантах реалізації винаходу, застосовують від 0,1 до 0,2 еквіваленти агента зв'язування в розрахунку на кількість сполуки Формули X, або її солі.

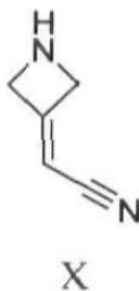
15

У деяких варіантах реалізації винаходу, приведення в контакт сполуки Формули X, або її солі, зі сполукою Формули IX здійснюють в компоненті розчинника, що містить ізопропіловий спирт, наприклад, при температурі від приблизно 70° C до приблизно 90° C.

У деяких варіантах реалізації винаходу, застосовують від 1 до 1,1 еквівалентів сполуки Формули IX у розрахунку на кількість сполуки Формули X, або її солі.

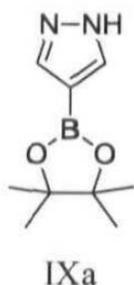
20

В ще одному аспекті, даний винахід пропонує спосіб отримання сполуки Формули IIIa, що включає приведення в контакт сполуки Формули X:



25

зі сполукою Формули IXa:



у присутності агента зв'язування з утворенням сполуки Формули III.

30

У деяких варіантах реалізації винаходу, агент зв'язування, що застосовується у приведенні в контакт сполуки Формули X зі сполукою Формули IXa являє собою 1,8-діазабіцикло[5,4,0]ундецен. У деяких варіантах реалізації винаходу, застосовують від 0,1 до 0,2 еквіваленти агента зв'язування в розрахунку на кількість сполуки Формули X.

35

У деяких варіантах реалізації винаходу, приведення в контакт сполуки Формули X зі сполукою Формули IXa здійснюють в компоненті розчинника, який містить ізопропіловий спирт, наприклад, при температурі від приблизно 70° C до приблизно 90° C.

У деяких варіантах реалізації винаходу, застосовують від 1 до 1,1 еквівалентів сполуки Формули IXa в розрахунку на кількість сполуки Формули X.

#### Застосування

Сполука Формули I, 1-{1-[3-флуоро-2- (трифлуорометил)ізонікотиноіл]піперидин-4-іл}-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил, є інгібітором JAK (наприклад, JAK1, JAK2). Інгібітори JAK застосовують при лікуванні різних JAK-асоційованих захворювань або розладів. Приклади JAK-асоційованих захворювань включають захворювання, пов'язані з імунною системою, включаючи, наприклад, відторгнення трансплантованого органу (наприклад, відхилення алотрансплантату і реакція "трансплантат проти хазяїна"). Додаткові приклади JAK-асоційованих захворювань включають аутоімунні захворювання, такі як розсіяний склероз, ревматоїдний артрит, ювенільний артрит, псоріатичний артрит, діабет типу I, вовчак, псоріаз, запальне захворювання кишківника, виразковий коліт, хвороба Крона, міастенія, нефропатія імуноглобулінів, міокардит, аутоімунні захворювання щитовидної залози, хронічна обструктивна хвороба легень (ХОХЛ), тощо. У деяких варіантах реалізації винаходу, аутоімунні захворювання являють собою бульозні аутоімунні захворювання шкіри, такі як пухирчатка звичайна (ПЗ) або бульозний пемфігоїд (БП).

Додаткові приклади JAK-асоційованих захворювань включають алергічні стани такі як астма, харчова алергії, екзематозні дерматити, контактний дерматит, переміщений атопічний дерматит (екзема) та риніт. Додаткові приклади JAK-асоційованих захворювань включають вірусні захворювання, такі як вірус Епштейн-Барра (ВЕБ), гепатит Б, гепатит С, ВІЛ, HTLV 1, вірус вітряної віспи (ВВВ) і вірус папіломи людини (ВПЛ).

Додаткові приклади JAK-асоційованих захворювань включають захворювання, пов'язані з обертом хряща, наприклад, подагричний артрит, септичний або інфекційний артрит, реактивний артрит, рефлекторна симпатична дистрофія, алгодистрофія, синдром Тітце, реберна артропатія, ендемічний деформуючий остеоартроз, хвороба Мселені, хвороба Хандігоду, дегенерація в результаті фіброміалгії, системний червоний вовчак, склеродермія, або анкілозуючий спондиліт.

Додаткові приклади JAK-асоційованих захворювань включають вроджені вади розвитку хряща, в тому числі спадковий хондроліз, хондродисплазію і остіохондродисплазію (наприклад, мікротія, аномалія і хондродисплазія метафізу).

Додаткові приклади JAK-асоційованих захворювань або паталогічних станів включають шкірні захворювання, такі як псоріаз (наприклад, псоріазу), атопічний дерматит, шкірний висип, подразнення шкіри, підвищена чутливість шкіри (наприклад, контактний дерматит або алергічний контактний дерматит). Наприклад, деякі речовини, включаючи деякі лікарські препарати при місцевому застосуванні, можуть викликати подразнення шкіри. У деяких варіантах реалізації винаходу, одночасне введення або послідовне введення щонайменше одного інгібітору JAK у відповідності з даним винаходом з агентом викликають небажану сенсibiliзацію, можуть бути корисні в лікуванні такої небажаної сенсibiliзації або дерматиту. У деяких варіантах реалізації винаходу, захворювання шкіри лікують за допомогою місцевого введення щонайменше одного інгібітора JAK за даним винаходом.

Додаткові приклади JAK-асоційованих захворювань або станів включають такі, які характеризуються солідними пухлинами (наприклад, рак передміхурової залози, рак нирки, рак печінки, рак підшлункової залози, рак шлунка, рак молочної залози, рак легень, рак голови і ший, рак щитовидної залози, гліобластома, саркома Капоші, хвороба Кастлемана, лейоміосаркома матки, меланома і т.д.), гематологічний рак (наприклад, лімфома, лейкомія, така як гострий лімфобластний лейкоз (ГПЛ), гострий мієлобластний лейкоз (ГМЛ) або множинна мієлома), рак шкіри і, наприклад, шкірна Т-клітинна лімфома (СТСЛ) і шкірна В-клітинна лімфома. Приклад СТСЛ включають синдром Сезарі і фунгоїдний мікоз. Інші приклади JAK-асоційованих захворювань або станів включають легеневу артеріальну гіпертензію.

Інші приклади JAK-асоційованих захворювань або станів включають види раку, асоційовані з запаленням. У деяких варіантах реалізації винаходу, рак асоційований з запальним захворюванням кишківника. У деяких варіантах реалізації винаходу, запальне захворювання кишківника являє собою виразковий коліт. У деяких варіантах реалізації винаходу, хвороба запаленого кишківника являє собою хворобу Крона. У деяких варіантах реалізації винаходу, рак, асоційований з запаленням, являє собою коліт-асоційований рак. У деяких варіантах реалізації винаходу, рак, асоційований з запаленням, являє собою рак товстої кишки або колоректальний рак. У деяких варіантах реалізації винаходу, рак являє собою рак шлунку, шлунково-кишкову карциноїдну пухлину, шлунково-кишкову стромальну пухлину (GIST), аденокарциноми, рак тонкої кишки, або рак прямої кишки.

JAK-асоційовані захворювання можуть додатково включати захворювання, що характеризуються експресією: JAK2 мутантів, таких як ті, які мають принаймні одну мутацію в

область псевдо-кінази (наприклад, JAK2V617F); JAK2 мутантів, що володіють щонайменше однією мутацією поза області псевдо-кінази; JAK1 мутанти; JAK3 мутантів; мутантів рецепторів еритропоєтину (EpoR); або дисрегульованою експресією CRLF2.

JAK-асоційовані захворювання можуть додатково включати мієлопроліферативні розлади (МПР), такі як істинна поліцитемія (ІП), ефірна тромбоцитемія (ЕТ), мієлофіброз з мієлоїдною метаплазією (МММ), первинний мієлофіброз (ПМФ), хронічний мієлолейкоз (ХМЛ), хронічна мієломоноцитарна лейкемія (ХММЛ), гіпереозінофільний синдром (ГЕС), системний мастоцитоз (СМЦ), тощо. У деяких варіантах реалізації винаходу, мієлопроліферативний розлад являє собою мієлофіброз (наприклад, первинний мієлофіброз (ПМФ) або після справжню поліцитемію/основну тромбоцитемію мієлофіброзу (Post-PV/Post-ET MF)). У деяких варіантах реалізації винаходу, мієлопроліферативний розлад являє собою пост-основну тромбоцитемію мієлофіброзу (Post-ET MF). У деяких варіантах реалізації винаходу, мієлопроліферативний розлад являє собою пост-справжню поліцитемію мієлофіброзу (Post-PV MF).

Інші приклади JAK-асоційованих захворювань або паталогічних станів включають полегшення дерматологічних побічних ефектів від інших лікарських препаратів шляхом введення сполуки за даним винаходом. Наприклад, численні фармацевтичні агенти призводять до небажаних алергічних реакцій, які можуть проявлятися у вигляді вугрового висипу або пов'язані з дерматитом. Приклади фармацевтичних агентів, які мають такі небажані побічні ефекти, включають протиракові препарати, такі як гефітініб, цетуксимаб, ерлотиніб тощо. Сполуки за даним винаходом можуть бути введенні системно або місцево (наприклад, локалізовані поблизу дерматиту) у поєднанні з (наприклад, одночасно або послідовно) фармацевтичним агентом, що має небажані дерматологічні побічні ефекти. У деяких варіантах реалізації винаходу, сполуки по даному винаходу можуть бути введення місцево разом з одним або більше, фармацевтичним препаратом, де інші фармацевтичні препарати, при систематичному застосуванні за відсутності сполук за даним винаходом, викликають контактний дерматит, алергічні контактні сенсibiliзації або подібні захворювання шкіри. Відповідно, композиції за даним винаходом включають справжні композиції, які містять сполуки за даним винаходом і додатково фармацевтичний агент, який може викликати дерматит, шкірні захворювання або має пов'язані з цим побічні ефекти.

Додатково JAK-асоційовані захворювання включають запалення і запальні захворювання. Приклади запальних захворювань включають саркоїдоз, запальні захворювання ока (наприклад, ірит, увеїт, склерит, кон'юнктивіт, або схожих захворювань), запальні захворювання дихальних шляхів (наприклад, верхніх дихальних шляхів, включаючи ніс і пазухи, таких як риніт або синусит, або нижніх дихальних шляхів, включаючи бронхіт, хронічну обструктивну хворобу легенів, тощо), запальна міопатія, така як міокардит, та інших запальні захворювання. У деяких варіантах реалізації винаходу, запальні захворювання очей являє собою блефарит.

Додатково JAK-асоційовані захворювання включають ішемію реперфузії пошкодження або захворювання, або стану, що відноситься до запальних ішемічних явищ, таких як інсульт або зупинка серця, ендотоксин-керовані хворобливі стани (наприклад, ускладнень після операції шунтування або хронічних станів ендотоксину, що сприяють хронічній серцевій недостатності), анорексія, кахексія, втома, яка є результатом або пов'язана з раком, рестеноз, склеродерміти, фібрози, стани, пов'язані з гіпоксією або астрогліозом, такі як, наприклад, діабетична ретинопатія, рак, або нейродегенерація та інші запальні захворювання, такі як синдром системної запальної відповіді (ССЗВ) і септичний шок.

Інші JAK-асоційовані захворювання включають подагру і збільшений розмір простати через, наприклад, доброякісну гіпертрофію передміхурової залози або доброякісну гіперплазію передміхурової залози, а також захворювання кісткової резорбції, такі як остеопороз або остеоартрит, захворювання кісткової резорбції, пов'язані з: гормональним дисбалансом і/або гормональною терапією, аутоімунними захворюваннями (наприклад, кістковим саркоїдозом), або раком (наприклад, мієломою).

Додатково JAK-асоційовані захворювання включають "розлади сухого ока". Як використовують в даному документі, "розлад сухого ока" охоплює хворобливі стани, узагальнені в недавній офіційній доповіді про семінар-практикум Сухе Око (СПСО), який визначив сухе око, як "багатофакторну хворобу сліз і очної поверхні, що призводить до симптомів дискомфорту, порушення зору, і нестійкості слезоточивої плівки з потенціалом пошкодження очної поверхні." Це супроводжується збільшенням осмолярності слізної плівки і запаленням очної поверхні." Lemp," The Definition and Classification of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop ", The Ocular Surface, 5 (2), 75-92 квітня 2007, який включений в повному обсязі в даний документ за допомогою посилання. У деяких варіантах реалізації винаходу, розлад сухого ока вибраний з водного дефіциту сліз

сухого ока (ВДСО), або випаровуючого розладу сухого ока, або відповідні їх комбінації. У деяких варіантах реалізації винаходу розлад сухого ока являє собою Шегреновський синдром сухого ока (ШССО). У деяких варіантах реалізації винаходу розлад сухого ока являє собою не-Шегреновський синдром сухого ока (НШССГ).

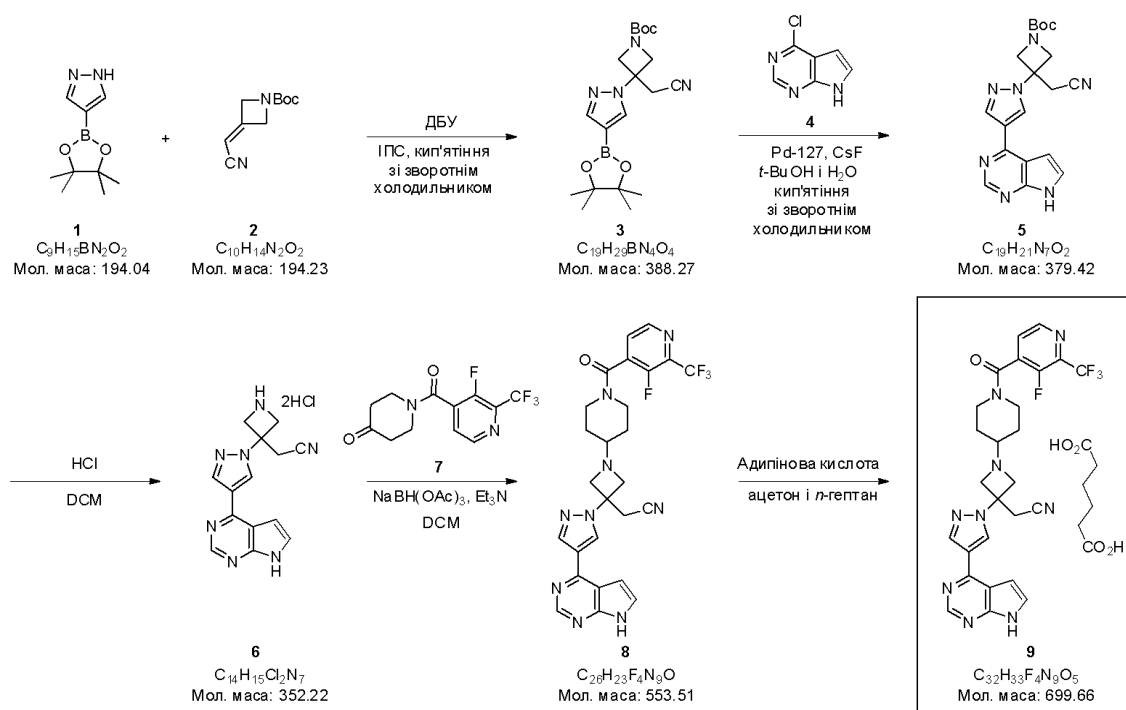
- 5 Додатково JAK- асоційовані захворювання включають кон'юнктивіт, увеїт (у тому числі хронічний увеїт), хоріодит, ретиніт, цикліт, склерит, епісклерит, або ірит. Інші JAK- асоційовані захворювання включають дихальну дисфункцію або відмову, пов'язану з вірусною інфекцією, наприклад, на грип та ГРВІ.

Приклади

- 10 Даний винахід буде описаний більш докладно за допомогою конкретних прикладів. Наступні приклади представлені з метою ілюстрації і не призначені для обмеження винаходу будь-яким чином. Фахівці в даній області техніки легко зрозуміють різні некритичні параметри, які можуть бути змінені або модифіковані, щоб привести, по суті, до тих самих результатів.

- 15 Приклад 1. Синтез 2-(3-(4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл)- 1-(1-(3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиноіл)піперидин-4-іл)азетидин- 3-іл)ацетонітрил адіпінат (9)

Схема I



- 20 трет-Бутил 3-(ціанометил)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразол-1-іл)азетидин-1-карбоксилат (3). В 1 л колбу, обладнану впускним отвором для азоту, термopарою і механічною мішалкою послідовно додавали ізопропанол (ІПС, 200 мл), 1,8-діазабіцикло[5,4,0]ундецен (ДБУ, 9,8 г, 64,4 ммоль, 0,125 екв), 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразол (1, 101 г, 520,51 ммоль, 1,01 екв) і трет-бутил-3-(ціанометил)азетидин-1-карбоксилат (2, 100 г, 514,85 ммоль) при кімнатній температурі, щоб генерувати реакційну суміш у вигляді суспензії. Отриману реакційну суміш нагрівали зі зворотнім холодильником протягом 30 хвилин з отриманням гомогенного розчину, і суміш витримували при кип'ятінні зі зворотнім холодильником протягом додаткових 2-3 год. Після того, як реакція була завершена, контроль здійснювали за ВЕРХ, *n*-гептан (400 мл) поступово додавали до реакційної суміші протягом 45 хвилин при підтримці кипіння суміші зі зворотним холодильником. Сухий залишок осаджували під час додавання *n*-гептану. Після завершення додавання *n*-гептану, суміш поступово охолоджували до кімнатної температури і перемішували при температурі навколишнього середовища протягом додаткової 1 години. Твердий залишок був зібраний при фільтрації, промитий *n*-гептаном (200 мл) і висушений під вакуумом при 50 °C зі встановленням рівноваги з азотом до постійної маси з отриманням трет-бутил-3-(ціанометил)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразол-1-іл)азетидин-1-карбоксилату (3, 181 г, 199,9 г теоретичний, 90,5%) у вигляді від білої до блідо-жовтої твердої речовини. Для 3:

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,31 (с, 1H), 7,74 (с, 1H), 4,45 - 4,23 (м, 2H), 4,23 - 4,03 (м, 2H), 3,56 (с, 2H), 1,38 (с, 9H), 1,25 (с, 12H) м.ч.; <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 155,34, 145,50, 135,88, 116,88, 107,08 (роз), 83,15, 79,36, 58,74 (роз), 56, 28, 27,96, 26,59, 24,63 м.ч.; C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> (М.м. 388,27), РХ-МС (EI) m/e 389 (M<sup>+</sup> + H).

5 трет-Бутил-3-(4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)-3-(ціанометил)-азетидин-1-карбоксилат (5). В 1 л колбу, обладнану впускним отвором для азоту, термopарою і механічною мішалкою, додавали 4-хлоро-7H-піроло[2,3-d]піримідин (4,39, 6 г, 257,6 ммоль), трет-бутил-3-(ціанометил)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразол-1-іл)азетидин-1-карбоксилат (3, 100 г, 257,6 ммоль, 1,0 екв), фторид цезію (136,9 г, 901,4 ммоль, 3,5 екв), трет-бутанол (250 мл), воду (250 мл), і [1,1'-біс(дициклогексилфосфіно)фероцен]дихлоропаладій (II) (Pd-127, 351,4 мг, 0,46 ммоль, 0.0018 екв) при кімнатній температурі. Отриману реакційну суміш дегазовували і заповнювали азотом 3 рази, перш ніж нагріти до температури кипіння, і витримували при кипінні зі зворотнім холодильником в атмосфері азоту протягом 20-24 годин. Коли дані ВЕРХ показали, що реакція завершена, реакційну суміш охолоджували до 45-55 °С 30 хв, відбулася поділ на дві фази, водну фазу відкидали. В органічну фазу додавали n-гептан (125 мл) протягом 30 хвилин при 45 - 55 °С. Отриману суміш повільно охолоджували до температури навколишнього середовища протягом однієї години і перемішували при температурі навколишнього середовища протягом додаткових 2 годин. Твердий залишок збирали фільтруванням, промивали n-гептаном (100 мл), і сушили під вакуумом при 50 °С зі встановленням рівноваги з азотом до постійної маси з отриманням трет-бутил-3-(4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)-3-(ціанометил)-азетидин-1-карбоксилату (5, 96,8 г, 97,7 г теоретичний, 99%) у вигляді блідо-жовтої твердої речовини. Для 5: <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,89 (с, 1H), 8,68 (с, 1H), 8,44 (с, 1H), 7,60 (д, J = 3,5 Гц, 1H), 7,06 (д, J = 3,6 Гц, 1H), 4,62 - 4,41 (м, 2H), 4,31 - 4,12 (м, 2H), 3,67 (с, 2H), 1,39 (с, 9H) м.ч.; <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 155,40, 152,60, 150,63, 149,15, 139,76, 129,53, 127,65, 122,25, 116,92, 113,21, 99,71, 79,45, 58,34 (роз), 56,80, 27,99, 26,83 м.ч.; C<sub>19</sub>H<sub>21</sub>N<sub>7</sub>O<sub>2</sub> (М.м. 379,4), РХ-МС (EI) m/e 380 (M<sup>+</sup> + H).

2-(3-(4-(7H-Піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрил дигідрохлорид (6). У 0,5-літрову колбу, забезпечену впускним отвором для азоту, термopарою, додатковою лійкою і механічною мішалкою, були додані трет-бутил-3-(4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)-3-(ціанометил)азетидин-1-карбоксилат (5, 15 г, 39,5 ммоль), вода (7,5 мл, 416 ммоль) і дихлорометан (75 мл) при кімнатній температурі. Суміш перемішували при кімнатній температурі до отримання суспензії. До суспензії був доданий розчин 5М хлориду водню (HCl) в ізопропанолі (55 мл, 275 ммоль, 7,0 екв) протягом 5 хвилин. Отриману реакційну суміш нагрівають при слабкому кипінні і витримують при кипінні протягом 3-4 годин. Після того як реакція була завершена, що контролювали за допомогою ВЕРХ, трет-бутилметилловий етер (TBME, 45 мл) додавали до реакційної суспензії. Суміш поступово охолоджували до кімнатної температури і перемішували протягом ще однієї години. Твердий залишок збирали фільтруванням, промивали трет-бутилметилловим етером (TBME, 45 мл) і сушили під вакуумом при 50 °С зі встановленням рівноваги з азотом до постійної маси з отриманням дигідрохлоридної солі 2-(3-(4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрилу (6, 13,6 г, 13,9 г теоретичний, 98%) у вигляді від майже білої до світло-жовтої твердої речовини. Для 6: <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 8,96 (с, 1H), 8,81 (с, 1H), 8,49 (с, 1H), 7,78 (д, J = 3,8 Гц, 1H), 7,09 (д, J = 3,7 Гц, 1H), 4,93 (д, J = 12,8 Гц, 2H), 4,74 (д, J = 12,5 Гц, 2H), 3,74 (с, 2H) м.ч.; <sup>13</sup>C ЯМР (101 МГц, D<sub>2</sub>O) δ 151,35, 143,75, 143,33, 141,33, 132,03, 131,97, 115,90, 114,54, 113,85, 103,18, 59,72, 54,45 (2C), 27,02 м.ч.; C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>7</sub> (C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>N<sub>7</sub> для вільної основи, М.м. 279,30), РХ-МС (EI) m/e 280 (M<sup>+</sup> + H).

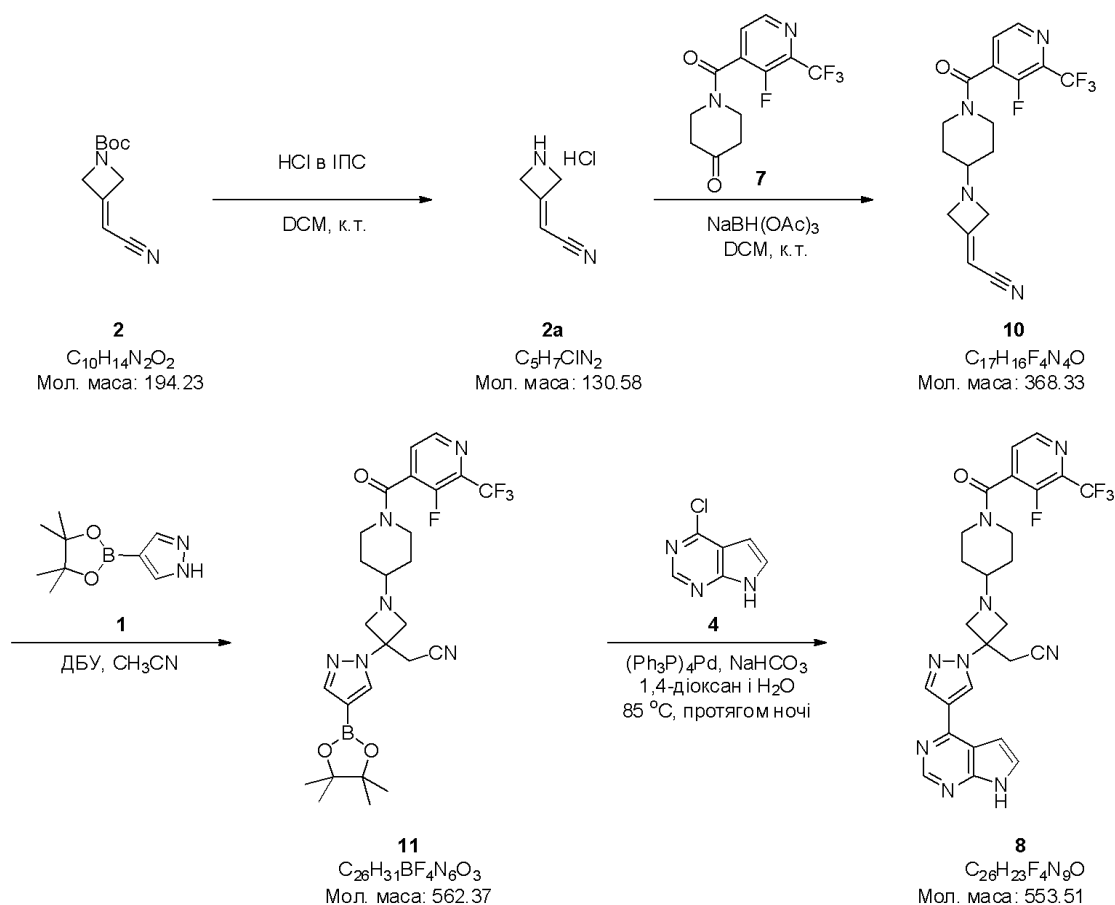
2-(3-(4-(7H-Піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)-1-(3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиніол)піперидин-4-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрил (8, вільна основа). У 0,5-літрову колбу, забезпечену впускним отвором для азоту, термopарою, додатковою лійкою і механічною мішалкою, були додані дигідрохлоридна сіль 2-(3-(4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрилу (6, 20 г, 56,78 ммоль), дихлорометан (200 мл) і триетиламін (TEA, 16,62 мл, 119,2 ммоль, 2,1 екв) при температурі навколишнього середовища. Суміш перемішували при температурі навколишнього середовища 30 хвилин до додавання 1-(3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиніол)піперидин-4-ону (7, 17,15 г, 57,91 ммоль, 1,02 екв) до суміші. Потім суміш обробляли триацетоксиборогідридом натрію (25,34 г, 113,6 ммоль, 2,0 екв) протягом 5 хвилин при температурі навколишнього середовища (нижче 26 °С). Отриману реакційну суміш перемішували при температурі навколишнього середовища 2 години. Після того, як реакція була завершена, що контролювали за допомогою ВЕРХ, реакційну суміш гасили насиченим водним розчином NaHCO<sub>3</sub> (200 мл). Дві фази розділяли і водну фазу екстрагували хлористим метилом (200 мл). Об'єднану органічну фазу промивали 4% сольовим розчином

(100 мл) з наступною заміною розчинника хлористого метилену на ацетон шляхом перегонки. Отриманий розчин бажаного сирого продукту (8) в ацетоні використовували безпосередньо для подальшого отримання солі адипінової кислоти. Невелику частину розчину очищали за допомогою колонкової хроматографії ( $\text{SiO}_2$ , 0-10% MeOH градієнтне елюювання в EtOAc) з отриманням аналітично чистого 2-(3-(4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл)-1-(1-(3-флуоро-2- (трифлуорометил)ізонікотиніол)піперидин-4-іл)азетидин-3-іл)ацетонитрилу (8 вільна основа) у вигляді майже білої твердої речовини. Для 8: 1Н ЯМР (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  12,17 (д,  $J = 2,8$  Гц, 1Н), 8,85 (с, 1Н), 8,70 (м, 2Н), 8,45 (с, 1Н), 7,93 (т,  $J = 4,7$  Гц, 1Н), 7,63 (дд,  $J = 3,6, 2,3$  Гц, 1Н), 7,09 (дд,  $J = 3,6, 1,7$  Гц, 1Н), 4,10 (м, 1Н), 3,78 (д,  $J = 7,9$  Гц, 2Н), 3,61 (т,  $J = 7,9$  Гц, 1Н), 3,58 (с, 2Н), 3,46 (м, 1Н), 3,28 (т,  $J = 10,5$  Гц, 1Н), 3,09 (ддд,  $J = 13,2, 9,5, 3,1$  Гц, 1Н), 2,58 (м, 1Н), 1,83 – 1,75 (м, 1Н), 1,70 – 1,63 (м, 1Н), 1,35 – 1,21 (м, 2Н) м.ч.; 13С ЯМР (101 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  160,28, (153,51, 150,86), 152,20, 150,94, 149,62, (146,30, 146,25), 139,48, (134,78, 134,61), (135,04, 134,92, 134,72, 134,60, 134,38, 134,26, 134,03, 133,92), 129,22, 127,62, 126,84, 121,99, 122,04, (124,77, 122,02, 119,19, 116,52), 117,39, 113,00, 99,99, 61,47, 60,49, 57,05, 44,23, 28,62, 27,88, 27,19 м.ч.;  $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{F}_4\text{N}_9\text{O}$  (М.м. 553,51), PX-МС (EI)  $m/e$  554,1 ( $\text{M}^+ + \text{H}$ ).

2-(3-(4-(7Н-Піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл)-1-(1-(3-флуоро-2- (трифлуорометил)ізонікотиніол)піперидин-4-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрил адіпінат (9). У 0,5-літрову колбу, забезпечену механічною мішалкою, термopарою, крапельною лійкою та краном для введення азоту, був доданий розчин неочищеного 2-(3-(4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл)- 1-(1-(3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиніол)піперидин-4-іл)азетидин-3-іл)ацетонитрилу (8 вільна основа, 31,38 г, 56,7 ммоль) в ацетоні (220 мл) і адипінову кислоту (8,7 г, 59,53 ммоль, 1,05 екв) при кімнатній температурі. Потім реакційну суміш нагрівали зі зворотнім холодильником для отримання розчину. н-Гептан (220 мл) поступово додавали до реакційної суміші при 40 - 50°C протягом однієї години. Отриману суміш поступово охолоджували до кімнатної температури протягом однієї години і перемішували при температурі навколишнього середовища протягом додаткових 16 годин. Твердий залишок збирали фільтруванням, промивали н-гептаном (2 X 60 мл), і сушили під вакуумом при 50 °C зі встановленням рівноваги з азотом до постійної маси з отриманням 2-(3-(4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл)-1-(1-(3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиніол)піперидин-4-іл)азетидин-3- іл)ацетонитрил адіпіната (9, 34,0 г, 39,7 г теоретичний, 85,6% для двох стадій) у вигляді від білої до зовсім білої твердої речовини. 9: 1Н ЯМР (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  12,16 (с, 1Н), 12,05 (роз с, 2Н), 8,85 (с, 1Н), 8,72 (с, 1Н), 8,69 (д,  $J = 4,7$  Гц, 1Н), 8,45 (с, 1Н), 7,93 (т,  $J = 4,7$  Гц, 1Н), 7,63 (дд,  $J = 3,6, 2,3$  Гц, 1Н), 7,09 (дд,  $J = 3,6, 1,7$  Гц, 1Н),  $\delta$  4,11 (дт,  $J = 11,0, 4,4$  Гц, 1Н), 3,77 (д,  $J = 7,8$  Гц, 2Н), 3,60 (т,  $J = 7,8$  Гц, 2Н), 3,58 (с, 2Н), 3,44 (дт,  $J = 14,4, 4,6$  Гц, 1Н), 3,28 (т,  $J = 10,4$  Гц, 1Н), 3,09 (ддд,  $J = 13,2, 9,6, 3,2$  Гц, 1Н), 2,58 (тт,  $J = 8,6, 3,5$  Гц, 1Н), 2,28 – 2,17 (м, 4Н), 1,83 – 1,74 (м, 1Н), 1,67 (д,  $J = 11,0$  Гц, 1Н), 1,59 – 1,46 (м, 4Н), 1,37 – 1,21 (м, 2Н) м.ч.; 13С ЯМР (101 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  174,38, 160,29, (153,52, 150,87), 152,20, 150,94, 149,63, (146,30, 146,25), 139,48, (134,79, 134,62), (135,08, 134,97, 134,74, 134,62, 134,38, 134,28, 134,04, 133,93), 129,21, 127,62, 126,84, 122,05, (124,75, 122,02, 119,29, 116,54), 117,39, 113,01, 99,99, 61,47, 60,50, 57,06, 44,24, 33,42, 30,70, 28,63, 27,89, 27,20, 24,07 м.ч.;  $\text{C}_{32}\text{H}_{33}\text{F}_4\text{N}_9\text{O}_5$  (М.м. 699,66;  $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{F}_4\text{N}_9\text{O}$  для вільної основи, М.м., 553,51), PX-МС (EI)  $m/e$  554,0 ( $\text{M}^+ + \text{H}$ ).

Приклад 2: Альтернативний синтез 2-(3-(4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4- іл)-1Н-піразол-1-іл)-1-(1-(3-флуоро-2- (трифлуорометил)ізонікотиніол)піперидин-4-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрилу

## Схема II



2-(Азетидин-3-іліден)ацетонітрил гідрохлорид (2а). У 0,5-літрову колбу, обладнану впускним отвором для азоту, термopарою і механічною мішалкою, 5 були додані трет-бутил-3-(ціанометил)азетидин-1-карбоксилат (2, 30 г, 154,46 ммоль) і метилєнхлорид (300 мл) при температурі навколишнього середовища. Потім розчин обробляли розчином 5М хлористого водню (HCl) в розчині ізопропанолу (294,2 мл, 1,54 моль, 10 екв) при температурі навколишнього середовища і отриману реакційну суміш перемішували при температурі навколишнього середовища 18 годин. Після завершення реакції, що визначали за допомогою ВЕРХ, додавали суспензію трет-бутилметилового етеру (ТБМЕ, 150 мл), і суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 2 годин. Твердий залишок збирали фільтруванням, промивали н-гептаном (2 X 100 мл), і сушили на фільтрувальній лійці при температурі навколишнього середовища протягом 3 годин для отримання 2- (азетидин-3-іліден)ацетонітрилу гідрохлориду (2а, 13,7 г, 20,2 г теоретичний, 67,8%) у вигляді білої твердої речовини. Для 2а:  $^1H$  ЯМР (500 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  9,99 (с, 2H), 5,94 (п, J = 2,5 Гц, 1H), 4,85 – 4,80 (м, 2H), 4,77 – 4,71 (м, 2H) м.ч.;  $^{13}C$  ЯМР (126 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  155,65, 114,54, 94,78, 55,26, 54,63 м.ч.;  $C_5H_7ClN_2$  (М.м. 130,58;  $C_5H_6N_2$  для вільної основи, М.м. 94,11), PX-МС (EI) m/e 95 ( $M^+ + H$ ).

2-(1-(1-(3-Флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиніол)піперидин-4-іл)азетидин-3-іліден)ацетонітрил (10). У 0,25 л колбу, обладнану впускним отвором для азоту, термopарою і магнітною мішалкою, були додані 2-(азетидин- 3-іліден)ацетонітрил гідрохлорид (2а, 4,5 г, 34,46 ммоль), 1- (3-флуоро-2- (трифлуорометил)ізонікотиніол)піперидин-4-он (7, 10 г, 34,46 ммоль, 1,0 екв), і метилєнхлорид (100 мл) при температурі навколишнього середовища і отриману суміш потім обробляли триацетоксиборогїдридом натрію (14,6 г, 68,93 ммоль, 2,0 екв) при температурі навколишнього середовища. Реакційну суміш перемішували при температурі навколишнього середовища 2 години перед гасінням насиченим розчином бікарбонату натрію ( $NaHCO_3$ ) у воді (50 мл). Дві фази розділили і водну фазу екстрагували дихлорометаном (200 мл).

Об'єднану органічну фазу промивали водою (50 мл) і насиченим розчином солі (50 мл) і концентрували при зниженому тиску з одержанням неочищеного бажаного продукту (10), який

очищали за допомогою колонкової хроматографії ( $\text{SiO}_2$ , 0 - 10% етилацетат в гексані при градієнтному елююванні) з отриманням 2-(1-(1-(3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиноїл)піперидин-4-іл)азетидин-3-іліден)ацетонітрилу (10, 9,5 г, 12,7 г теоретичний, 74,8%) у вигляді білої твердої речовини. Для 10:  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,57 (д,  $J = 4,7$  Гц, 1H), 7,54 (т,  $J = 4,6$  Гц, 1H), 5,29 (п,  $J = 2,4$  Гц, 1H), 4,18 – 4,08 (м, 1H), 4,08 – 4,03 (м, 2H), 3,98 – 3,94 (м, 2H), 3,57 – 3,39 (м, 2H), 3,17 – 3,04 (м, 1H), 2,56 (тт,  $J = 7,4$ , 3,5 Гц, 1H), 1,86 – 1,77 (м, 1H), 1,75 – 1,64 (м, 1H), 1,54 – 1,43 (м, 1H), 1,43 – 1,31 (м, 1H) м.ч.;  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  161,34, 160,73, 152,62 (д,  $J = 269,1$  Гц), 145,75 (д,  $J = 6,1$  Гц), 136,73 (qd,  $J = 36,1$ , 12,0 Гц), 134,56 (д,  $J = 16,9$  Гц), 126,89, 120,58 (кв. д.,  $J = 275,0$ , 4,9 Гц), 115,11, 92,04, 62,05, 60,57 (2C), 44,47, 39,42, 29,38, 28,47 м.ч.;  $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{F}_4\text{N}_4\text{O}$  (М.м. 368,33),  $\text{PX-MS}$  (EI)  $m/e$  369 ( $\text{M}^+ + \text{H}$ ).

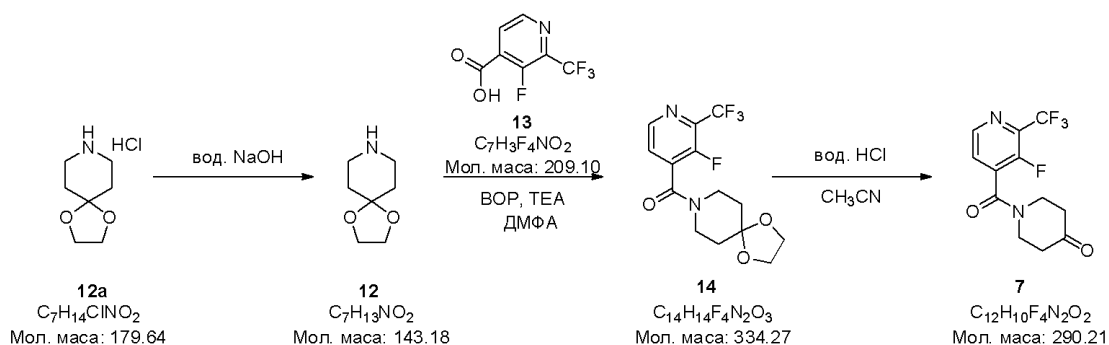
2-(1-(1-(3-Флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиноїл)піперидин-4-іл)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразол-1-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрил (11). У колбу 25 мл, обладнану впускним отвором для азоту, термопарою і магнітною мішалкою, були додані 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразол (1, 210 мг, 1,08 ммоль, 1,08 екв), 2-(1-(1-(3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиноїл)піперидин-4-іл)азетидин-3-іліден)ацетонітрил (10, 370 мг, 1,0 ммоль) і ацетонітрил (3 мл) при температурі навколишнього середовища. Потім розчин обробили 1,8-діазабіцикло[5,4,0]ундецен (ДБУ, 173 мг, 0,17 мл, 1,12 ммоль, 1,12 екв) при температурі навколишнього середовища і отриману реакційну суміш нагрівали до  $50^\circ\text{C}$  і перемішували при  $50^\circ\text{C}$  протягом ночі. Коли реакція була завершена, що визначалося за допомогою ВЕРХ, реакційну суміш перенесли прямо на силікагельну колонку для хроматографічного очищення (0 - 2,5% MeOH в етилацетаті при градієнтному елююванні) з отриманням 2-(1-(1-(3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиноїл)піперидин-4-іл)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразол-1-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрилу (11, 263 мг, 562,4 мг теоретичний, 46,7%) у вигляді білої твердої речовини. Для 11:  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  8,64 (д,  $J = 4,7$  Гц, 1H), 8,22 (д,  $J = 0,6$  Гц, 1H), 7,88 (дд,  $J = 4,7$  Гц, 1H), 7,69 (с, 1H), 4,10 – 3,99 (м, 1H), 3,58 (д,  $J = 7,8$  Гц, 2H), 3,52 – 3,42 (м, 2H), 3,44 (с, 2H), 3,41 – 3,33 (м, 1H), 3,28 – 3,15 (м, 1H), 3,03 (ддд,  $J = 12,9$ , 9,2, 3,2 Гц, 1H), 2,51 – 2,44 (м, 1H), 1,77 – 1,66 (м, 1H), 1,64 – 1,54 (м, 1H), 1,28 – 1,17 (м, 2H), 1,24 (с, 12H) м.ч.;  $^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  160,22, 152,13 (д,  $J = 265,8$  Гц), 146,23 (д,  $J = 5,7$  Гц), 145,12, 135,41, 134,66 (д,  $J = 16,9$  Гц), 134,43 (кд,  $J = 35,0$ , 11,7 Гц), 127,58, 120,61 (кд,  $J = 274,4$ , 4,6 Гц), 117,35, 106,59 (роз), 83,10, 61,40, 60,53 (2C), 56,49, 44,17, 38,99, 28,55, 27,82, 27,02, 24,63 м.ч.;  $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{BF}_4\text{N}_6\text{O}_3$  (М.м. 562,37),  $\text{PX-MS}$  (EI)  $m/e$  563 ( $\text{M}^+ + \text{H}$ ).

2-(3-(4-(7H-Піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)-1-(1-(3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиноїл)піперидин-4-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрил (8). У колбу 25 мл, обладнану впускним отвором для азоту, термопарою і магнітною мішалкою, були додані 2-(1-(1-(3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиноїл)піперидин-4-іл)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразол-1-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрил (11, 307 мг, 0,546 ммоль), 4-хлоро-7H-піроло[2,3-d]піримідин (4, 84,8 мг, 0,548 ммоль, 1,0 екв), бікарбонат натрію ( $\text{NaHCO}_3$ , 229 мг, 2,72 ммоль, 5,0 екв), вода (1,6 мл), і 1,4-діоксан (1,6 мл) при кімнатній температурі. Суміш потім обробляли тетракіс(трифенілфосфін)паладієм (0) (12,8 мг, 0,011 ммоль, 0,02 екв) при температурі навколишнього середовища і отриману реакційну суміш дегазовували і наповнювали азотом 3 рази перед нагріванням до  $85^\circ\text{C}$ . Реакційну суміш перемішували при  $85^\circ\text{C}$  в атмосфері азоту протягом ночі. Коли реакція була завершена, що визначалося за допомогою ВЕРХ, реакційну суміш концентрували насухо при зниженому тиску і бажаний продукт, 2-(3-(4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)-1-(1-(3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиноїл)піперидин-4-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрил (8 вільна основа, 135 мг, 302,2 мг теоретичний, 44,6%), був отриманий у вигляді не зовсім білої твердої речовини при безпосередньому очищенні на силікагельній ( $\text{SiO}_2$ ) хроматографічній колонці (0 - 10% етилацетат в гексані при градієнтному елююванні) висушеної реакційної суміші. Сполука отримана таким способом синтезу ідентична у всіх порівняльних аспектах зі сполукою 8, отриманою при застосуванні способу синтезу, описаного вище в Прикладі 1.

Приклад 3. Синтез (3-флуоро-2-(трифлуорометил)піридин-4-іл)(1,4-діокса-8-азаспіро[4,5]декан-8-іл)метанону



Схема III



5 (3-Флуоро-2-(трифлуорометил)піридин-4-іл)(1,4-діокса-8- азаспіро[4,5]декан-8-іл)метанон (14). У 30л реактор, оснащений механічною мішалкою, краплинною лійкою і септою, завантажували гідроксид натрію (NaOH, 1,4 кг, 35 моль, 2,0 екв) і воду (7 л) і отриманий розчин обробили 1,4- діокса-8-азаспіро[4,5]декан гідрохлоридом (3,13 кг, 17,43 моль) при температурі навколишнього середовища. Потім отриману суміш перемішували при температурі

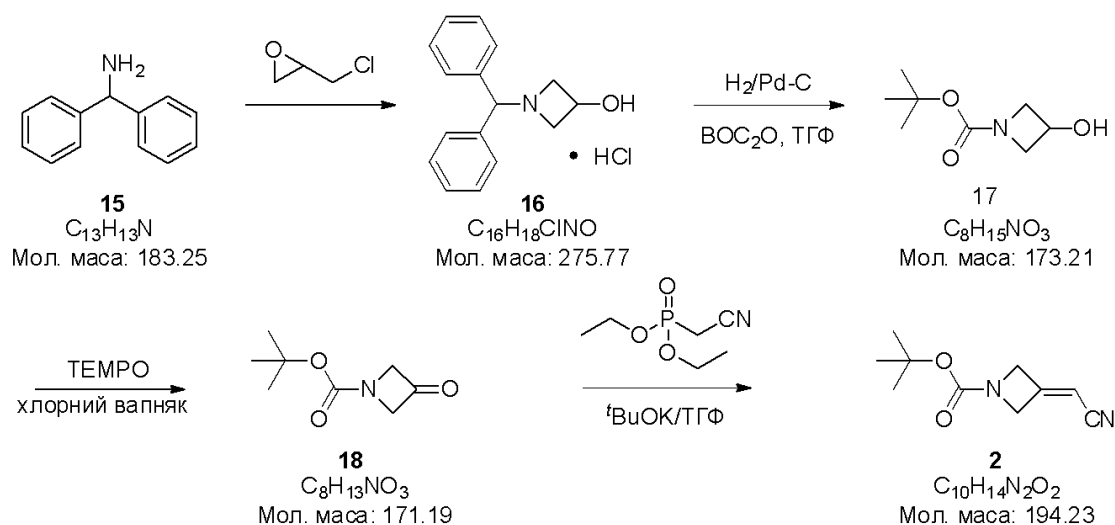
10 навколишнього середовища 30 хв перед насиченням твердим хлоридом натрію (1,3 кг) і екстрагували 2-метилтетрагідрофураном (3 x 7 л). Об'єднану органічну фазу сушили над безводним сульфатом натрію ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 1,3 кг) і концентрували при зниженому тиску (70 мм рт.ст.) при 50 °С після видалення осушуючого реактиву, сульфату натрію ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), фільтруванням. Отримане таким чином жовте масло переганяли при зниженому тиску (80 мм рт.ст., точка кипіння від 115 до 120 °С) з отриманням 1,4-діокса-8- азаспіро[4,5]декану (2,34 кг, 2,496 кг теоретичний, 93,8%) у вигляді прозорого масла, яке безпосередньо застосовують у подальшій реакції крос-поєднання.

У сухий 100 л реактор, оснащений механічною мішалкою, краплинною лійкою, термометром і вакуумним випускним отвором, завантажували 3- флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотину кислоту (13, 3,0 кг, 14,35 моль), бензотриазол-1-ілокситрис(диметиламіно)фосфонію гексафлуорофосфат (реагент BOP, 7,6 кг, 17,2 моль, 1,2 екв), 1,4-діокса-8-азаспіро[4,5]декан (2,34 кг, 16,36 моль, 1,14 екв) і N,N-диметилформамід (ДМФА, 18 л) при кімнатній температурі. Отриманий розчин перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 20 хв перед охолодженням від 5 до 10 °С. Потім триетиламін ( $\text{Et}_3\text{N}$ , 4 л, 28,67 моль, 2,0 екв) додавали до реакційної суміші протягом 1 години і внутрішня температура підтримувалася в межах від 5 °С до 10 °С під час додавання триетиламіну. Отриманий таким чином темно- коричневий розчин перемішували протягом 12 год при температурі навколишнього середовища (приблизно 20 °С) і потім охолоджували до приблизно 10 °С. При інтенсивному перемішуванні 18 л насиченого водного 5 розчину бікарбонату натрію ( $\text{NaHCO}_3$ ) і 36 л води послідовно додавали до охолодженої реакційної суміші і витримували внутрішню температуру до 15 °С. Осад (осад на фільтрі), отриманий таким чином збирають фільтрацією. Водну фазу потім насичують 12 кг твердого хлориду натрію ( $\text{NaCl}$ ) і екстрагують  $\text{EtOAc}$  (2 x 18 л). Об'єднаний органічний шар послідовно промивали насиченим водним розчином (18 л) бікарбонату натрію ( $\text{NaHCO}_3$ ), і водою (2 x 18 л). Зібраний осад на фільтрі потім розчиняли назад в органічній фазі і отриманий темно-коричневий розчин промивали водою (2 x 18 л), а потім концентрували при зниженому тиску (40 - 50 °С, 30 мм рт.ст.) з отриманням приблизно 5,0 кг неочищеного цільового продукту (14) у вигляді в'язкого масла коричневого кольору. Неочищений продукт, отриманий вище, потім розчиняли в  $\text{EtOH}$  (8,15 л) при 50 °С і отриманий розчин обробляли водою (16,3 л) протягом 30 хвилин при приблизно 50 °С. Коричневий розчин був відібраний, перед тим, як поступово охолоджений до температури навколишнього середовища (приблизно 20 °С) протягом 3 год при перемішуванні і перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 12 год. Тверді речовини збирали фільтруванням, промивали сумішшю етанолу та води ( $\text{EtOH}:\text{H}_2\text{O} = 1:20$ , 2 л) і сушили при зниженому тиску (50 мм рт.ст.) при температурі приблизно 60 °С протягом 24 год з отриманням (3-флуоро-2- (трифлуорометил)піридин-4-іл ) (1,4-діокса-8- азаспіро[4,5]декан-8-іл)метанону (14, 3,98 кг, 4,797 кг теоретичний, 83,0%) у вигляді білої твердої речовини. Для 14:  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8,64 (д,  $^3\text{J}_{\text{HH}} = 4,68$  Гц, 1H, NCH в піридині), 7,92 (дд,  $^3\text{J}_{\text{HH}} = 4,68$  Гц,  $^4\text{J}_{\text{HF}} = 4,68$  Гц, 1H, NCCH в піридині), 3,87 - 3,91 (м, 4H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 3,70 (роз с, 2H, один протон  $\text{NCH}_2$  в піперидиновому кільці, один протон другого

NCH<sub>2</sub> в піперидиновому кільці, обидва в аксиальному положенні), 3,26 (т, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,86 Гц, 2Н, один протон NCH<sub>2</sub> в піперидиновому кільці, один протон другого NCH<sub>2</sub> в піперидиновому кільці, обидва в екваторіальному положенні), 1,67 (д, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 5,86 Гц, 2Н, один протон NCCH<sub>2</sub> в піперидиновому кільці, один протон другого NCCH<sub>2</sub> в піперидиновому кільці, обидва в екваторіальному положенні), 1,58 (роз с, 2Н, один протон NCCH<sub>2</sub> в піперидиновому кільці, один протон другого NCCH<sub>2</sub> в піперидиновому кільці, обидва в аксиальному положенні) м.ч.; <sup>13</sup>C ЯМР (75 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 161,03 (N-C=O), 151,16 (д, <sup>1</sup>J<sub>CF</sub> = 266,03 Гц, C-F), 146,85 (д, <sup>4</sup>J<sub>CF</sub> = 4,32 Гц, NCH в піридині), 135,24 (д, <sup>2</sup>J<sub>CF</sub> = 11,51 Гц, C-C=O), 135,02 (квартет, <sup>2</sup>J<sub>CF</sub> = 34,57 Гц, NCCF<sub>3</sub>), 128,24 (д, <sup>4</sup>J<sub>CF</sub> = 7,48 Гц, NCCH в піридині), 119,43 (д × квартет, <sup>1</sup>J<sub>CF</sub> = 274,38 Гц, <sup>3</sup>J<sub>CF</sub> = 4,89 Гц, CF<sub>3</sub>), 106,74 (OCO), 64,60 (OCCO), 45,34 (NC в піперидиновому кільці), 39,62 (NC в піперидиновому кільці), 34,79 (NCC в піперидиновому кільці), 34,10 (NCC в піперидиновому кільці) м.ч.; <sup>19</sup>F ЯМР (282 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ -64,69 (д, <sup>4</sup>J<sub>FF</sub> = 15,85 Гц, F<sub>3</sub>C), -129,26 (д × квартет, <sup>4</sup>J<sub>FF</sub> = 15,85 Гц, <sup>4</sup>J<sub>FH</sub> = 3,96 Гц, FC) м.ч.; C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (М.м., 334,27), РХ-МС (ЕІ) m/e 335,1 (M<sup>+</sup> + Н).

(3-Флуоро-2-(трифлуорометил)піридин-4-іл) (1,4-діокса-8- азаспіро[4,5]декан-8-іл)метанон (7). У 5 л 4-горлу круглодонну колбу, оснащену механічною мішалкою, термopарою, крапельної лійкою та впускним отвором для азоту, завантажували (3-флуоро-2-(трифлуорометил)піридин-4- іл)(1,4-діокса-8-азаспіро[4,5]декан-8-іл)метанон (14, 100 г, 0,299 моль) в ацетонітрилі (ACN, 400 мл) при температурі навколишнього середовища. Отриманий розчин охолоджували до температури нижче 10 °С перед обробкою 6,0 н. водним розчином хлороводневої кислоти (HCl) (450 мл, 2,70 моль, 9,0 екв), а внутрішня температура підтримувалася на рівні нижче 10 °С. Отриману реакційну суміш потім поступово нагрівали до кімнатної температури і додаткову кількість 6,0 н. водного розчину хлороводневої кислоти (HCl) (1050 мл, 6,30 моль, 21,0 екв) повільно вводили в реакційну суміш при температурі навколишнього середовища протягом 8 годин через крапельну лійку. Коли реакція була завершена, що контролювалося за допомогою ВЕРХ, реакційна суміш була охолоджена до 0 °С перед тим, як була оброблена 30% водним розчином гідроксиду натрію (NaOH, 860 мл, 8,57 ммоль, 28,6 екв) у той час як внутрішня температура підтримувалася на рівні нижче 10 °С. Отриману реакційну суміш нагрівали до кімнатної температури перед додаванням твердого бікарбонату натрію (NaHCO<sub>3</sub>, 85,0 г, 1,01 моль, 3,37 екв) протягом 1 години. Потім суміш екстрагували етилацетатом (2 × 1,2 л) і об'єднану органічну фазу промивали 16% водним розчином хлориду натрію (2 × 800 мл) і концентрували приблизно до 1,0 л за допомогою вакуумної перегонки. н-Гептан (2,1 л) був доданий до залишку, і отриману суміш концентрували до 1,0 л за допомогою вакуумної перегонки. До концентрованої суміші додавали н-гептан (2,1 л). Отриману білу суспензію концентрували до 1,0 л за допомогою вакуумної перегонки. У білу суспензію потім додавали трет-бутилметиловий етер (ТБМЕ, 1,94 л). Білий каламутний розчин нагрівали до 40 °С, щоб отримати прозорий. Отриманий розчин концентрують до приблизно 1,0 л за допомогою вакуумної перегонки. Суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 1 години. Білий осад збирали фільтруванням, промивали н-гептаном (400 мл) і сушили на фільтрі в атмосфері азоту з тяговим вакуумом з одержанням (3-флуоро-2-(трифлуорометил)піридин-4-іл) (1,4-діокса-8-15 азаспіро[4,5]декан-8-іл)метанону (7, 78,3 г, 86,8 г теоретичний, 90,2%) у вигляді не зовсім білої твердої речовини. Для 7: <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 8,68 (д, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4,69 Гц, 1Н, NCH в піридині), 7,97 (дд, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 4,69 Гц, <sup>4</sup>J<sub>HF</sub> = 4,69 Гц, 1Н, NCCH в піридині), 3,92 (роз с, 2Н, один протон NCH<sub>2</sub> в піперидиновому кільці, один протон другого NCH<sub>2</sub> в піперидиновому кільці, обидва в аксиальному положенні), 3,54 (т, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6,15 Гц, 2Н, один протон NCH<sub>2</sub> в піперидиновому кільці, один протон другого NCH<sub>2</sub> в піперидиновому кільці, обидва в екваторіальному положенні), 2,48 (т, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6,44 Гц, 2Н, NCCH<sub>2</sub>), 2,34 (т, <sup>3</sup>J<sub>HH</sub> = 6,15 Гц, 2Н, NCCH<sub>2</sub>) м.ч.; <sup>13</sup>C ЯМР (75 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 207,17 (C=O), 161,66 (N-C=O), 151,26 (д, <sup>1</sup>J<sub>CF</sub> = 266,89 Гц, C-F), 146,90 (д, <sup>4</sup>J<sub>CF</sub> = 6,05 Гц, NCH в піридині), 135,56 (C-C=O), 134,78 - 135,56 (м, NCCF<sub>3</sub>), 128,27 (д, <sup>3</sup>J<sub>CF</sub> = 7,19 Гц, NCCH в піридині), 119,52 (д × квартет, <sup>1</sup>J<sub>CF</sub> = 274,38 Гц, <sup>3</sup>J<sub>CF</sub> = 4,89 Гц, CF<sub>3</sub>), 45,10 (NC в піперидиновому кільці) м.ч., один вуглець (NCC в піперидиновому кільці) відсутній через перекриття з (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO; <sup>19</sup>F ЯМР (282 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ -64,58 (д, <sup>4</sup>J<sub>FF</sub> = 15,85 Гц, F<sub>3</sub>C), -128,90 (д × квартет, <sup>4</sup>J<sub>FF</sub> = 15,85 Гц, 4J<sub>FH</sub> = 4,05 Гц, FC) м.ч.; C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>F<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (М.м., 290,21), РХ-МС (ЕІ) m/e 291,1 (M<sup>+</sup> + Н).

Приклад 4. Синтез трет-бутил-3-(ціанометилен)азетидин-1- карбоксилату  
Приклад IV



- 5 1-Бензгідрилазетидин-3-ол гідрохлорид (16). Розчин дифенілметанаміну (2737 г, 15,0 моль, 1,04 екв) в метанолі (MeOH, 6 л) обробляли 2- (хлорометил)оксираном (1330 г, 14,5 моль) за допомогою крапельної лійки при температурі навколишнього середовища. Протягом початкового додавання була помічена невелика ендотерма. Отриману реакційну суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 3 днів, перш ніж нагрівали до кипіння зі зворотнім холодильником протягом додаткових 3 днів. Коли ТШХ показала, що реакція вважалася завершеною, реакційну суміш спочатку охолоджували до кімнатної
- 10 теємператури, а потім до 0-5 °C на льодяній бані. Тверді речовини збирали фільтруванням і промили ацетоном (4 л) з отриманням першої порцію сирого цільового продукту (1516 г). Фільтрат концентрували при зниженому тиску і отриманий напівтвердий продукт розбавляли ацетоном (1 л). Потім цю тверду речовину збирали фільтруванням з отриманням другої порції сирого цільового продукту (221 г). Неочищений продукт, 1-бензгідрилазетидин-3-ол гідрохлорид (1737 г, 3998,7 г теоретичний вихід 43,4%), виявився досить чистим для використання без
- 15 додаткового очищення в подальшій реакції.  $^1H$  20 ЯМР (300 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  12,28 (роз. д, 1H), 7,7 (м, 5H), 7,49 (м, 5H), 6,38 (д, 1H), 4,72 (роз. с, 1H), 4,46 (м, 1H), 4,12 (м, 2H), 3,85 (м, 2H) м.ч.;  $C_{16}H_{18}ClNO$  (М.м. 275,77;  $C_{16}H_{17}NO$  для вільної основи, М.м., 239,31), PX-MC (EI) m/e 240 ( $M^+ + H$ ).

- трет-Бутил-3-гідроксiazетидин-1-карбоксилат (17). Суспензію 1- Бензгідрилазетидин-3-ол гідрохлориду (625 г, 2,27 моль) в 10% розчині водного карбонату натрію ( $Na_2CO_3$ , 5 л) і
- 25 дихлорометану ( $CH_2Cl_2$ , 5 л) перемішували при кімнатній температурі до повного розчинення всіх твердих речовин. Два шари були розділені, і водний шар екстрагували дихлорометаном. ( $CH_2Cl_2$ , 2 л). Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію ( $Na_2SO_4$ ) і концентрували при зниженому тиску. Отриману неочищену вільну основу 1-бензгідрилазетидин-3-олу потім розчиняли в ТГФ (6 л) і розчин поміщали у велику бомбу Парра. Ди-трет-бутилдикарбонат ( $BOC_2O$ , 545 г, 2,5 моль, 1,1 екв) і 20% паладій (Pd) на вуглі (125 г, 50% вологість) були додані в бомбу Парра. У колбу завантажили 30 фунтів на квадратний дюйм газоподібного водню ( $H_2$ ) і перемішували при постійному тиску в атмосфері водню (посудину заряджали три рази, щоб підтримувати тиск в 30 фунтів на квадратний дюйм) при кімнатній температурі протягом 18 год. Коли ВЕРХ показала, що реакція пройшла повністю (більше
- 30 водню не було поглинуто), реакційну суміш фільтрували через шар Целіту і шар Целіту промивали ТГФ (4 л). Фільтрати концентрували при зниженому тиску, щоб видалити розчинник, і залишок завантажували на колонку Biotage 150 з мінімальною кількістю дихлорометану ( $CH_2Cl_2$ ). Колонку елюювали 20 - 50% етилацетатом в н-гептані і фракції, що містять чистий шуканий продукт, трет-бутил-3-гідроксiazетидин-1- карбоксилат, були зібрані і об'єднані.
- 40 Розчинники видаляли при зниженому тиску з одержанням трет-бутил-3-гідроксiazетидин-1-карбоксилату (357 г, 393,2 г теоретичний вихід, 90,8%) у вигляді безбарвного масла, як твердне при стоянні при кімнатній температурі у вакуумі.  $^1H$  ЯМР (300 МГц,  $CDCl_3$ )  $\delta$  4,56 (м, 1H), 4,13 (м, 2H), 3,81 (м, 2H), 1,43 (с, 9H) м.ч.

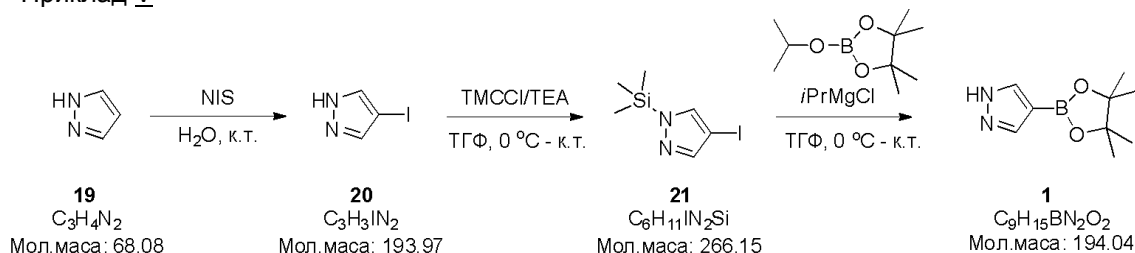
трет-Бутил-3-оксоазетидин-1-карбоксилат (18). Розчин трет-бутил-3-гідроксиазетидин-1-карбоксилату (50 г, 289 ммоль) в етилацетаті (400 мл) охолодили до 0 °С. Отриманий розчин потім обробляли твердим TEMPO (0,5 г, 3,2 ммоль, 0,011 екв) і розчином броміду калію (KBr, 3,9 г, 33,2 ммоль, 0,115 екв) у воді (60 мл) при 0 - 5 °С. При підтримці температури реакції між 0 - 5 °С добавляли насичений водний розчин бікарбонату натрію (NaHCO<sub>3</sub>, 450 мл) і водний розчин гіпохлориту натрію (NaClO, 10 - 13% активного хлору, 450 мл). Після того, як був доданий розчин гіпохлориту натрію, колір реакційної суміші миттєво змінювався. При додаванні додаткової кількості розчину гіпохлориту натрію, колір реакційної суміші поступово зник. Коли ТШХ показала, що весь вихідний матеріал був витрачений, колір реакційної суміші більш не змінювався. Реакційну суміш потім розбавляли етилацетатом (EtOAc, 500 мл) і два шари розділяли. Органічний шар промивали водою (500 мл) і насиченим водним розчином хлориду натрію (500 мл) і сушили над сульфатом натрію (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Потім розчинник видаляли при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, трет-бутил-3-оксоазетидин-1-карбоксилату (48 г, 49,47 г теоретичний, 97% вихід), який виявився досить чистим і був використаний безпосередньо в подальшій реакції без додаткового очищення. <sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>, 300 МГц) δ 4,65 (с, 4H), 1,42 (с, 9H) м.ч.

трет-Бутил-3-(ціанометил)азетидин-1-карбоксилат (2).

Діетилціанометилфосфат (745 г, 4,20 моль, 1,20 екв) і безводний тетрагідрофуран (ТГФ, 9 л) були додані в чотирьох горлу колбу, забезпечену термопарокарманом, крапельної лійкою та захисною трубкою з азотом, при температурі навколишнього середовища. Розчин охолоджували на крижаній бані з метанолом до - 14 °С і 1,0 М розчин трет-бутоксиду калію (t-BuOK) в безводному тетрагідрофурані (ТГФ, 3,85 л, 3,85 моль, 1,1 екв) додавали протягом 20 хв, підтримуючи температуру реакції нижче - 5 °С. Отриману реакційну суміш перемішували протягом 3 год при - 10 °С і розчин 1-трет-бутоксикарбоніл-3-азетидинону (600 г, 3,50 моль) в безводному тетрагідрофурані (ТГФ, 2 л) додавали протягом 2 год, підтримуючи внутрішню температуру нижче - 5 °С. Реакційну суміш перемішували при від - 5 до - 10 °С більше години і потім повільно нагрівали до кімнатної температури і перемішували при кімнатній температурі цілу ніч. Потім реакційну суміш розбавляли водою (4,5 л) і насиченим водним розчином хлориду натрію (NaCl, 4,5 л) і екстрагували етилацетатом (EtOAc, 2×9 л). Об'єднані органічні шари промивали сольовим розчином (6 л) і сушили над безводним сульфатом натрію (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Розчинник видаляли при зниженому тиску і залишок розбавляли дихлорометаном (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 4 л) до того, як він абсорбувався на силікагелі (SiO<sub>2</sub>, 1,5 кг). Неочищений продукт, який був абсорбований силікагелем, очищали колонковою флеш-хроматографією (SiO<sub>2</sub>, 3,5 Кг, 0 - 25% EtOAc/гексан граєнтне елюювання), що дало трет-бутил-3-(ціанометил)азетидин-1-карбоксилат (2, 414,7 г, 679,8 г теоретичний, 61% вихід) у вигляді білої твердої речовини. Для 2: <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 5,40 (м, 1H), 4,70 (м, 2H), 4,61 (м, 2H), 1,46 (с, 9H) м.ч.; C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (М.м., 194,23), PX-MC (EI) m/e 217 (M<sup>+</sup> + Na).

Приклад 5. Синтез 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразолу

Приклад V



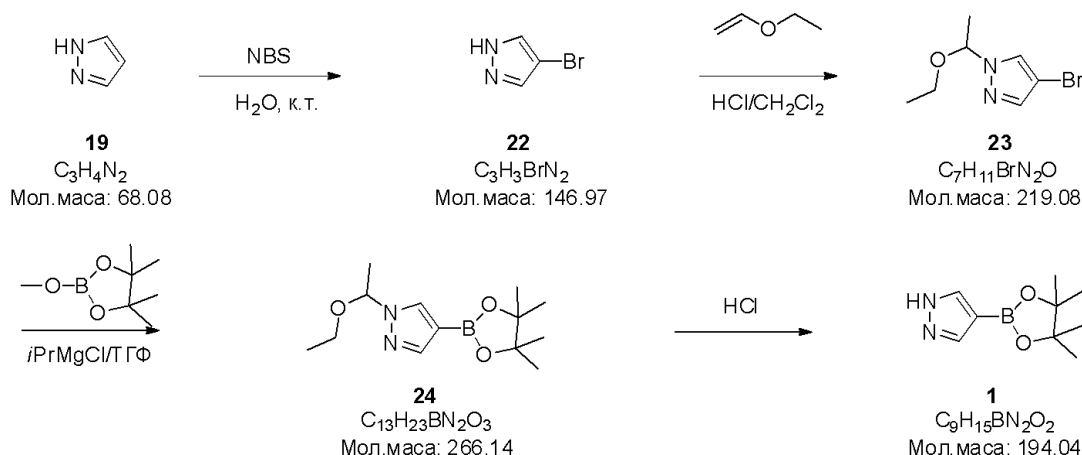
4-Йодопіразол (20). У колбу, оснащену впускним отвором для азоту, крапельною лійкою, термопарокарманом, і механічною мішалкою, завантажували піразол (1, 450 г, 6,62 моль) і тетрагідрофуран (ТГФ, 5 л) при температурі навколишнього середовища. Потім суміш охолоджували до 10 °С і додали N-йодосукцинімід (NIS, 1490 г, 6,62 моль, 1,0 екв) до суміші порціями у вигляді твердої речовини приблизно при 10 °С. Отриману реакційну суміш потім перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 1 години (більш тривалий час для реакції може бути необхідний в залежності від температури навколишнього середовища). Потім суміш фільтрували і ТГФ видаляли при зниженому тиску. Залишок

суспендували в етилацетаті (6 л) і нерозчинні речовини відфільтровували. Темний фільтрат послідовно промивали насиченим водним розчином натрію тіосульфату (2 x 3 л) (органічний шар світлішав до блідо-жовтого), водою (2 x 3 л) і насиченим розчином солі (2 л). Отриманий органічний шар сушили над сульфатом натрію, фільтрували і концентрували при зниженому тиску з одержанням 4-йодопіразолу (1138 г, 1284,1 г теоретичний, 88,6%) у вигляді від білої до блідо-жовтої твердої речовини після сушіння у вакуумній печі при приблизно 30 °C протягом ночі. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 13,17(роз. с, 1H), 7,93 (роз. с, 1H), 7,55 (роз. с., 1H) м.ч.; C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>IN<sub>2</sub> (М.м., 193,97) РХ-МС (EI) m/e 195 (M<sup>+</sup> + H).

1-Триметилсиліл-4-йодопіразол (21). У колбу, оснащену зворотнім холодильником, впускним краном для азоту, механічною мішалкою, і термopарокарманом, завантажували 4-йодопіразол (200 г, 1,03 моль) і ТГФ (2 л) при кімнатній температурі. До цього розчину був доданий триетиламін (TEA, 158 мл, 1,13 моль, 1,1 екв) і отриманий розчин охолоджували до 0 °C на крижаній сольовій бані. До цього розчину додали хлоротриметилсилан (ТМС- Cl, 137 мл, 1,08 моль, 1,05 екв) при енергійному перемішуванні, дозволяючи температурі досягти 18 °C. (Реакційна суміш стає дуже густою і важко перемішується, але з часом стає рухливою). Коли екзотермічний процес спав, холодну баню видаляли і реакційну суміш нагрівали до кімнатної температури. Контроль за ходом реакції здійснювали за допомогою ГХ і було виявлено, що вважати завершеною її можна після приблизно 1 години (вибірка з реакції повинна бути зроблена без доступу повітря при разбавленні сухим розчинником, щоб запобігти гідролізу ТМС). Реакційну суміш розчинили в н-гептане (2 л) перед фільтрацією в атмосфері азоту. Розчинник видаляли з фільтрату при зниженому тиску вентиляційним роторним випаровувачем в атмосфері азоту. Залишкове масло разбавляли н-гептаном (1 л) і повторно концентрували. Якщо тверді речовини утворювалися при додаванні н-гептану, то була необхідна друга фільтрація. Потім залишок переганяли при зниженому тиску (70 - 90 °C приблизно 0,5 торр) з використанням дистилятора Кугельрофа, що дозволило отримати 1-триметилсиліл-4-йодопіразол (263 г, 274,1 г теоретичний, 96%) у вигляді безбарвного масла. Цей матеріал повинен зберігатися в атмосфері азоту в будь-який час, оскільки ТМС група швидко гідролізується. Згодом було встановлено, що 1-триметилсиліл-4-йодопіразол може бути отриманий шляхом нагрівання іодопіразолу з 2 еквівалентами гексаметилдисилазану протягом 1 години.

4-(4,4,5,5-Тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразол (1). У колбу, оснащену механічною мішалкою, впускним краном для азоту, крапельною лійкою та термopарокарманом, були завантажені 1-триметилсиліл-4-йодопіразол (225,1 г, 0,85 моль) і ТГФ (2200 мл) при кімнатній температурі. Суміш охолоджували приблизно до - 6 °C на крижаній сольовій бані перед додаванням розчину ізопропілмагнійхлориду в тетрагідрофурані (2М розчин в ТГФ, 510 мл, 1,02 моль, 1,2 екв) з такою швидкістю, щоб внутрішня температура не перевищувала 0 °C. Ступінь обміну метал/галоген контролювали за допомогою ГХ і було знайдено, що реакція завершується через приблизно 10 хв. Потім до оранжево-коричневого розчину додавали 2-ізопропокси-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан (ізопропілпінаколборат, 347 мл, 1,7 моль, 2,0 екв) спочатку повільно, підтримуючи температуру нижче 0 °C, а потім швидше після того, як приблизно половина кількості сполуки була додана, дозволяючи температурі досягти 5 °C (реакційна суміш стає досить в'язкою, а потім повільно розріджується). Потім реакційну суміш перемішували при 0 °C протягом 10 хв, до того як нагрівати до кімнатної температури протягом 1 год і перемішували при температурі навколишнього середовища протягом додаткового 1 год. Реакційну суміш охолоджували приблизно до 6 °C і насичений водний розчин хлориду амонію (NH<sub>4</sub>Cl, 2,2 л) був доданий з підвищенням температури до 25 °C. Суміш перемішували протягом 5 хвилин, після чого разбавляли толуеном (10 л). Шари розділяли (велика кількість твердої речовини присутня у водному шарі) і органічний шар послідовно промивали водою (6x2,2 л) і насиченим розчином солі (2x2,2 л), а потім сушили над сульфатом натрію (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Осушуючий реагент, сульфат натрію (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), видаляли фільтруванням і розчин концентрували при зниженому тиску. Остаточний толуен випарювали спільно з н-гептаном з отриманням 4- (4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразолу (1, 90,3 г, 164,9 г теоретичний, 54,8%) у вигляді білої твердої речовини. Для 1: <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 13,8 (роз. с, 1H), 7,94 (с, 1H), 7,62 (с, 1H), 1,23 (с, 12H) м.ч.; C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>BN<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (М.м., 194,04), РХ-МС (EI) m/e 195 (M<sup>+</sup> + H).

Приклад 6. Альтернативний синтез 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразолу  
Схема VI



5

4-Бромопіразол (22). Піразол (19, 34,0 г, 0,5 моль) і NBS (89,0 г, 0,5 моль, 1,0 екв) були суспендовані у воді (625 мл) при температурі навколишнього середовища. Отриману суспензію перемішували при температурі навколишнього середовища протягом ночі. Потім реакційну суміш екстрагували EtOAc (2×100 мл). Об'єднані екстракти EtOAc промивали водним розчином  $Na_2S_2O_3$  і насиченим розчином солі, сушили над  $Na_2SO_4$ , і концентрували при зниженому тиску з одержанням неочищеного 4-бромопіразолу (72,0 г, 73,5 г теоретичний, вихід 98%) у вигляді білої твердої речовини (чистота по ГХ: > 98%), яку безпосередньо використовували в подальшій реакції без додаткового очищення.

10

15

4-Бromo-1-(етоксиетил)-1Н-піразол (23). До розчину 4-бромопіразолу (70,0 г, 0,476 моль) в  $CH_2Cl_2$  (600 мл) був доданий розчин 3,1М HCl в діоксані (4 мл) і етилвініловий етер (41 г, 0,569 моль, 1,2 екв) при температурі навколишнього середовища. Отриману реакційну суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 3 годин. Реакційну суміш гасили водним розчином  $NaHCO_3$  і два шари розділилися. Органічний шар промивали водою, сушили над  $Na_2SO_4$ , і концентрували при зниженому тиску насухо з отриманням 4-бromo-1-(етоксиетил)-1Н-піразолу (113 г, 104,3 г теоретичний, 97% вихід) у вигляді масла (чистота по ГХ : 89%), яке безпосередньо використовували в подальшій реакції без додаткового очищення.

20

25

1-(Етоксietiл)-4-(4,4,5,5-тетраметил[1,3,2]діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразол (24). До 100 мл розчину  $iPrMgCl.LiCl$  (50 ммоль, 1,8 екв) в ТГФ було додано 4- бromo-1-(етоксиетил)-1Н-піразолу (6,15 г, 28 ммоль) при температурі навколишнього середовища. Отриману реакційну суміш перемішували при температурі навколишнього середовища 12 годин, потім охолоджували до  $-20^\circ C$ . Метоксипінакол борат (10,6 г, 67 ммоль, 2,4 екв) був доданий до реакційної суміші при  $-20^\circ C$ . Отримана суміш перемішувалася при  $0 - 10^\circ C$  протягом 1 години. Водний розчин  $NH_4Cl$  був доданий, щоб погасити реакцію. Суміш потім екстрагували петролейним етером (ПЕ). Об'єднані екстракти ПЕ промивали насиченим  $NaHCO_3$ , сушили над  $Na_2SO_4$  і концентрували при зниженому тиску. Неочищений продукт кристалізували з ПЕ з отриманням 1-(етоксиетил)-4-(4,4,5,5-тетраметил[1,3,2]діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразолу (24, 4,2 г, 7,45 г теоретичний, 56.4% вихід) у вигляді біло-жовтуватого кольору твердої речовини (чистота ГХ: 99%). Для 24:  $^1H$  ЯМР (ДМСO- $d_6$ , 400 МГц) 8,09 (с, 1H), 8,58 (с, 1H), 7,62 (с, 1H), 5,55 (кв, 1H,  $J = 6.1$  Гц), 3,37 (роз. кв., 1H,  $J = 7,1, 9,6$  Гц), 3,12 (роз. кв, 1H,  $J = 7,0, 9,7$  Гц), 1,56 (д, 3H,  $J = 6,0$  Гц), 1,24 (с, 12H), 1,00 (т, 3H,  $J = 7,0$  Гц) м.ч.;  $C_{13}H_{23}BN_2O_3$  (М.м., 266,14), РХ-МС (EI) m/e 267 ( $M^+ + H$ ).

35

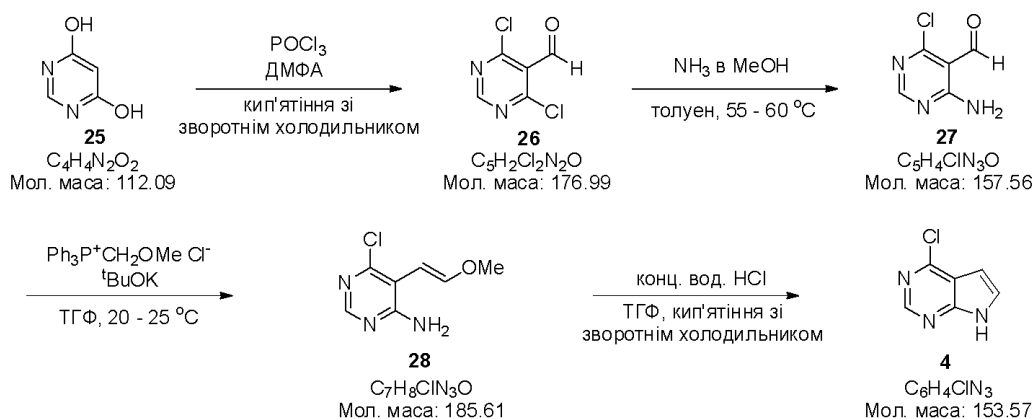
40

4-(4,4,5,5-Тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразол (1). До суміші 2,3-диметилбутан-2,3-діолу (25,0 кг, 211,6 моль) і 1-(1-етоксиетил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразолу (24, 55,0 кг, 206.7 моль) в 1,2- дихлороетані (750 кг) був повільно доданий розчин HCl в ТВМЕ (25,0 кг, 20 - 30% HCl) при  $0 - 5^\circ C$ . Отримана реакційна суміш перемішувалася при  $10 - 20^\circ C$  протягом 3 – 5 годин. Після того, як селективне зняття захисту було завершено, що контролювалося ВЕРХ (1: нижче 1%), реакційну суміш дегазовували і наповнювали азотом,

45

потім охолоджували до - 15 °С. Потім в охолоджену реакційну суміш додавали триетиламін (ТЕА, 30,0 кг, 296,5 моль), доводячи до рН 7 - 8. Суміш потім поступово нагрівали до температури навколишнього середовища перед тим, як обробити водою (150 кг). Дві фази поділяли і органічний шар промивали насиченим розчином солі (60 кг) і сушили над сульфатом натрію (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Осушуючий реагент, сульфат натрію (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), видаляли фільтруванням і отриманий розчин концентрували при зниженому тиску при 40 - 50 °С до густого масла. Залишок нагрівали до 60 - 70 °С і розбавляли петролейним етером (100 кг) при тій же температурі. Отриману суміш потім поступово охолоджували до кімнатної температури, а потім до - 5 °С і перемішували при тій же температурі протягом 3 годин. Тверді речовини збирали центрифугуванням і висушували при 50 - 60 °С під вакуумом з отриманням неочищеного бажаного продукту (1, 33,75 кг, 40,11 кг теоретичний, 84,1%). Потім неочищений цільовий продукт суспендованих з 1,2- дихлороетаном (30 кг) і отриману суміш нагрівали зі зворотнім холодильником з отриманням прозорого розчину. Потім до гарячого розчину додавали петролейний етер (150 кг) при тій же температурі. Отриману суміш потім поступово охолоджували до кімнатної температури, а потім до - 5 °С і перемішували при тій же температурі протягом 3 годин. Тверді речовини збирали шляхом центрифугування і сушили під вакуумом при 50 - 60 °С з отриманням 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразолу (1, 31,0 кг, 40,11 кг теоретичний, 77,3%) у вигляді не зовсім білої твердої речовини, яка ідентична у всіх порівняльних аспектах матеріалу, синтезованого при застосуванні способу синтезу, як описано вище у Прикладі 5.

Приклад 7. Синтез 4-хлоро-7Н-[піроло[2,3-*d*]піримідину  
Схема VII



4,6-Дихлоропіримідин-5-карбальдегід (26). У 5 л 4-горлу колбу, оснащену механічною мішалкою, краплинною лійкою, конденсатором, термopарою, і N<sub>2</sub> розгорткою у водний промивний розчин NaOH, завантажували і охолоджували на крижаній сольовій бані оксихлоридфосфору (POCl<sub>3</sub>, 1 л, 10,572 моль, 4,82 екв). N,N-диметилформамід (ДМФА, 320 мл, 4,138 моль, 1,85 екв) по краплях додавали в колбу при 0 ± 2 °С. Після додавання приблизно 100 мл ДМФА протягом приблизно 0,5 год, кристалізація відбулася, і температура реакції була збільшена від 0 до 10 °С. Додавання припиняли і суміш залишали для повторного охолодження приблизно до 2 °С. Залишкову кількість ДМФА додавали протягом 2,5 год при температурі нижче 8 °С. Суспензія стала дуже густою, утруднюючи перемішування. Коли додавання ДМФА було завершено, суміш перемішували при 3 - 5 °С протягом 0,5 год. 4,6-Дигідроксипіримідин (250 г, 2,232 моль) додавали порційно у вигляді твердої речовини. Після додавання приблизно однієї третини 4,6-дигідроксипіримідину реакційна суміш стала більш розрідженою і спостерігався повільний екзотермічний процес із зростанням температури реакції приблизно до 12 °С протягом 0,5 ч. Залишкову кількість 4,6-дигідроксипіримідину порціями додавали протягом 0,25 год зі збільшенням температури реакції від 12 до 27 °С. Температура реакції підтримувалася на рівні 25 - 27 °С з перемінним охолодженням під час якого жовта суспензія ставала рідшою, а потім знову густішою. Після припинення екзотермічного процесу через приблизно 1 год, реакційну суміш повільно нагрівали. Приблизно 55 °С реакційна суміш стала дуже густою і спостерігався другий помірний екзотермічний процес. Нагрівальна гартівна сітка була знята в той час як температура реакції продовжувала зростати приблизно до 63 °С і

залишалася при цій температурі протягом декількох хвилин перед тим як впасти. Нагрівання суміші було відновлено до досягнення слабого кипіння (приблизно 100 °C). При приблизно 95 °C, відбувалося постійне досить швидке виділення газу HCl і реакційна суміш поступово ставала розрідженою і затемненою. Після приблизно 0,5 год, прозорий коричневий розчин був отриманий, коли температура нагрівання повільно зростала до 115 °C протягом 1,25 год. В цілому, після 2,5 год при кип'ятінні зі зворотнім холодильником, реакційну суміш охолоджували до температури навколишнього середовища і перемішували протягом ночі при температурі навколишнього середовища. Надмірна кількість POCl<sub>3</sub> (так багато, наскільки можливо) видаляли при зниженому тиску (температура бані 45 - 50 °C). Залишкове густе коричневе масло виливали дуже повільно в холодну H<sub>2</sub>O (5 л) в 20 л дилільній лійці, додаючи лід, що необхідно для підтримки водної суміші приблизно температури навколишнього середовища. Потім водну суміш екстрагували EtOAc (2x3 л з подальшим 1x2 л). Об'єднані EtOAc екстракти промивали H<sub>2</sub>O (2x2.5 л), насиченим NaHCO<sub>3</sub> водним розчином (1 л), концентрованим сольовим розчином (1 л), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували і концентрували при зниженому тиску (температура бані при температурі 35 °C) з отриманням неочищеного 4,6-дихлоропіримідин-5-карбальдегіду (270 г, 395 г теоретичний, 68,4%) у вигляді жовто-оранжевої твердої речовини. Наважку 20 г цього сирого матеріалу очищали за допомогою дистиляції Кугельрора (температура печі при 90 - 100 °C, 225 мТорр), що дало 15,3 г чистого 4,6-дихлоропіримідин-5-карбальдегіду у вигляді білої твердої речовини, яка ставала жовтою при зберіганні при температурі навколишнього середовища. <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) 10,46 (с, 1H), 8,89 (с, 1H) м.ч.

4-Аміно-6-хлоропіримідин-5-карбальдегід (27). Розчин 7 M NH<sub>3</sub> в MeOH (265 мл, 1,855 моль, 2,0 екв) додавали протягом 1,25 год до розчину 4,6-дихлоропіримідин-5-карбальдегіду (163,7 г, 0,9301 моль) в толуені (3 л) при температурі навколишнього середовища. Температура реакційної суміші поступово зростала від 20 до 26 °C і утворювалася жовта суспензія.

Застосовувалося легке охолодження для підтримки температури реакційної суміші нижче 26 °C. Суспензія перемішувалася при температурі навколишнього середовища протягом 3,5 год перед відділенням твердих речовин фільтруванням. Тверді речовини промивали EtOAc (1 л). Фільтрат концентрували при зниженому тиску, і тверді речовини розтирали з толуеном і н-гептаном (2:1 об/об, 600 мл), фільтрували і сушили з отриманням 71,1 г 4-аміно-6-хлоропіримідин-5-карбальдегіду у вигляді жовтої твердої речовини.

Вихідну тверду речовину відфільтровували з реакційної суміші, яка містила додаткову кількість 4-аміно-6-хлоропіримідин-5-карбальдегіду. Продукт екстрагували з відфільтрованої твердої речовини перемішуванням в EtOAc (1,25 л) протягом 1,5 год, фільтрували, потім перемішували в ТГФ (750 мл) протягом 1 год і знову фільтрували. Обидва EtOAc і ТГФ фільтрати концентрували при зниженому тиску і отримані тверді речовини розтирали з толуеном і н-гептаном (2:1 об/об, 450 мл), фільтрували і сушили з отриманням додаткових 44,1 г 4-аміно-6-хлоропіримідин-5-карбальдегіду у вигляді жовтої твердої речовини. Загальний вихід 4-аміно-6-хлоропіримідин-5-карбальдегіду (115,2 г, 146,5 г теоретичний) був 78,6%. <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10,23 (с, 1H), 8,71 (роз. с, 1H), 8,55 (роз. с, 1H), 8,39 (с, 1H) м.ч., C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>ClN<sub>3</sub>O (М.м., 157.56), PX-МС (EI) m/e 158 (M<sup>+</sup> + H).

6-Хлоро-5-(2-метоксивініл)піримідин-4-іламін (28). Суспензія (метоксиметил)трифенілфосфоній хлориду (276,0 г, 0,807 моль, 1,1 екв) в ТГФ (1.5 л) була охолоджена на крижаній сольовій бані до - 2 °C і 1 M трет-бутоксид калію (KOtBu) в ТГФ (807 мл, 0.807 моль, 1.1 екв) додавали протягом 1,5 год при - 2 до - 3 °C. Темну червоно-помаранчеву суміш перемішували при - 2 до - 3 °C протягом 1 год. 4-Аміно-6-хлоропіримідин-5-карбальдегід (115,2 г, 0,7338 моль, 1,0 екв) потім порційно додавали до реакційної суміші як тверду речовину із застосуванням ТГФ (200 мл) для промивання контейнеру і ділільної лійки. Під час додавання, температура реакційної суміші зростала від - 3 до 13°C і колір змінювався на коричневий. Коли температура реакційної суміші знизилася до 10 °C, охолоджуючу баню зняли і дозволили реакційній суміші нагрітися до кімнатної температури і перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 42 год. Реакційна суміш була охолоджена до - 2 °C перед гасінням повільним додаванням насиченого водного розчину NH<sub>4</sub>Cl (750 мл). Суміш концентрували при зниженому тиску, щоб видалити більшу частину ТГФ. Залишок розподіляли між EtOAc (3 л) і H<sub>2</sub>O (1 л). Органічну фазу фільтрували для видалення нерозчинного матеріалу на межі розділу, потім екстрагували 2 н. HCl (4x250 мл), потім 3 н. HCl (2x250 мл). Об'єднані екстракти HCl знову екстрагували етилацетатом (500 мл), потім фільтрували через Целіт, щоб видалити нерозчинний матеріал. Фільтрат охолоджували на крижаній сольовій бані, доводили до pH 8 за допомогою 6 н. водного розчину NaOH і екстрагували EtOAc (3x1 л). Об'єднані



екстракти EtOAc промивали насиченим розчином солі (1 л), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, перемішували з активованим вугіллям (10 г) і силікагелем (10 г) протягом 1 год. Суміш фільтрували через Целіт, промиваючи Целіт етилацетатом (1 л). Фільтрат концентрували, спільно випаровуючи залишковий EtOAc з н-гептаном (500 мл). Отриману буру тверду речовину викачували під високим вакуумом протягом 2 год з отриманням неочищеного 6-хлоро-5-(2-метоксивініл)піримідин-4-іламіну (72,3 г, 136,2 г теоретичний, 53,1%). Сирий необхідний продукт був використаний у наступній реакції без додаткового очищення. Зразок сирого продукту (2,3 г) очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі з елювання сумішшю 0 - 35% EtOAc/н-гептан з одержанням 1,7 г чистого 6-хлоро-5-(2-метоксивініл)піримідин-4-іламіну у вигляді білої твердої речовини, яка була сумішшю від 1 до 2 E/Z ізомерів. <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) для E- ізомеру: δ 8,02 (с, 1H), 7,08 (роз. с, 2H), 6,92 (д, 1H, J = 13,1), 5,35 (д, 1H, J = 13,0 Гц), 3,68 (с, 3H) м.ч. і для Z-ізомеру: δ 8,06 (с, 1H), 7,08 (роз.с, 2H), 6,37 (д, 1H, J = 6,8 Гц), 5,02 (д, 1H, J = 6,7 Гц), 3,69 (с, 3H) м.ч.; C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>ClN<sub>3</sub>O (М.м., 185,61), PX- MC (EI) m/e 186/188 (M<sup>+</sup> + H).

4-Хлоро-7H-[піроло[2,3-d]піримідин (4). Концентровану HCl (5 мл) додавали до розчину сирого 6-хлоро-5-(2-метоксивініл)піримідин-4-іламіну (70,0 г, 0,3784 моль) у ТГФ (700 мл) і отриману реакційну суміш нагрівали зі зворотнім холодильником протягом 7,5 годин. При нагріванні сформувалася негуста суспензія, яка поступово повторно розчинялася. Коли реакція була завершена, що підтвердив контроль ВЕРХ, реакційну суміш охолоджували до температури навколишнього середовища і перемішували при температурі навколишнього середовища протягом ночі. Твердий NaHCO<sub>3</sub> (15 г) був доданий до реакційної суміші і отриману суміш перемішували при температурі навколишнього середовища протягом 1 год. Активоване вугілля (7 г), силікагель (7 г) і Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (20 г) були додані до суміші і нагрівали до 40 °C протягом 1 год. Потім суміш охолоджували до кімнатної температури і фільтрували через Целіт, промиваючи Целіт з ТГФ (1 л). Фільтрат концентрували при зниженому тиску і отриману тверду речовину сушили при зниженому тиску з одержанням неочищеного 4- хлоро-7H-[піроло[2,3-d]піримідину (4, 58,1 г, 58,1 г теоретичний, 100%) у вигляді жовто-коричневої твердої речовини. Цей неочищений цільовий продукт розчиняли в EtOAc (1 л) при 50 - 55 °C та обробляли активованим вугіллям (3 г). Суміш фільтрували через Целіт при нагріванні і шар Целіту промивали теплим EtOAc (250 мл). Фільтрат концентрували до приблизно 500 мл, і суспензію витримували при температурі навколишнього середовища протягом ночі. Суспензію потім охолоджували до 0 - 5 °C протягом 2 год перед тим як зібрати тверді речовини фільтрацією. Тверді речовини сушили з отриманням чистого 4-хлоро-7H-[піроло[2,3-d]піримідину (4, 54,5 г, 58,1 г теоретичний, 94%) у вигляді жовто-коричневих кристалів. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 12,58 (роз. с, 1H), 8,58 (с, 1H), 7,69 (д, 1H, J = 3,5 Гц), 6,59 (д, 1H, J = 3,5 Гц) м.ч.; PX-MC (EI) m/e 154/156 (M<sup>+</sup> + H).

#### Приклад А: In vitro аналіз JAK Кінази

Сполуку Формули I випробовували на інгібуючу активність по відношенню до JAK об'єктів, відповідно до наступного in vitro аналізу, описаного в Park et al., Analytical Biochemistry 1999, 269, 94-104. Каталітичні домени людського JAK1 (а.а. 837-1142) і JAK2 (а.а. 828-1132) з N-кінцевими мітками були експресовані за допомогою бакуловіруса в клітинах комах і очищені. Каталітичну активність JAK1 і JAK2 аналізували шляхом вимірювання фосфорилування біотинілірованого пептиду. Фосфорильований пептид був виявлений по однорідній з часовим поділом флуоресценції (HTRF). IC<sub>50</sub> сполук були виміряні для кожної кінази в 40 мкл реакцій, які містили фермент, АТФ і 500 нМ пептид в 50 мМ Tris (pH 7,8) буфер з 100 мМ NaCl, 5 мМ ДТТ і 0,1 мг/мл (0,01%) БСА. Для 1мМ IC<sub>50</sub> вимірювань, концентрація АТФ в реакціях становила 1 мМ. Реакції проводили при температурі навколишнього середовища протягом 1 год, а потім зупиняли 20 мкл 45 мМ EDTA, 300 нМ SA- APC, 6 нМ Eu-Py20 в буфері для аналізу (Perkin Elmer, Boston, Massachusetts). Зв'язування з міченим європієм антитілом проходило протягом 40 хвилин і HTRF сигналу вимірювали на лічильнику Fusion пластини (Perkin Elmer, Boston, Massachusetts). Сполука Формули I і сіль адипінової кислоти мала IC<sub>50</sub> в JAK1 від ≤5 нМ (виміряні при 1 мМ АТФ) при співвідношенні JAK2/JAK1 > 10 (виміряні при 1 мМ АТФ).

#### Приклад В: Клітинні дослідження

Лінії ракових клітин, що залежать від цитокінів і, отже, JAK/STAT передачі сигналів, для росту, висівали при 6000 клітин на лунку (формат 96- лункового планшета) в середовищі RPMI 1640, 10% FBS, і 1 нг/мл відповідного цитокіну. Сполука може бути додана до клітин в ДМСО/носія (кінцева концентрація ДМСО 0,2%), і інкубували протягом 72 годин при 37 °C, 5%

CO<sub>2</sub>. Вплив сполуки на життєздатність клітин оцінювали за допомогою CellTiter-Glo люмінесцентної осередку Аналіз життєздатності клітин (Promega) з наступним TopCount (Perkin Elmer, Boston, MA) кількісним визначенням. Потенційні нецільові ефекти сполук виміряні в паралелі, використовуючи не-JAK, які ведуть клітинну лінію з тим самим аналізом зчитування.

5 Всі експерименти, як правило, виконували у двох повторях.

Згадані вище лінії клітин можуть також використовуватися для дослідження впливу сполук на фосфорилування JAK кіназ або потенційних субстратів нижче в біохімічному шляху, таких як білки STAT, Akt, Shp2 або Erk. Ці експерименти можуть виконуватись протягом ночі при голодуванні цитокіну, з подальшою короткою попередньою інкубацією зі сполукою (2 год. або менше) і цитокінової стимуляцією в протягом приблизно 1 год або менше. Потім білки екстрагували з клітин і аналізували методами, знайомими фахівцям у даній галузі техніки, включаючи вестерн-блоттинг або ТИФА із застосуванням антитіл, які можуть диференціювати між фосфорильованим і загальним білком. У зазначених експериментах можуть застосовуватися нормальні або ракові клітини, щоб досліджувати вплив сполук на біологію виживання клітини пухлини або на медіатори запального захворювання. Наприклад, щодо останнього, цитокіни, такі як IL-6, IL-12, IL-23 або IFN, можуть використовуватися для стимулювання активації JAK, що веде до фосфорилування білка (ів) STAT і потенційно до транскрипціональних профілів (які оцінюють методом масиву або технологією кПЦР) або виробленні та/або секреції білків, таких як IL-17. Здатність сполук пригнічувати ці опосередковані цитокіном ефекти може бути виміряна з використанням методів, широко відомих фахівцям у даній галузі техніки.

Сполуки за даним винаходом додатково можуть бути протестовані на клітинних моделях, розроблених з метою оцінки їх ефективності та активності проти мутантних JAK, наприклад, з мутацією JAK2V617F, знайденої при мієлоїдних проліферативних розладах. У таких експериментах часто застосовують цитокін-залежні клітини гематологічної клітинної лінії (наприклад BaF/3) в якій ектопічно експресуються JAK кінази дикого типу або мутантні (James, C., et al. Nature 434: 1144-1148; Staerk, J., et al. JBC 280: 41893-41899). Кінцеві точки включають вплив сполук на виживання, проліферацію клітин і фосфорильовані білки JAK, STAT, Akt або Erk.

Деякі сполуки за даним винаходом можуть бути оцінені щодо їх активності пригнічення проліферації Т-клітин. В якості такого аналізу може розглядатися аналіз, який запускає другий цитокін (тобто JAK) проліферації, а також спрощений аналіз імуносупресії або інгібування імунної активації. Нижче наведено короткий нарис того, яким чином можуть виконуватися дані експерименти. Моноядерні клітини периферичної крові (МКПК) отримують із зразків цільної крові людини з застосуванням способу виділення Ficoll Нугаке, і Т-клітини (фракція 2000) можуть бути отримані з МКПК зціжуванням. Свіжовиділені Т-клітини людини можуть міститися в живильному середовищі (RPMI 1640 з додаванням 10% сироватки телячого ембріону, 100 Од/мл пеніциліну, 100 μ г/мл стрептоміцину) з щільністю  $2 \times 10^6$  клітин/мл при температурі 37 °C до 2 днів. Для аналізу стимульованої IL-2 проліферації клітини, Т-клітини спочатку обробляють фітогеммаглютиніном (ФГА) в кінцевій концентрації 10 μ мкг/мл протягом 72 годин. Після одноразового промивання ФСБ 6000 клітин/лунку наносять на 96-ямкові планшети і обробляють сполуками в різних концентраціях в живильному середовищі в присутності 100 Од/мл IL-2 людини (ProSpec-Tany TechnoGene; Rehovot, Ізраїль). Планшети інкубують при 37 °C протягом 72 годин і індекс проліферації оцінюють із застосуванням люмінесцентних реактивів CellTiter-Glo, за запропонованим виробником протоколом (Promega; Madison, Wisconsin).

#### Приклад С: In vivo Протипухлинна ефективність

Сполуки за даним винаходом можуть бути оцінені на моделях ксенотрансплантата пухлини людини у мишей з ослабленим імунітетом. Наприклад, канцерогенний варіант лінії клітин плазмацитоми INA-6 можуть застосовувати для підшкірної інюкуляції мишам SCID (Burger, R., et al. Hematol J. 2: 42-53, 2001). Надалі тварини, які несуть пухлину, можуть бути рандомізовані у групи лікування лікарським засобом або розчинником, і різні дози сполук можуть бути введені будь-якою кількістю звичайних способів, включаючи пероральний, внутрішньочеревно або безперервну інфузію із застосуванням імплантованих насосів. Зростання пухлини відстежують в часі за допомогою штангенциркуля. Надалі зразки пухлини можуть бути відібрані для аналізу в будь-який час після початку лікування, як викладено вище (Приклад В), щоб оцінити вплив сполуки на активність JAK і нижчележачих шляхів проведення сигналу. Додатково, селективність сполуки(к) може бути оцінена із застосуванням моделей ксенотрансплантата пухлини, які запускаються іншими, відомими кіназами (наприклад Bcr-Abl), таких як модель пухлини K562.

Приклад D: Тест шкірної реакції контактної гіперчутливості по сповільненому типу у мишей Сполуки за даним винаходом додатково можуть бути протестовані щодо їх ефективності (інгібування мішеней JAK) на тестовій моделі, яка запускається Т-клітинами сповільненої гіперчутливості у мишей. Шкірна реакція контактної гіперчутливості за сповільненим типом (ГЗТ) у мишей вважається придатною моделлю клінічного контактного дерматиту та інших опосередкованих Т-лімфоцитами імунних розладів шкіри, таких як псоріаз (Immunol Today. 1998 Jan; 19 (1): 37-44). Численні характеристики об'єднують ГЗТ у мишей з псоріазом, у тому числі, імунний інфільтрат, супутнє підвищення рівня запальних цитокінів і гіперпроліферація кератиноцитів. Крім того, багато класів агентів, ефективних при лікуванні псоріазу в клініці, також є ефективними інгібіторами реакції ГЗТ у мишей (Agents Actions. 1993 Jan; 38 (1-2): 116-21).

У 0-й і 1-й дні мишей Balb/c сенсibilізували місцевим нанесенням на виголене черево антигену 2,4-динітро-флуоробензолу (ДНФБ). На 5-й день вимірювали товщину вух за допомогою інженерного мікрометра. Результати вимірювання реєстрували і застосовували як початковий рівень. Потім обидва вуха тварин навантажували місцевим нанесенням ДНФБ в загальній дозі 20 мкл (10 мкл на внутрішню частину і 10 мкл на зовнішню частину вушної раковини) з концентрацією 0,2%. Через 24-72 години після навантаження вуха знову вимірювали. Лікування тестовими сполуками проводили протягом фаз сенсibilізації і навантаження (з дня -1 до дня 7) або до і протягом фази навантаження (завичай починаючи з другої половини дня 4 до дня 7). Лікування тестовими сполуками (в різних концентраціях) проводили системно або місцево (місцеве нанесення лікарського засобу на вуха). На ефективність досліджуваних сполук вказувало зменшення припухлості вуха, в порівнянні з відсутністю лікування. Сполуки, що викликають зменшення на 20% або більше, вважаються ефективними. У деяких експериментах мишей навантажували без сенсibilізації (негативний контроль).

Інгібуючий ефект (пригнічення активації шляхів JAK-STAT) досліджуваних сполук може бути підтверджений імуногістохімічним аналізом. Активація шляху(ів) JAK-STAT призводить до утворення та транслокації функціональних факторів транскрипції. Надалі, приплив імунних клітин і збільшена проліферація кератиноцитів також повинні забезпечувати унікальні зміни профілю експресії у вусі, які можуть бути досліджені і визначені кількісно. Фіксовані у формаліні і залиті парафіном зрізи вуха (зразки відібрані після фази навантаження в моделі ГЗТ) піддають імуногістохімічному аналізу із застосуванням антитіла, яке специфічно взаємодіє з фосфорильованим STAT3 (клон 58E12, Cell Signaling Technologies). Вуха миші обробляють досліджуваними сполуками, розчинником або дексаметазоном (клінічно ефективне лікування для псоріазу), або залишають без лікування в моделі ГЗТ для порівняння. Досліджувані сполуки і дексаметазон можуть продукувати подібні транскрипційні зміни як якісно, так і кількісно, а також досліджувані сполуки і дексаметазон можуть зменшувати кількість інфільтруючих клітин. Системне і місцеве застосування досліджуваних сполук може викликати інгібуючий ефект, тобто, зменшення кількості інфільтруючих клітин та інгібування транскрипціональних змін.

#### Приклад E: In vivo протизапальна активність

Сполуки за даним винаходом можуть бути оцінені на моделях гризунів або не гризунів, розроблених для відтворення одиничної або комплексної реакції запалення. Наприклад, моделі артриту у гризунів можуть застосовуватися для оцінки терапевтичного потенціалу сполук, що вводяться превентивно або терапевтично. Ці моделі включають, без обмежень, індукований колагеном артрит у мишей чи пацюків, індукований ад'ювантом артрит у щурів і артрит, індукований антитілом до колагену. Крім того, аутоімунні захворювання, в тому числі, без обмежень, розсіяний склероз, цукровий діабет I типу, увеоретиніт, тиреоїдит, міастенія, імуноглобулінова нефропатія, міокардити, сенсibilізація дихальних шляхів (астма), вовчак або коліт, можуть використовуватися для оцінки терапевтичного потенціалу сполук за даним винаходом. Ці моделі добре вивчені в співтоваристві дослідників і знайомі фахівцям в даній області техніки (Current Protocols in Immunology, Vol 3., Coligan, JE et al, Wiley Press.; Methods in Molecular Biology: Vol. 225, Inflammation Protocols., Winyard, P.G. i Willoughby, D.A., Humana Press, 2003.).

#### Приклад F: Тваринні моделі для лікування сухості очей, увеїту і кон'юнктивіту

Агенти можуть бути оцінені на одній або більше доклінічних моделей сухості очей, відомих фахівцям у даній галузі техніки, у тому числі, без обмеження, модель із застосуванням конканаваліну А (ConA) на слъзовій залозі кроля, скополамінова модель (підшкірна або

трансдермальна) на мишах, модель на слъзозв'язці миші із застосуванням ботулотоксину або будь-яка з цілої низки спонтанних аутоімунних моделей у гризунів, які призводять до дисфункції очної залози (наприклад NOD-SCID, MRL / lpr або NZB / NZW) (Barabino et al., Experimental Eye Research 2004, 79, 613-621 і Schrader et al., Developmental Ophthalmology, Karger 2008, 41, 298-312, кожна з яких включена до даного документу у повному обсязі за допомогою посилання). Кінцеві точки в цих моделях можуть включати гістопатології очних залоз і очі (рогова оболонка і т.п.), а також класичну пробу Ширмера або її модифіковані версії (Barabino et al.), в яких вимірюють вироблення слізної рідини. Активність оцінюють при веденні доз декількома способами (наприклад, системно або місцево), яке може починатися до або після появи вимірного захворювання.

Агенти можуть бути оцінені на одній або більше доклінічних моделях увеїту, відомих фахівцям у даній галузі техніки. Вони включають, без обмеження, моделі експериментального аутоімунного увеїту (EAU) і індукованого ендотоксиком увеїту (IEU). Експерименти EAU можуть бути виконані на кролях, щурах або мишах, і можуть включати пасивну або активну імунізацію. Наприклад, будь-який з безлічі антигенів сітківки може застосовуватися для сенсibiliзації винаходів тварин до відповідного імуногенного засобу, після чого очі тварин можуть бути навантажені тим же антигеном. Модель IEU є більш гострою і включає місцеве або системне введення ліпополісахаридів в сублетальних дозах. Кінцеві точки моделей IEU і EAU можуть включати, серед іншого, фундоскопічне обстеження і гістопатологію. Ці моделі розглянуті Smith et al. (Immunology and Cell Biology 1998, 76, 497-512, яка включена в даний документ у повному обсязі за допомогою посилання). Активність оцінюють при введенні доз декількома способами (наприклад, системно або місцево), яке може починатися до або після появи вимірного захворювання. Крім того, в деяких моделях, перерахованих вище, може розвиватися склерит/епісклерит, хоріоїдит, цикліт або запалення райдужної оболонки ока, і, таким чином, вони є придатними для дослідження потенційної активності сполук для терапевтичного лікування зазначених захворювань.

Додатково, агенти можуть бути оцінені в одній або більше доклінічних моделях кон'юнктивіту, відомих фахівцям в даній галузі техніки. Вони включають, без обмеження, моделі на гризунах з застосуванням мурчаку, пацюку або миші. Моделі на мурчаках включають моделі із застосуванням активної або пасивної імунізації та/або імунних протоколів навантаження антигенами, такими як яєчний білок або амброзія (розглянуті в Groneberg, DA, et al., Allergy 2003, 58, 1101-1113, яка включена в даний документ за допомогою посилання в повному обсязі). Моделі з пацюком і мишею по загальному дизайну схожі з моделями на мурчаках (також розглянуті Groneberg). Активність оцінюють при введенні доз декількома способами (наприклад, системно або місцево), яка може починатися до або після появи вимірюваного захворювання. Кінцеві точки для такого дослідження можуть включати, наприклад, гістологічний, імунологічний, біохімічний або молекулярний аналіз очних тканин, таких як кон'юктива.

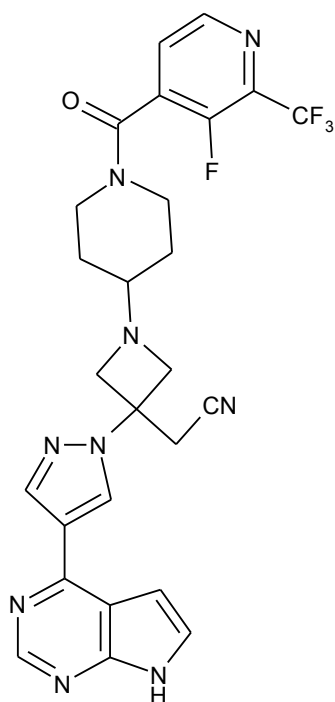
#### Приклад G: In vivo захист кістки

Сполуки можуть бути оцінені на різних доклінічних моделях остеопенії, остеопору або резорбції кістки, відомих фахівцям у даній області техніки. Наприклад, гризуни з видаленими яєчниками можуть бути використані для оцінки здатності сполук впливати на ознаки і маркери ремоделювання та/або щільності кістки (WSS Jee і W. Yao, J Musculoskel. Nueron. Interact., 2001, 1 (3), 193-207, яка включена в даний документ у повному обсязі за допомогою посилання). Альтернативно, щільність та архітектура кістки можуть бути оцінені в контролі або лікованих сполукам гризунах на моделях індукованої лікуванням (наприклад, глюкокортикоїдом) остеопенії (Yao, et al. Arthritis and Rheumatism, 2008, 58 (6), 3485-3497; і там же 58 (11), 1674-1686; обидві з яких включені в даний документ за допомогою посилання в повному обсязі). Крім того, вплив сполук на резорбцію і щільність кістки може піддаватися оцінці на моделях артриту у гризунів, що обговорювалися вище (Приклад Е). Кінцеві точки для всіх зазначених моделей можуть варіюватися, але часто включають гістологічну і радіологічну оцінку, а також імуногістологію і біохімічні маркери, які підходять для ремоделювання кістки.

Низка варіантів реалізації винаходу була описана. Проте, слід розуміти, що різні модифікації можуть бути виконані без відступу від суті і об'єму даного винаходу. Відповідно, інші варіанти реалізації винаходу знаходяться в межах обсягу прикладеної формули винаходу.

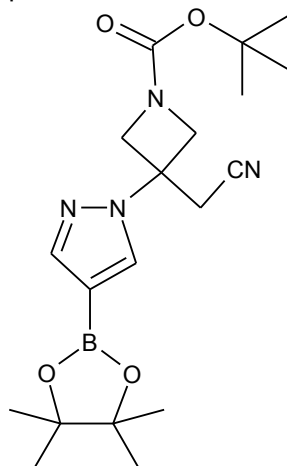
#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

##### 1. Спосіб отримання сполуки Формули I:



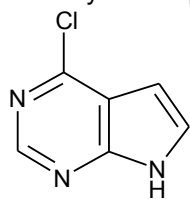
I

або її солі, який включає:  
приведення в контакт сполуки Формули IIIa:



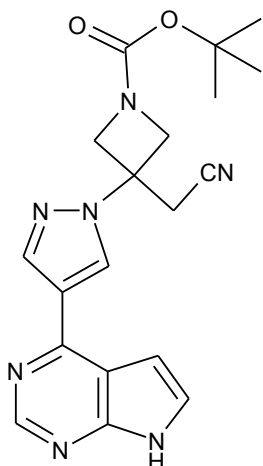
IIIa

5 зі сполукою Формули IVa:



IVa

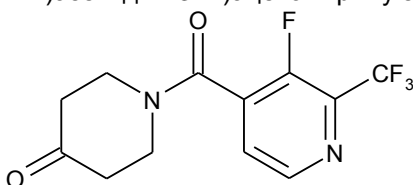
в умовах реакції Сузукі з отриманням сполуки Формули IIa:



, IIa

зняття захисту із сполуки Формули IIa шляхом приведення її в контакт з соляною кислотою, з утворенням дигідрохлоридної солі 2-(3-(4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрилу; і

5 приведення в контакт дигідрохлоридної солі 2-(3-(4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрилу зі сполукою Формули VI:



VI

в присутності відновлювального агента, з отриманням сполуки Формули I або її солі.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що умови реакції Сузукі включають нагрівання реакційної суміші, яка містить сполуку Формули IIIa, сполуку Формули IVa, каталізатор реакції Сузукі, основу і компонент розчинника.

3. Спосіб за п. 2, який **відрізняється** тим, що каталізатор реакції Сузукі являє собою  $\text{Pd}(\text{dppf})_2\text{Cl}_2$ , [1,1'-біс(дициклогексилфосфіно)фероцен]дихлорпаладій (II), тетракис(трифенілфосфін)паладій (0), або тетракис(три(o-толіл)фосфін)паладій (0).

4. Спосіб за п. 2, який **відрізняється** тим, що каталізатор реакції Сузукі являє собою [1,1'-біс(дициклогексилфосфіно)фероцен]дихлорпаладій (II).

5. Спосіб за будь-яким з пп. 2-4, який **відрізняється** тим, що основа являє собою карбонат натрію, карбонат калію або фторид цезію.

6. Спосіб за будь-яким з пп. 2-4, який **відрізняється** тим, що основа являє собою фторид цезію.

7. Спосіб за п. 6, який **відрізняється** тим, що фторид цезію присутній в кількості 3 еквівалентів або більше для сполуки Формули IVa.

8. Спосіб за будь-яким з пп. 2-7, який **відрізняється** тим, що компонент розчинника містить трет-бутанол і воду.

9. Спосіб за будь-яким з пп. 1-8, який **відрізняється** тим, що сполуки Формули IIIa і IVa присутні в молярному співвідношенні близько 1:1.

10. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що соляна кислота присутня в кількості 5-8 еквівалентів, виходячи зі сполуки Формули IIa.

11. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вказане приведення в контакт дигідрохлоридної солі 2-(3-(4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрилу здійснюють в присутності не менше двох еквівалентів другої основи.

12. Спосіб за п. 11, який **відрізняється** тим, що друга основа являє собою третинний амін.

13. Спосіб за п. 11, який **відрізняється** тим, що друга основа являє собою триетиламін.

14. Спосіб за будь-яким з пп. 1-13, який **відрізняється** тим, що відновлювальний агент являє собою ціаноборгідрид натрію або триацетоксиборгідрид натрію.

15. Спосіб за будь-яким з пп. 1-3, який **відрізняється** тим, що відновлювальний агент являє собою триацетоксиборгідрид натрію.

16. Спосіб за п. 15, який **відрізняється** тим, що застосовують більше ніж 1 еквівалент триацетоксиборгідриду натрію, виходячи з дигідрохлоридної солі 2-(3-(4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрилу.

17. Спосіб за будь-яким з пп. 1-16, який **відрізняється** тим, що застосовують більше ніж 1 еквівалент сполуки Формули VI, виходячи зі сполуки дигідрохлоридної солі 2-(3-(4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрилу.

5 18. Спосіб за будь-яким з пп. 1-17, який **відрізняється** тим, що взаємодію дигідрохлоридної солі 2-(3-(4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл)азетидин-3-іл)ацетонітрилу зі сполукою Формули VI виконують в розчиннику дихлорметан.

19. Спосіб за будь-яким з пп. 1-18, який додатково включає приведення в контакт сполуки Формули I з адипіною кислотою з отриманням солі адипату сполуки Формули I.

10

---

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

---

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,  
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601