



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **121857** (13) **C2**  
(51) МПК (2020.01)

**A61K 31/00**

**A61K 31/519** (2006.01)

**A61K 45/06** (2006.01)

**A61P 35/02** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>а 2016 09815</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Ваді Крішна (US)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>27.02.2015</b>	<b>(73)</b> Власник(и): <b>ІНСАЙТ 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>10.08.2020</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>61/946,124</b>	<b>(56)</b> Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2014/186706 A1 (INCYTE CORP [US]), 20.11.2014 WO 2014/071031 A1 (INCYTE CORP [US]), 08.05.2014 WO 2012/071612 A1 (YM BIOSCIENCES AUSTRALIA PTY [AU]; SMITH GREGG DAVID [AU]; FIDA ROSE), 07.06.2012 US 2014/004516 A1 (SATTTLER MARTIN [US] ET AL.), 02.01.2014 EGHTEDAR A. ET AL., "Phase 2 study of the JAK kinase inhibitor ruxolitinib in patients with refractory leukemias, including postmyeloproliferative neoplasm acute myeloid leukemia", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 119, no. 20, 17.05.2012, pages 4614 - 4618 Anonymous, "Ruxolitinib for Patients With Low or Intermediate-1 Risk Myelodysplastic Syndrome (MDS)", 19.08.2013, ClinicalTrials.gov archive US 2012/149681 A1 (RODGERS JAMES D [US] ET AL.), 14.06.2012 US 2014/005166 A1 (RODGERS JAMES D [US] ET AL.), 02.01.2014
<b>(32)</b> Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>28.02.2014</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>25.11.2016, Бюл.№ 22</b>	
<b>(46)</b> Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.08.2020, Бюл.№ 15</b>	
<b>(86)</b> Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ <b>PCT/US2015/017963,</b> <b>27.02.2015</b>	

## (54) ІНГІБІТОРИ JAK1 ДЛЯ ЛІКУВАННЯ МІЄЛОДИСПЛАСТИЧНИХ СИНДРОМІВ

### (57) Реферат:

Цей винахід стосується селективних інгібіторів JAK1, зокрема похідних піроло[2,3-d]піримідину й піроло[2,3-b]пирідину і їхнього застосування в лікуванні мієлодиспластичних синдромів (МДС).

UA 121857 C2



Ця заявка заявляє пріоритет щодо попередньої заявки на патент США № 61/946,124, поданої 28 лютого 2014 р., яку в повному обсязі включено в цей документ шляхом посилання.

#### ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ

Цей винахід стосується селективних інгібіторів JAK1 і їхнього застосування в лікуванні мієлодиспластичних синдромів (МДС).

#### РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Мієлодиспластичні синдроми (МДС), раніше відомі як дисмієлопоетичні синдроми або прелейкоз, являють собою гетерогенні й клональні гемопоетичні порушення, які характеризуються неефективним гемопоезом у одній або більше основних ліній мієлоїдних клітин. Мієлодиспластичні синдроми пов'язані з недостатністю кісткового мозку, цитопеніями периферичної крові й схильністю до прогресування в гострий мієлолейкоз (ГМЛ). Крім того, приблизно в 50 % випадків МДС можуть бути виявлені клональні цитогенетичні патологічні зміни. У загальній популяції МДС зустрічається у 5 людей на 100000, з віком захворюваність збільшується, досягаючи у осіб старше 70 років приблизно 22-45 випадків на 100000 (Greenberg, The myelodysplastic syndromes in Hoffman, et al, eds. Hematology: Basic Principles and Practice (3rd ed.), Churchill Livingstone; 2000:1106-1129; Liesveld and Lichtman, Chapter 88. Myelodysplastic Syndromes (Clonal Cytopenias and Oligoblastic Myelogenous Leukemia), in Prchal et al, eds. Williams Hematology. 8th ed., New York: McGraw-Hill; 2010). Незважаючи на наукові досягнення в галузі наших знань щодо патофізіології МДС, існує декілька доступних варіантів терапії, і вони в основному є паліативними, особливо коли уражені пацієнти не є кандидатами для трансплантації гемопоетичних стовбурових клітин (ТГСК).

Стандарт медичної допомоги для МДС включає підтримуючу терапію, яка включає спостереження й клінічний контроль, психосоціальну підтримку, а також зусилля щодо покращення якості життя (Cheson, et al, Blood 2000; 96:3671-3674; Venugopal et al. Cancer Treat Res 2001;108:257-265; Greenberg, Int J Ped Hem-Onc 1997; 4:231-238). Крім того, у випадку симптоматичної анемії необхідне переливання еритроцитарної маси, а у випадках кровотечі внаслідок тромбоцитопенії необхідне переливання тромбоцитарної маси. У пацієнтів із мієлодиспластичним синдромом, які потребують переливання еритроцитарної маси, можуть розвинути ускладнення, включаючи розвиток аллоантитіл, що вимагає збільшення частоти переливань, і перевантаження залізом з ураженням таких органів-мішеней, як печінка, серце й ендокринні органи, що вимагає хелатування заліза для підтримки феритину в сироватці на рівні < 1000 мкг/л (Venugopal et al 2001 (вище), Greenberg 1997 (вище)). У випадках рефрактерної симптоматичної цитопенії необхідна гемопоетична цитокінова підтримка, наприклад, для МДС із нейтропенією і інфекційними ускладненнями - застосування рекомбінантного людського гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора (G-CSF) або гранулоцитарно-моноцитарного CSF (GM-CSF), а для симптоматичної анемії - застосування агента, що стимулює еритропоез (ECA) (Cheson et al 2000 (вище), Jädersten et al 2005;106:803-811; Schiffer, Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2006:205-210). На ранній стадії МДС, тобто коли ризик згідно з Міжнародною шкалою оцінки прогнозу IPSS є низьким або ризик за IPSS є проміжним-1, симптоматична анемія є найбільш поширеною причиною, що потребує терапевтичного втручання. Застосування ECA приносить користь лише частині цих пацієнтів, причому найвищий рівень відповіді спостерігається у пацієнтів, які не є залежними від переливання еритроцитарної маси, або у пацієнтів з низьким рівнем ендogenous EPO (< 500 МО) (Cheson et al 2000 (вище), Jädersten et al 2005 (вище), Schiffer 2006 (вище), Fenaux, et al., Lancet Oncol 2009;10:223-232). Зрештою пацієнти перестають відповідати на терапію ECA і потребують підтримки з переливанням еритроцитарної маси, хоча ECA, як правило, триває навіть за необхідності переливань еритроцитарної маси й низького рівня ретикулоцитів. Необхідність переливання може змінюватися, і на неї можуть впливати супутні медичні стани, які потребують більш високого рівня Hgb, такі як стенокардія, розвиток аллоантитіл до еритроцитів, спленомегалія і прихована шлунково-кишкова кровотеча, спричинена тромбоцитопенією або дисфункцією тромбоцитів (Venugopal et al 2001 (вище), Greenberg 1997 (вище), Fenaux et al 2009 (вище)).

Низькоінтенсивна терапія включає застосування хіміотерапії низької інтенсивності або модуляторів біологічної відповіді (BRM). Було продемонстровано, що в рандомізованих дослідженнях фази 3 гіпометилуючі агенти, такі як інгібітори ДНК-метилтрансферази 5-азацитидин і децитабін (5-аза-2'-дезоксидефосфат), зменшують ризик лейкозної трансформації й покращують загальну виживаність частини пацієнтів (Fenaux et al 2009 (вище), Silverman, J Clin Oncol 2002;20:2429-2440; Silverman, J Clin Oncol 2006;24:3895-3903). Аналогічно, децитабін продемонстрував більш високий рівень відповіді захворювання, тривалість ремісії, час до прогресування ГМЛ і збільшення виживаності у пацієнтів із МДС із захворюванням із проміжним

ризиком і високим ризиком. Крім того, децитабін продемонстрував значне покращення якості життя за оцінкою пацієнтів (на основі даних Європейської організації з дослідження та лікування раку [EORTC QLQ C30]) щодо ступенів втоми й фізичного функціонування (Kantarjian, et al., Cancer 2006;106:1794–1803; Lübbert, et al., Br J Haematol 2001; 114:349–357; Lübbert, et al., J Clin Oncol 2011;29:1987–1996). Обидва препарати, 5-азацитидин і децитабін, схвалені для лікування МДС, і зокрема забезпечують клінічні переваги й рекомендовані комісією NCCN МДС для лікування пацієнтів з проміжним-2 і високим ризиком МДС за шкалою IPSS (Національна багатопрофільна мережа онкологічних установ (NCCN). Керівництва щодо лікування мієлодиспластичних синдромів, версія 1. 2012. [www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp)).

Запальні молекули задіяні в МДС як регулюючі сигнали керування проліферацією й апоптозом загибеллю гемопоетичних клітин-попередників. Вважають, що основним чинником у патогенезі захворювання є хронічна стимуляція імунної системи в поєднанні з залежними від старіння змінами як в гемопоетичних стовбурових клітинах/клітинах-попередниках (HSPC), так і в мікросередовищі кісткового мозку (КМ). Усе більше даних вказує на активацію вродженої імунної сигналізації як у гемопоетичному старінні, так і в патології МДС (Chen et al., 2014). Як такі, імуномодулятори, які включають інгібітори Т-клітин, такі як антитимоцитарний глобулін (ATG), циклоsporин, талідомід і його аналог леналідомід (Molldrem, et al., Br J Haematol 1997;99:699-705; Sloand, et al., J Clin Oncol 2008;26:2505–2511; Raza, et al., Blood 2008;111:86–93; Fenaux, et al., Blood 2011;118:3765–3776; List, et al., N Engl J Med 2005; 352:549–557), застосовуються як низькоінтенсивні агенти для лікування МДС. Терапія МДС високої інтенсивності включає інтенсивну індукційну хіміотерапію, яка застосовується для лікування ГМЛ і ТГСК. Були випробувані різні інтенсивні хіміотерапевтичні схеми, оскільки вони мають потенційну можливість зміни природного перебігу захворювання, і порівняльні дослідження не продемонстрували перевагу; дослідження цього підходу продовжується, і він залишається можливим варіантом лікування пацієнтів із МДС із захворюванням із високим ступенем ризику. Кращим варіантом для пацієнтів із МДС і єдиним лікувальним способом терапії МДС із високим ризиком є аллогенна ТГСК, переважно від сумісного донора, що є рідним братом або сестрою, але відсутність відповідного донора й наявність супутніх захворювань, пов'язаних із похилим віком, часто перешкоджають проведенню пацієнтам цієї процедури (NCCN 2012 (вище); Larson, Best Pract Res Clin Hematol 2006;19:293–300; Schiffer, Best Pract Res Clin Hematol 2007;20:49–55).

Відповідно, існує необхідність у розробці нових терапевтичних засобів для лікування мієлодиспластичних синдромів. Ця заявка вирішує цю і інші потреби.

#### СУТЬ ВІНАХОДУ

У цій заявці запропоновано способи лікування мієлодиспластичного синдрому (МДС) у пацієнта, який цього потребує, які включають введення вказаному пацієнтові терапевтично ефективної кількості селективного інгібітора JAK1 або його фармацевтично прийнятної солі.

У цій заявці додатково запропоновано селективний інгібітор JAK1 для лікування мієлодиспластичного синдрому у пацієнта, який цього потребує.

У цій заявці також запропоновано використання селективного інгібітора JAK1 для виробництва лікарського засобу для застосування в лікуванні мієлодиспластичного синдрому у пацієнта, який цього потребує.

#### ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ВІНАХОДУ

У способах, описаних у цьому документі, використовуються селективні інгібітори JAK1. Селективний інгібітор JAK1 являє собою сполуку, яка переважно інгібує активність JAK1 порівняно з іншими Янус-кіназами. JAK1 відіграє головну роль у низці сигнальних шляхів цитокінів і факторів росту, що за порушення регуляції може призвести до станів захворювання або сприяти їхньому розвитку. Наприклад, рівні IL-6 підвищені при ревматоїдному артриті, захворюванні, для якого це, як вважають, має руйнівні наслідки (Fonesca, et al., Autoimmunity Reviews, 8:538-42, 2009). Оскільки передача сигналів IL-6 відбувається, принаймні частково, через JAK1, очікується, що прямий або опосередкований через інгібування JAK1 антагонізм IL-6 надаватиме клінічну перевагу (Guschin, et al Embo J 14:1421, 1995; Smolen, et al. Lancet 371:987, 2008). Крім того, при деяких видах раку відбувається мутація JAK1, що призводить до конститутивно небажаного росту й виживанню пухлинних клітин (Mullighan, Proc Natl Acad Sci USA 106:9414-8, 2009; Flex, J Exp Med. 205:751–8, 2008). Під час інших аутоімунних захворювань і ракових захворювань підвищені системні рівні запальних цитокінів, які активують JAK1, можуть також сприяти захворюванню й/або пов'язаним із ним симптомам. Таким чином, пацієнти з такими захворюваннями можуть отримати користь від інгібування JAK1. Селективні

інгібітори JAK1 можуть бути ефективними, у той самий час уникаючи непотрібних і потенційно небажаних ефектів інгібування інших JAK-кіназ.

Селективні інгібітори JAK1 можуть мати багато терапевтичних переваг щодо інших JAK-кіназ порівняно з менш селективними інгібіторами. Що стосується селективності щодо JAK2, низка важливих цитокінів і факторів росту, включаючи, наприклад, еритропоетин (ЕРО) і тромбопоетин (ТРО), передають сигнал через JAK2 (Parganas, et al. Cell. 93:385–95, 1998). ЕРО є ключовим фактором росту для вироблення еритроцитів; отже недостатність ЕРО-залежної сигналізації може привести до зниження кількості еритроцитів і анемії (Kaushansky, NEJM 354:2034–45, 2006). ТРО, ще один приклад JAK2-залежного фактора росту, відіграє головну роль у контролі проліферації й дозрівання мегакаріоцитів - клітин, із яких походять тромбоцити (Kaushansky, NEJM 354:2034-45, 2006). Таким чином, зниження ТРО-сигналізації може зменшувати кількість мегакаріоцитів (мегакаріоцитопенія) і зменшувати кількість циркулюючих тромбоцитів (тромбоцитопенія). Це може призводити до 5 небажаної й/або неконтрольованої кровотечі. Також може бути бажаним знижене інгібування інших JAK, таких як JAK3 і Тук2, оскільки, як було продемонстровано, люди, що не мають функціональну версію цих кіназ страждають від численних розладів, таких як тяжкий комбінований імунodefіцит або синдром гіперімунглобуліну Е (Minegishi, et al. Immunity 25:745–55, 2006; Macchi, et al. Nature, 377:65-8, 1995). Тому інгібітор JAK1 зі зниженою фінністю до інших JAK матиме значні переваги порівняно з менш селективним інгібітором щодо зниження побічних ефектів, пов'язаних з імуносупресією, анемією і тромбоцитопенією.

Запальні цитокіни відіграють значущу роль у патогенезі МДС, що призводить до цитопеній і диспластичного гемопоєзу. Передбачається, що стримування активності цих запальних цитокінів сприятиме нормальному гемопоєзу й зменшить передчасний апоптоз клітин-попередників у кістковому мозку. Запальні цитокіни опосередковують низхідні ефекти шляхом активації JAK, що включає контактне розташування JAK із ліганд-опосередкованою димеризацією й транс/аутофосфорилуванням рецептора. Отримані гетеродимери JAK, що складаються з JAK1 і JAK2 або JAK1 і JAK3, перетворюють сигнали й опосередковують клітинні відповіді цих цитокінів. Крім того, гомодимери JAK, що складаються тільки з JAK2, перетворюють сигнали від факторів росту кісткового мозку, таких як ЕРО, який відповідає за стимулювання еритропоєзу, і ТРО, який відповідає за стимулювання тромбопоєзу. Таким чином, селективний інгібітор JAK1 призводитиме до припинення сигналізації запальних цитокінів без інгібування JAK2-опосередкованого еритропоєзу й тромбопоєзу, що призведе до відновлення нормального гемопоєзу й полегшення мієлоїдних цитопеній.

Незважаючи на наукові досягнення в галузі наших знань щодо патофізіології МДС, існує декілька доступних варіантів терапії, і вони в основному є паліативними, особливо, коли уражені пацієнти не є кандидатами для ТГСК. Низка досліджень показала, що МДС є клональним захворюванням, і продемонструвала, що збільшений клон був результатом надмірної проліферації гемопоетичних клітин-попередників у кістковому мозку. Досліджували парадокс гіперпроліферативного стану в кістковому мозку, що веде до периферійної цитопенії, і виявили, що існує надмірна ступінь інтрамедулярно запрограмованої загибелі клітин або апоптозу гемопоетичних клітин. Цей апоптоз спостерігається у пацієнтів з усіх категорій франко-американо-британської (FAB) класифікації, але у пацієнтів із підвищеною кількістю бластів він був знижений. Виявилося, що клональна популяція поступово ставала стійкою до апоптозу й набувала проліферативної переваги щодо нормальних гемопоетичних клітин-попередників, що призводило до збільшення кількості бластів і розвитку ГМЛ. Крім того, стало очевидним, що надмірний апоптоз значною мірою був опосередкований низкою прозапальних цитокінів, які надмірно експресуються в кістковому мозку пацієнтів із МДС. Залучені до патології МДС цитокіни 5 включають фактор некрозу пухлини-альфа (TNF- $\alpha$ ), інтерферон-гамма (IFN  $\gamma$ ) і IL-1 $\beta$ . Висока концентрація в плазмі TNF- $\alpha$ , класичного проапоптичного цитокіна, спостерігалась у периферичній крові і кістковому мозку пацієнтів із МДС, а більш висока експресія рецепторів TNF інформаційної рибонуклеїнової кислоти (iРНК) спостерігалась в мононуклеарних клітинах кісткового мозку, отриманих від пацієнтів із МДС. Аналогічно, збільшення кількості IFN- $\gamma$  і IL-1 $\beta$  було виявлено в мононуклеарних клітинах кісткового мозку при МДС, і IL-1 $\beta$  був залучений у розвиток ГМЛ із МДС. IL-1 $\beta$  має змінні види регуляторного впливу на гемопоетичні клітини, оскільки він стимулює GM-CSF і IL-3, у той час як під час запальних станів спостерігаються його більш високі концентрації, що призводить до пригнічення гемопоєзу шляхом індукції TNF- $\alpha$  і простагландину E2, причому останній є потужним супресором проліферації мієлоїдних стовбурових клітин. Крім того, у мієлоїдних клітинах, отриманих від пацієнтів із МДС, спостерігалися високі рівні IL-6, фактора росту фібробластів, фактора росту гепатоцитів і трансформуючого фактора росту  $\beta$ . Крім того, саме цитокіни, які пригнічують нормальну

гемопоетичну проліферацію й дозрівання, не здійснюють проапоптотичний вплив на аномальний клон, що розвивається, і це призводить до селективної проліферації цих аномальних клітин. Є докази того, що джерелом цих прозапальних цитокінів є змінене мікросередовище кісткового мозку, яке зазвичай підживлює нормальні гемопоетичні клітини до проліферації і диференціації, що також може бути причиною інфільтрації імунних регуляторних клітин і ангіогенезу, що сприяє патології МДС (Raza, et al., Blood 1995;86:268-276; Raza, et al, Int J Hematol 25 1996a; 63:265-278; Raza, et al., Leuk Res 1996b; 20:881-890; Mundle, et al. Am J Hematol 1999;60:36-47; Claessens, et al., Blood 2002;99:1594-1601).

Концепція, що прозапальний стан, опосередкований цитокінами, відповідає за етіологію МДС, призвела до нового підходу - антицитокінової терапії для покращення цитопеній при МДС шляхом захисту від передчасного апоптозу гемопоетичних клітин, що диференціюються. Було продемонстровано, що засоби проти TNF- $\alpha$ , такі як талідомід і його аналог леналідомід, інфліксимаб і етанерцепт, були ефективними для покращення цитопенії у пацієнтів із МДС (NCCN 2012 (вище), Larson 2006 (вище), Schiffer 2007 (вище)). У дослідженні за участі 14 пацієнтів із МДС етанерцепт продемонстрував еритроїдні гематологічні покращення у 25 % пацієнтів разом із покращенням кількості тромбоцитів і абсолютної кількості нейтрофілів (AKN) у 12,5 % пацієнтів, які піддавались оцінюванню. Крім того, комбіноване періодичне введення етанерцепта і ATG призводило до більш значного еритроїдного гематологічного покращення, і 5 із 14 пацієнтів із МДС, які потребували переливання, стали незалежними від переливання еритроцитарної маси й тромбоцитарної маси, що тривало понад 2 роки. У дослідженні, в якому вивчали талідомід у лікуванні МДС, із 83 пацієнтів, включених у дослідження, 51 завершили 12 тижнів терапії, і у 16 пацієнтів спостерігалось гематологічне покращення, причому 10 пацієнтів, які раніше були залежними від переливання, стали незалежними від переливання, і більшість респондентів за шкалою IPSS належали до категорії з низьким ризиком або проміжним - 1 ризиком (NCCN 2012 (вище)). Крім того, пацієнти з категорії з більш високим ризиком, особливо з високим відсотком бластів, як правило, мають тенденцію припиняти лікування на ранньому етапі. Іншим підходом до стримування впливів прозапальних цитокінів є інгібування їхніх клітинних відповідей. Значна кількість цитокінів і рецепторів факторів росту використовують родину JAK з нерецепторними ТУК для передачі позаклітинного зв'язування ліганду в клітинну відповідь через сигналізацію фактора транскрипції STAT.

Існує 4 представника родини JAK: JAK1, JAK2, JAK3 і ТУК2. JAK конститутивно асоціюються з цитокінами і рецепторами факторів росту і активуються як безпосередній наслідок ліганд-індукованої димеризації рецептора, причому активація JAK відбувається під час подальшого контактного розташування JAK, а в петлі активації каталітичного домену JAK спостерігається транс/аутофосфорилування збережених залишків тирозину. Після фосфорилування цих залишків тирозину JAK входять у стан високої активності, після чого вони здатні фосфорилувати специфічні залишки тирозину на цитокінових рецепторах, які слугують як стикувальні сайти для багатьох білків, включаючи білки STAT. JAK є основною родиною кіназ, пов'язаних з активацією STAT. Активовані STAT переміщуються в ядро, де вони функціонують як фактори транскрипції й керування експресією багатьох генів, які є важливими для активації, локалізації, виживання й проліферації клітин.

Руксолітиніб, інгібітор JAK1 і JAK2, продемонстрував значне зменшення розміру селезінки й покращення симптомів у пацієнтів із мієлофіброзом. Ці покращення були очевидні у суб'єктів із мутацією V617F у JAK2 і без неї, і, ймовірно, це пов'язане з інгібуванням прозапальних цитокінів. Основними несприятливими подіями (НП), які спостерігаються під час застосування руксолітинібу, є тромбоцитопенія й анемія; обидві були нечастою причиною припинення дослідження в подвійному сліпому плацебо-контрольованому дослідженні фази 3, і обидві пов'язані, принаймні частково, із мієлосупресією, опосередкованою JAK2. Тому припускають, що селективне інгібування JAK1 буде здійснювати позитивний вплив інгібування прозапальних цитокінів у пацієнтів із МДС і призводити до покращення цитопеній, що виникли внаслідок передчасного апоптозу гемопоетичних клітин-попередників. Крім того, помірна активність JAK2 могла би забезпечити фізіологічну активність гемопоетичних цитокінів, а саме ЕРО і ТРО, щоб забезпечити фізіологічну проліферацію й диференціювання нормальних гемопоетичних клітин.

Крім того, нещодавно отримані дані дозволяють припустити, що перевантаження залізом, яке часто зустрічається у пацієнтів із МДС, впливає як на загальне виживання, так і на виживання без лейкозу. Було висловлено припущення, що змінене виробництво гепсидину, нещодавно виявленого ключового гормону, що регулює гомеостаз заліза, може відігравати певну роль у цьому відношенні й регулюватися прозапальними цитокінами, такими як IL-6. Нещодавно було продемонстровано, що при МДС підвищуються рівні як гепсидину, так і С-реактивного білка (СРБ), як маркера загального запалення. Santini, et al., PLoS One, 6 (8),

e23109, pages 1-8 (2011). Ці дані свідчать про те, що інгібування JAK, яке може зменшити рівні CRP і гепсидину, може повернути назад запалення й перевантаження залізом, яке відбувається під час МДС.

Відповідно, у цій заявці запропоновано, серед іншого, спосіб лікування мієлодиспластичного синдрому у пацієнта, який цього потребує, який включає введення вказаному пацієнтові терапевтично ефективної кількості селективного інгібітора JAK1 або його фармацевтично прийнятної солі. У цьому документі мієлодиспластичний синдром відповідає класифікації МДС, запропонованій Всесвітньою організацією охорони здоров'я в 2008р. (див., наприклад, таблицю 1). Зокрема в 1997р. Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) спільно з Товариством гематопатології (SH) і Європейською асоціацією гематопатології (EANP) запропонували нові класифікації гемопоетичних новоутворень (Harris, et al., J Clin Oncol 1999; 17:3835-3849; Vardiman, et al., Blood 2002; 100:2292-2302). Для класифікації МДС ВООЗ використовувала не тільки морфологічні критерії з франко-американо-британської (FAB) класифікації, але також включила доступні генетичні, біологічні й клінічні характеристики для визначення підмножин МДС (Bennett, et al., Br J Haematol 1982; 51:189-199). У 2008 р. класифікація МДС ВООЗ (таблиця 1) була додатково вдосконалена, щоб забезпечити точну й прогностично релевантну класифікацію однолінійної дисплазії шляхом включення нової клінічної і наукової інформації (Vardiman, et al., Blood 2009; 114:937-951; Swerdlow, et al., WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th Edition. Lyon France: IARC Press; 2008:88-103; Bunn and Germing, Myelodysplastic syndromes/neoplasms, Chapter 5, Swerdlow, et al, eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. (ed. 4th edition): Lyon, France: IARC Press; 2008:88-103).

Таблиця 1

Класифікація ВООЗ мієлодиспластичного синдрому, що виник уперше, 2008 р.

Підтип	Кров	Кістковий мозок
Рефрактерна цитопенія з однолінійною дисплазією (РЦОД)	Цитопенія в одній або двох лініях	Дисплазія в 1 клітинній лінії $\geq 10\%$ , $< 5\%$ бластів
Рефрактерна анемія з кільцевими сидеробластами (РАКС)	Анемія, бласти відсутні	$\geq 15\%$ попередників еритроцитів із кільцевими сидеробластами, дисплазія обмежена лише еритроїдними клітинами, $< 5\%$ бластів
Рефрактерна цитопенія з мультилінійною дисплазією	Цитопенія (-ї), $< 1 \times 10^9/\text{л}$ моноцитів	Дисплазія $\geq 10\%$ клітин у $\geq 2$ гемопоетичних лініях, $\pm 15\%$ кільцевих сидеробластів, $< 5\%$ бластів
Рефрактерна анемія з надлишком бластів-1 (РАНБ-1)	Цитопенія (-ї), від $\leq 2\%$ до $4\%$ бластів, $< 1 \times 10^9/\text{л}$ моноцитів	Однолінійна або мультилінійна дисплазія, палички Ауера відсутні, від $5\%$ до $9\%$ бластів
Рефрактерна анемія з надлишком бластів-2 (РАНБ-2)	Цитопенія (-ї), від $\leq 5\%$ до $19\%$ бластів, $< 1 \times 10^9/\text{л}$ моноцитів	Дисплазія клітин однієї або декількох ліній, $\pm$ палички Ауера, від $10\%$ до $19\%$ бластів
Некласифікований мієлодиспластичний синдром (МДС-Н)	Цитопенії	Дисплазія однолінійна або відсутня, але цитогенетика характерна для МДС, $< 5\%$ бластів
МДС, пов'язана з ізольованою делецією 5q	Анемія, кількість тромбоцитів нормальна або підвищена	Однолінійний дизеритропоез. Ізольована делеція 5q, $< 5\%$ бластів

У деяких варіантах втілення селективний інгібітор JAK1 має більшу селективність до JAK1 порівняно з JAK2, JAK3 і TYK2. Наприклад, сполуки, описані в цьому документі, або їхня фармацевтично прийнятна сіль переважно інгібує JAK1 порівняно з одним або більше JAK2, JAK3 і TYK2. У деяких варіантах втілення сполуки інгібують переважно JAK1 порівняно з JAK2 (наприклад, із співвідношенням  $IC_{50} \text{ JAK1/JAK2} > 1$ ). У деяких варіантах втілення сполуки або

солі мають приблизно в 10 разів більшу селективність до JAK1, ніж до JAK2. У деяких варіантах втілення сполуки або солі мають приблизно в 3 рази, приблизно в 5 разів, приблизно в 10 разів, приблизно в 15 разів або приблизно в 20 разів більшу селективність до JAK1, ніж до JAK2 за результатами розрахунку шляхом вимірювання  $IC_{50}$  за присутності 1 мМ АТФ (наприклад, див. приклад А).

5

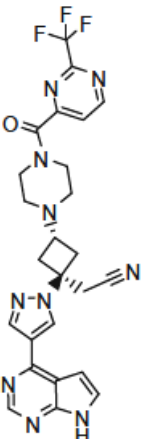
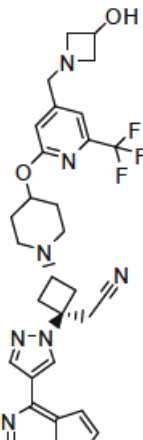
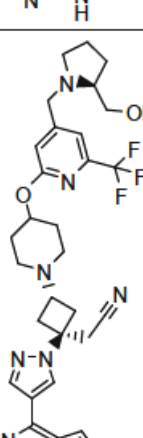
У деяких варіантах втілення селективний інгібітор JAK1 є сполукою, наведеною в таблиці 2, або її фармацевтично прийнятною сіллю.

Таблиця 2.

Отрим. у прикладі №	Назва	Структура	JAK1 $IC_{50}$ (нМ)	JAK2/JAK1
1 <sup>a</sup>	3-[1-(6-хлорпіридин-2-іл)піролідин-3-іл]-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрил		+	> 10
2	3-(1-[1,3]оксазоло[5,4-b]піридин-2-іл)піролідин-3-іл)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрил		+	> 10
3	4-[(4-{3-ціано-2-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропіл}піперазин-1-іл)карбоніл]-3-фторбензонітрил		+	> 10
4	4-[(4-{3-ціано-2-[3-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-пірол-1-іл]пропіл}піперазин-1-іл)карбоніл]-3-фторбензонітрил		+	> 10



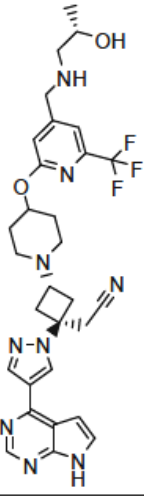
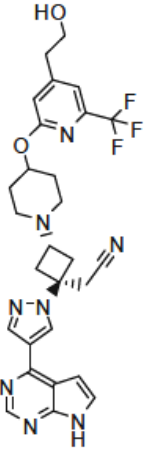
Отрим. у прикладі №	Назва	Структура	JAK1 IC <sub>50</sub> (нМ)	JAK2/ JAK1
5	{1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)ізонікотиноїл]піперидин-4-іл}-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрil}		+	> 10
6	4-{3-(ціанометил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-[4-фтор-2-(трифторметил)феніл]піперидин-1-карбоксамід		+	> 10
7	[3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]-1-(1-{[2-(трифторметил)піримідин-4-іл]карбоніл} піперидин-4-іл)азетидин-3-іл]ацетонітрil}		+	> 10

Отрим. у прикладі №	Назва	Структура	JAK1 IC <sub>50</sub> (нМ)	JAK2/ JAK1
8	[ <i>транс</i> -1-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]-3-(4-{{2-(трифторметил)піримідин-4-іл}карбоніл}піперазин-1-іл)циклобутил]ацетонітрил		+	> 10
9	{ <i>транс</i> -3-(4-{{4-[(3-гідроксіазетидин-1-іл)метил]-6-(трифторметил)піридин-2-іл}окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил		+	> 10
10	{ <i>транс</i> -3-(4-{{4-[[{(2S)-2-(гідроксиметил)піролідин-1-іл]метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл}окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил		+	> 10

Отрим. у прикладі №	Назва	Структура	JAK1 IC <sub>50</sub> (нМ)	JAK2/ JAK1
11	{ <i>транс</i> -3-(4-{[4-{[(2R)-2-(гідроксиметил)піролідин-1-іл]метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]циклобутил} ацетонітрил		+	> 10
12 <sup>b</sup>	4-(4-{3-[(диметиламіно)метил]-5-фторфенокси}піперидин-1-іл)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]бутаннітрил		+	> 10
13	5-{3-(ціанометил)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-ізопропілпіразин-2-карбоксамід		+	> 10
14	4-{3-(ціанометил)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилетил]бензамід		+	> 10

Отрим. у прикладі №	Назва	Структура	JAK1 IC <sub>50</sub> (нМ)	JAK2/ JAK1
15	5-{3-(ціанометил)-3-[4-(1H-піроло[2,3-b]піридин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-ізопропілпіразин-2-карбоксамід		+	> 10
16	{1-(цис-4-{[6-(2-гідроксіетил)-2-(трифторметил)піримідин-4-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил		+	> 10
17	{1-(цис-4-{[4-[(етиламіно)метил]-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил		+	> 10
18	{1-(цис-4-{[4-(1-гідрокси-1-метилетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил		+	> 10
19	{1-(цис-4-{[4-{[(3R)-3-гідроксипіролідин-1-іл]метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил		+	> 10

Отрим. у прикладі №	Назва	Структура	JAK1 IC <sub>50</sub> (нМ)	JAK2/ JAK1
20	{1-( <i>цис</i> -4-{[4-{[(3S)-3-гідроксипіролідин-1-іл]метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил		+	> 10
21	{ <i>транс</i> -3-(4-{[4-{[(1S)-2-гідрокси-1-метилетил]аміно}метил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил		+	> 10
22	{ <i>транс</i> -3-(4-{[4-{[(2R)-2-гідроксипропіл]аміно}метил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил		+	> 10

Отрим. у прикладі №	Назва	Структура	JAK1 IC <sub>50</sub> (нМ)	JAK2/ JAK1
23	{ <i>транс</i> -3-(4-{[4-({[(2 <i>S</i> )-2-гідроксипропіл]аміно} метил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси} піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3- <i>d</i> ]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил} ацетонітрил		+	> 10
24	{ <i>транс</i> -3-(4-{[4-(2-гідроксіетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси} піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3- <i>d</i> ]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил} ацетонітрил		+	> 10

+ середні показники < 10 нМ (див. приклад А щодо умов аналізу)

<sup>a</sup> Дані для енантіомера 1

<sup>b</sup> Дані для енантіомера 2

У деяких варіантах втілення селективний інгібітор JAK1 являє собою сіль адипінової кислоти {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)ізонікотиноіл]піперидин-4-іл}-3-[4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу.

У деяких варіантах втілення селективний інгібітор JAK1 вибирають з-поміж (R)-3-[1-(6-хлорпіридин-2-іл)піролідин-3-іл]-3-[4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрилу, (R)-3-(1-[1,3]оксазоло[5,4-*b*]піридин-2-ілпіролідин-3-іл)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрилу, (R)-4-[(4-{3-ціано-2-[4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропіл}піперазин-1-іл)карбоніл]-3-фторбензонітрилу, (R)-4-[(4-{3-ціано-2-[3-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-пірол-1-іл]пропіл}піперазин-1-іл)карбоніл]-3-фторбензонітрилу або (R)-4-(4-{3-[(диметиламіно)метил]-5-фторфенокси}піперидин-1-іл)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]бутаннітрилу; або фармацевтично прийнятної солі будь-якої з вищезазначених сполук.

У деяких варіантах втілення селективний інгібітор JAK1 вибирають з-поміж (S)-3-[1-(6-хлорпіридин-2-іл)піролідин-3-іл]-3-[4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрилу, (S)-3-(1-[1,3]оксазоло[5,4-*b*]піридин-2-ілпіролідин-3-іл)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрилу, (S)-4-[(4-{3-ціано-2-[4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропіл}піперазин-1-іл)карбоніл]-3-фторбензонітрилу, (S)-4-[(4-{3-ціано-2-[3-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-пірол-1-іл]пропіл}піперазин-1-іл)карбоніл]-3-фторбензонітрилу або (S)-4-(4-{3-[(диметиламіно)метил]-5-фторфенокси}піперидин-1-іл)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]бутаннітрилу; або фармацевтично прийнятної солі будь-якої з вищезазначених сполук.

У деяких варіантах втілення селективний інгібітор JAK1 являє собою GLPG0634 (Galapagos).

У деяких варіантах втілення сполуки з таблиці 2 отримують синтетичними способами, описаними в публікації патенту США № 2010/0298334, поданій 21 травня, 2010р., публікації патенту США № 2011/0059951, поданій 31 серпня, 2010р., публікації патенту США № 2011/0224190, поданій 9 березня, 2011р., публікації патенту США № 2012/0149681, поданій 18 листопада, 2011р., публікації патенту США № 2012/0149682, поданій 18 листопада, 2011р., публікації патенту США 2013/0018034, поданій 19 червня, 2012р., публікації патенту США № 2013/0045963, поданій 17 серпня, 2012р., публікації патенту США № 2014/0005166, поданій 17 травня, 2013р., кожну з яких у повному обсязі включено в цей документ шляхом посилання.

У деяких варіантах втілення інгібітор JAK1 вибирають з-поміж сполук, наведених у публікації патенту США № 2010/0298334, поданій 21 травня, 2010р., публікації патенту США № 2011/0059951, поданій 31 серпня, 2010р., публікації патенту США № 2011/0224190, поданій 9 березня, 2011р., публікації патенту США № 2012/0149681, поданій 18 листопада, 2011р., публікації патенту США № 2012/0149682, поданій 18 листопада, 2011р., публікації патенту США № 2013/0018034, поданій 19 червня, 2012р., публікації патенту США № 2013/0045963, поданій 17 серпня, 2012р., публікації патенту США № 2014/0005166, поданій 17 травня, 2013р., кожну з яких у повному обсязі включено в цей документ шляхом посилання.

У деяких варіантах втілення мієлодиспластичний синдром являє собою рефрактерну цитопенію з однолінійною дисплазією (РЦОД).

У деяких варіантах втілення мієлодиспластичний синдром являє собою 5 рефрактерну анемію з кільцевими сидеробластами (РАКС).

У деяких варіантах втілення мієлодиспластичний синдром являє собою рефрактерну цитопенію з мультилінійною дисплазією.

У деяких варіантах втілення мієлодиспластичний синдром являє собою рефрактерну анемію з надлишком бластів-1 (РАНБ-1).

У деяких варіантах втілення мієлодиспластичний синдром являє собою рефрактерну анемію з надлишком бластів-2 (РАНБ-2).

У деяких варіантах втілення мієлодиспластичний синдром являє собою некласифікований мієлодиспластичний синдром (МДС-Н).

У деяких варіантах втілення мієлодиспластичний синдром являє собою мієлодиспластичний синдром, пов'язаний із ізольованою делецією 5q.

У деяких варіантах втілення мієлодиспластичний синдром є рефрактерним до агентів, що стимулюють еритропоез (ЕСА). У деяких варіантах втілення рефрактерність до ЕСА означає відсутність покращення рівнів Hgb принаймні на 1,5 г/дл після 8 тижнів введення принаймні 40000 МО/тиждень еритропоєтину (ЕРО) (або еквівалента).

У деяких варіантах втілення пацієнт є залежним від переливання еритроцитарної маси (еритроцитів). У деяких варіантах втілення залежність від переливання еритроцитарної маси означає, що пацієнтові необхідно ввести принаймні 4 одиниці упакованої еритроцитарної маси для досягнення Hgb < 9 г/дл протягом 8 тижнів перед лікуванням.

У деяких варіантах втілення пацієнт має підвищені рівні гепсидину в сироватці порівняно з контрольною групою здорових індивідуумів. У деяких варіантах втілення пацієнт має підвищену концентрацію С-реактивного білка (СРБ) у сироватці порівняно з контрольною групою здорових індивідуумів. У деяких варіантах втілення підвищена концентрація СРБ у сироватці дорівнює або перевищує приблизно 10 мкг/мл. У деяких варіантах втілення визначення здорового індивідуума є таким, як наведено в публікації Santini, et al., PLoS One, 6 (8), e23109, pages 1-8 (2011), яку в повному обсязі включено в цей документ шляхом посилання.

У деяких варіантах втілення пацієнт має оцінку 1 або 2 бали за модифікованою прогностичною шкалою Глазго. Модифікована прогностична шкала Глазго (GPS) описана в публікації McMillan, Cancer Treatment Reviews, 39 (5):534–540 (2013), яку в повному обсязі включено в цей документ шляхом посилання (зокрема, оцінки в балах є такими, як показано в таблиці 1).

У деяких варіантах втілення в цьому винаході запропоновано сполуку, описану в цьому документі, або її фармацевтично прийнятну сіль, як описано в будь-якому з варіантів втілення в цьому документі, для застосування в способі лікування будь-якого із захворювань або порушень, описаних у цьому документі. У деяких варіантах втілення у цьому винаході запропоновано застосування сполуки, описаної в цьому документі, або її фармацевтично прийнятної солі, як описано в будь-якому з варіантів втілення в цьому документі, для отримання лікарського засобу для застосування в способі лікування будь-якого із захворювань або порушень, описаних у цьому документі.

Селективні інгібітори JAK1 також включають фармацевтично прийнятні солі сполук, описаних у цьому документі. У цьому документі термін "фармацевтично прийнятні солі" стосується похідних описаних сполук, де вихідну сполуку модифікують, перетворюючи існуючі кислотні або лужні фрагменти на їхні сольові форми. Приклади фармацевтично прийнятних солей включають, серед іншого, солі мінеральних або органічних кислот лужних залишків, таких як аміни; солі лугів і органічні солі кислотних залишків, таких як карбонові кислоти; тощо. Фармацевтично прийнятні солі включають нетоксичні солі вихідних сполук, утворені, наприклад, із нетоксичних неорганічних або органічних кислот. Фармацевтично прийнятні солі можна синтезувати звичайними хімічними способами з вихідних сполук, які містять лужні або кислотні фрагменти. Зазвичай такі солі можна отримати шляхом взаємодії форми вільної кислоти або основи цих сполук зі стехіометричною кількістю відповідної основи або кислоти у воді або в органічному розчиннику, або в суміші обох; зазвичай переважними є неводні середовища, такі як етер, етилацетат, спирти (наприклад, метанол, етанол, ізопропанол або бутанол) або ацетонітрил (ACN). Список відповідних солей можна знайти в публікаціях Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 і Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977), кожну з яких у повному обсязі включено в цей документ шляхом посилання. У деяких варіантах втілення сполуки, описані в цьому документі, включають форми N-оксиду.

Сполуки, описані в цьому документі, можуть бути асиметричними (наприклад, мати один або більше стереоцентрів). Передбачаються всі стереоізомери, такі як енантіомери й діастереомери, якщо не зазначено інше. Сполуки, описані в цьому документі, які містять асиметрично заміщені атоми вуглецю, можуть бути виділені в оптично активній або рацемічній формі. Способи отримання оптично активних форм з оптично неактивних вихідних матеріалів відомі в цій галузі, наприклад, розділення рацемічних сумішей або стереоселективний синтез. Багато геометричних ізомерів олефінів, подвійні зв'язки C=N тощо також можуть бути присутніми в сполуках, описаних у цьому документі, і всі такі стабільні ізомери передбачені в цьому винаході. Описані цис- і транс-геометричні ізомери сполук цього винаходу, і їх можна виділити як суміш ізомерів або як окремі ізомерні форми.

Розділення рацемічних сумішей сполук можна здійснити будь-яким із численних способів, відомих у цій галузі. Приклад способу включає фракційну перекристалізацію з використанням хіральної розділювальної кислоти, яка є оптично активною органічною кислотою, що утворює сіль. Відповідними розділювальними агентами для способів фракційної перекристалізації є, наприклад, оптично активні кислоти, такі як D і L форми винної кислоти, діацетилвинної кислоти, дибензоїлвинної кислоти, мигдальної кислоти, яблучної кислоти, молочної кислоти або різних оптично активних камфорсульфонової кислот, таких як β-камфорсульфонова кислота. Інші відповідні розділювальні агенти для способів фракційної перекристалізації включають стереоізомерно чисті форми α-метил-бензиламіну (наприклад, S і R форми або діастереомерно чисті форми), 2-фенілгліцинолу, норефедрину, ефедрину, N-метилефедрину, циклогексилетиламіну, 1,2-діаміноциклогексану тощо.

Розділення рацемічних сумішей можна також здійснювати шляхом елюювання на колонці, заповненій оптично активним розділювальним агентом (наприклад, динітробензоїлфенілгліцином). Відповідні композиції розчинників для елюювання можуть визначити фахівці в цій галузі.

Сполуки, описані в цьому документі, включають також таутомерні форми. Таутомерні форми є результатом переміщення подвійного зв'язку на місце сусіднього одинарного зв'язку з супутньою міграцією протона. Таутомерні форми включають прототропні таутомери, які є ізомерними станами протонування, що мають однакову емпіричну формулу й загальний заряд. Типові прототропні таутомери включають пари кетон-енол, амід-імідна кислота, лактам-лактим, енамін-імін і циклічні форми, в яких протон може займати два або більше положень в гетероциклічній системі, наприклад, 1H- і 3H-імідазол, 1H-, 2H- і 4H-1,2,4-триазол, 1H- і 2H-ізоіндол і 1H- і 2H-піразол. Таутомерні форми можуть перебувати в рівновазі або можуть бути просторово обмежені однією формою шляхом відповідного заміщення.

Сполуки цього винаходу можуть також включати всі ізотопи атомів, присутніх у проміжних або кінцевих сполуках. Ізотопи включають ті атоми, що мають однаковий атомний номер, але різні масові числа. Наприклад, ізотопи водню включають дейтерій.

У цьому документі термін "сполука" включає всі стереоізомери, геометричні ізомери, таутомери і ізотопи зображених структур. Крім того, сполуки, ідентифіковані в цьому документі за назвою або структурою як одна конкретна таутомерна форма, передбачають включення інших таутомерних форм, якщо не вказано інше.



Усі сполуки і їхні фармацевтично прийнятні солі можуть перебувати в комплексі з іншими речовинами, такими як вода і розчинники (наприклад, гідрати й сольвати), або можуть бути виділеними.

У деяких варіантах втілення сполуки, описані в цьому документі, або їхні солі є по суті виділеними. Фраза "по суті виділена" означає, що сполука відділена від середовища, в якому вона була утворена або виявлена, принаймні частково або значною мірою. Часткове розділення може включати, наприклад, композицію, збагачену сполуками за цим винаходом. Значуще розділення може включати композиції, що містять принаймні приблизно 50 %, принаймні приблизно 60 %, принаймні приблизно 70 %, принаймні приблизно 80 %, принаймні приблизно 90 %, принаймні приблизно 95 %, принаймні приблизно 97 % або принаймні приблизно 99 % від маси сполук цього винаходу або їхніх солей. Способи виділення сполук і їхніх солей є стандартними в цій галузі.

У цьому документі терміни "індивідуум" або "пацієнт" використовуються як взаємозамінні і стосуються будь-якої тварини, включаючи ссавців, переважно мишей, щурів, інших гризунів, кроликів, собак, кішок, свиней, велику рогату худобу, овець, коней або приматів і найпереважніше людей.

У цьому документі фраза "терапевтично ефективна кількість" стосується кількості активної сполуки або фармацевтичного агента, який викликає біологічну або медичну відповідь у тканині, системі, тварині, індивідуумі або людині, очікувану дослідником, ветеринаром, лікарем або іншим клініцистом. У деяких варіантах втілення терапевтично ефективна кількість становить від приблизно 1 мг до приблизно 100 мг, від приблизно 1 мг до приблизно 20 мг, від приблизно 4 мг до приблизно 10 мг, від приблизно 5 мг до приблизно 1000 мг, від приблизно 10 мг до приблизно 500 мг. У деяких варіантах втілення терапевтично ефективна кількість становить 4 мг, 6 мг або 10 мг щодня (QD).

У цьому документі фраза "фармацевтично прийнятний" стосується таких сполук, матеріалів, композицій і/або лікарських форм, які в межах медичних знань придатні для використання в контакт з тканинами людей і тварин, не викликаючи надлишкової токсичності, подразнення, алергічної реакції або іншої проблеми або ускладнення, порівнянного з припустимим співвідношенням перевага/ризик.

У цьому документі термін "лікування" або "проведення лікування" стосується одного або більше з-поміж (1) запобігання захворюванню; наприклад, запобігання захворюванню, патологічному стану або порушенню у індивідуума, який може бути схильним до захворювання, патологічного стану або порушення, але ще не відчуває на собі або не проявляє ознак патології або симптомів захворювання; (2) інгібування захворювання; наприклад, інгібування захворювання, патологічного стану або порушення у індивідуума, який зазнає або виявляє ознаки патології або симптомів захворювання, патологічного стану або порушення (тобто припинення подальшого розвитку ознак патології й/або симптомів захворювання); і (3) полегшення захворювання; наприклад, полегшення захворювання, патологічного стану або порушення у індивідуума, який зазнає або виявляє ознаки патології або симптомів захворювання, патологічного стану або порушення (тобто обернення ознак патології й/або симптомів захворювання), наприклад зниження ступеня тяжкості захворювання.

Види комбінованої терапії

Способи, описані в цьому документі, можуть додатково включати введення одного або більше терапевтичних агентів. Один або більше додаткових терапевтичних агентів можна вводити пацієнтові одночасно або послідовно.

У деяких варіантах втілення спосіб додатково включає введення додаткового терапевтичного агента, вибраного з-поміж IMiD (імуномодуляторів), засобів проти IL-6, засобів проти TNF- $\alpha$ , гіпометилуючого агента і модулятора біологічної відповіді (BRM).

Зазвичай BRM є речовинами, отриманими з живих організмів для лікування захворювань, які можуть зустрічатися природно в організмі, або можуть бути отримані в лабораторії. Приклади BRM включають IL-2, інтерферон, різні види колонієстимулюючих факторів (CSF, GM-CSF, G-CSF), моноклональні антитіла, такі як абциксимаб, етанерцепт, інфліксимаб, ритуксимаб, трастузумаб і високі дози аскорбату.

У деяких варіантах втілення засоби проти TNF- $\alpha$  являють собою інфліксимаб і етанерцепт.

У деяких варіантах втілення гіпометилуючий агент являє собою інгібітор ДНК-метилтрансферази. У деяких варіантах втілення інгібітор ДНК-метилтрансферази вибирають з-поміж 5 азацитидину й децитабіну.

Зазвичай IMiD являють собою імуномодулятори. У деяких варіантах втілення IMiD вибирають з-поміж талідоміду, леналідоміду, помалідоміду, CC-11006 і CC-10015.

У деяких варіантах втілення спосіб додатково включає введення додаткового терапевтичного агента, вибраного з-поміж антитимоцитарного глобуліну, рекомбінантного людського гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора (G-CSF), гранулоцитарно-моноцитарного CSF (GM-CSF), агента, що стимулює еритропоез (ECA), і циклоспорину. У деяких варіантах втілення спосіб додатково включає введення пацієнтові додаткового інгібітора JAK. У деяких варіантах втілення додатковий інгібітор JAK являє собою тофацитиніб або руксолітиніб.

Один або більше додаткових терапевтичних агентів можуть включати хіміотерапевтичні, протизапальні агенти, стероїди, імунодепресанти, а також інгібітори кіназ Bcr-Abl, Flt-3, RAF і FAK, такі як, наприклад, описані в WO 2006/056399, яку в повному обсязі включено в цей документ шляхом посилання, або в комбінації зі сполуками, описаними в цьому документі, можуть застосовуватися інші агенти.

Приклади хіміотерапевтичних засобів включають протеосомні інгібітори (наприклад, бортезоміб), талідомід, ревлімід і агенти, що пошкоджують ДНК, такі як мелфалан, доксорубіцин, циклофосфамід, вінкрисдин, етопозид, кармустин тощо.

Приклади стероїдів включають кортикостероїди, такі як дексаметазон або преднізон.

Приклади інгібіторів Bcr-Abl включають сполуки і їхні фармацевтично прийнятні солі, що належать до видів і родин, описаних у патенті США № 5,521,184, WO 04/005281 і патенті США № 60/578,491, усі з яких у повному обсязі включені в цей документ шляхом посилання.

Приклади відповідних інгібіторів Flt-3 включають сполуки і їхні фармацевтично прийнятні солі, описані в WO 03/037347, WO 03/099771 і WO 04/046120, усі з яких у повному обсязі включені в цей документ шляхом посилання.

Приклади відповідних інгібіторів RAF включають сполуки і їхні фармацевтично прийнятні солі, описані в WO 00/09495 і WO 05/028444, обидві з яких у повному обсязі включені в цей документ шляхом посилання.

Приклади відповідних інгібіторів FAK включають сполуки і їхні фармацевтично прийнятні солі, описані в WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595 і WO 01/014402, усі з яких у повному обсязі включені в цей документ шляхом посилання.

У деяких варіантах втілення одну або більше сполук цього винаходу можна застосовувати в комбінації з одним або більше інших інгібіторів кінази, включаючи іматиніб, зокрема для лікування пацієнтів, резистентних до іматинібу або інших інгібіторів кінази.

У деяких варіантах втілення відповідний хіміотерапевтичний агент може бути вибраний з-поміж антиметаболітних агентів, інгібіторів топоізомерази-1, аналогів платини, таксанів, антрациклінів, інгібіторів EGFR і їхніх комбінацій.

У деяких варіантах втілення антиметаболітні агенти включають капецитабін, гемцитабін і фторурацил (5-ФУ).

У деяких варіантах втілення таксани включають паклітаксел, Abraxane<sup>®</sup> (зв'язані з білком частинки паклітакселу для ін'єкційної суспензії) і Taxotere<sup>®</sup> (доцетаксел).

У деяких варіантах втілення аналоги платини включають оксалиплатин, цисплатин і карбоплатин.

У деяких варіантах втілення інгібітори топоізомерази-1 включають іринотекан і топотекан.

У деяких варіантах втілення антрацикліни включають доксорубіцин або ліпосомальні препарати доксорубіцину.

У деяких варіантах втілення хіміотерапевтичний засіб являє собою FOLFIRINOX (5-ФУ, лейковорин, іринотекан і оксалиплатин). У деяких варіантах втілення хіміотерапевтичний агент являє собою гемцитабін і Abraxane<sup>®</sup> (зв'язані з білком частинки паклітакселу для ін'єкційної суспензії).

У деяких варіантах втілення додатковий терапевтичний агент являє собою мелфалан, мелфалан плюс преднізон [MP], доксорубіцин, дексаметазон і Velcade (бортезоміб). Інші додаткові агенти, які використовуються для лікування множинної мієломи включають інгібітори кінази Bcr-Abl, Flt-3, RAF і FAK. Агенти можна комбінувати зі сполуками за цим винаходом в лікарській формі для одноразового введення або для тривалого введення, або агенти можна вводити одночасно або послідовно як окремі лікарські форми.

У деяких варіантах втілення кортикостероїди, такі як дексаметазон, вводять пацієнтові в комбінації принаймні з одним селективним інгібітором JAK, де дексаметазон вводять періодично (на відміну від безперервного введення).

У деяких додаткових варіантах втілення комбінації одного або більше селективних інгібіторів JAK1 з іншими терапевтичними агентами можна вводити пацієнтові перед, під час і/або після трансплантації кісткового мозку або трансплантації стовбурових клітин.

У деяких варіантах втілення додатковий терапевтичний агент являє собою флуоцинолону ацетонід (Retisert<sup>®</sup>) або римексолон (AL-2178, Vexol, Alcon).

У деяких варіантах втілення додатковий терапевтичний агент являє собою циклоспорин (Restasis<sup>®</sup>).

5 У деяких варіантах втілення додатковий терапевтичний агент являє собою кортикостероїд. У деяких варіантах втілення кортикостероїд являє собою триамцинолон, дексаметазон, флуоцинолон, кортизон, преднізолон або флуметолон.

У деяких варіантах втілення додатковий терапевтичний агент вибирають з-поміж 30 Dehydrex<sup>™</sup> (Holles Labs), циваміду (Орко), гіалуронату натрію (Vismed, Lantibio/TRB Chemedia), циклоспорину (ST-603, Sirion Therapeutics), ARG101(T) (тестостерон, Argentis), AGR1012(P) (Argentis), екабету натрію (Senju-Ista), гефарнату (Santen), 15-(s)-гідроксиейкозатетраєнової кислоти (15(S)-ГЕТЕ), цевілеміну, доксицикліну (ALTY-0501, Alacritы), міноцикліну, iDestrin<sup>™</sup> (NP50301, Nascent Pharmaceuticals), циклоспорину А (Nova22007, Novagali), окситетрацикліну (Duramycin, MOLI1901, Lantibio), CF101 (2S,3S,4R,5R)-3,4-дигідрокси-5-[6-[(3-йодфеніл)метиламіно]пурин-9-іл]-N-метил-оксолан-2-карбамілу, Can-Fite Biopharma), воклоспорину (LX212 або LX214, Lux Biosciences), ARG103 (Agentis), RX-10045 (синтетичний аналог ресольвіну, Resolvix), DYN15 (Dyanmis Therapeutics), ривоглітазону (DE011, Daiichi Sanko), TB4 (RegeneRx), OPH-01 (Ophtalmis Monaco), PCS101 (Pericor Science), REV1-31 (Evolutec), лакритину (Senju), ребамініду (Otsuka-Novartis), OT-551 (Othera), PAI-2 (University of Pennsylvania and Temple University), пілокарпіну, такролімусу, пімекролімусу (AMS981, Novartis), етабонату лотепреднолу, ритуксимабу, диквафосолу тетранатрію (INS365, Inspire), KLS-0611 (Kissei Pharmaceuticals), дегідроепіандростерону, анакінри, ефалізумабу, мікофенолату натрію, етанерцепту (Embre<sup>®</sup>), гідроксихлорохіну, NGX267 (TorreyPines Therapeutics), актемри, гемцитабіну, оксаліплатину, L-аспарагінази або талідоміду.

25 У деяких варіантах втілення додатковий терапевтичний агент являє собою антиангіогенний агент, холінергічний агоніст, модулятор рецептора TRP-1, блокатор кальцієвого каналу, стимулятор секреції муцину, стимулятор MUC1, інгібітор кальциневрину, кортикостероїд, агоніст рецептора P2Y2, агоніст мускаринового рецептора, інгібітор mTOR, інший інгібітор JAK, інгібітор кінази Bcr-Abl, інгібітор кінази Flt-3, інгібітор кінази RAF і інгібітор кінази FAK, такі як, наприклад 30 ті, що описані в публікації WO 2006/056399, яку в повному обсязі включено в цей документ шляхом посилання. У деяких варіантах втілення додатковий терапевтичний агент являє собою похідне тетрацикліну (наприклад, міноциклін або доксициклін). У деяких варіантах втілення додатковий терапевтичний агент зв'язується з FKBP12.

У деяких варіантах втілення додатковий терапевтичний агент являє собою алкілюючий агент 35 або ДНК-зшиваючий агент; атиметаболіт/деметилуючий агент (наприклад, 5-фторурацил, капецитабін або азациитидин); засіб для антигормональної терапії (наприклад, антагоністи рецепторів гормонів, селективні модулятори естрогенових рецепторів (SERM) або інгібітор ароматази); інгібітор мітозу (наприклад, вінкрисин або паклітаксел); інгібітор топоізомерази (I або II) (наприклад, мітоксантрон і іринотекан); індуктори апоптозу (наприклад, ABT-737); засоби 40 для терапії нуклеїновими кислотами (наприклад, антисмислова або РНКі); ліганди ядерних рецепторів (наприклад, агоністи й/або антагоністи: повністю-транс-ретиноева кислота або бексаротен); епігенетичні націлювальні агенти, такі як інгібітори гістондеацетилази (наприклад, вориностат), гіпометилуючі агенти (наприклад, децитабін); регулятори стабільності білка, такі як інгібітори Hsp90, убіквітин і/або подібні до убіквітину молекули кон'югації або декон'югації; 45 інгібітор EGFR (ерлотиніб).

Фармацевтичні препарати й лікарські форми

Якщо селективні інгібітори JAK1 застосовуються як лікарські засоби, їх можна вводити у формі фармацевтичних композицій. Ці композиції можна отримувати відповідно до способів, добре відомих у галузі фармацевтики, і їх можна вводити різними шляхами, залежно від того, 50 яке лікування передбачається: місцеве або системне, і від області, яку необхідно лікувати. Застосування може бути місцевим (включаючи трансдермальне, епідермальне, офтальмологічне й через слизові оболонки, включаючи інтраназальну, вагінальну й ректальну доставку), легенеvim (наприклад, шляхом інгаляції або інсуфляції порошків або аерозолів, включаючи використання небулайзера; інтратрахеальним або інтраназальним), пероральним 55 або парентеральним. Парентеральне введення включає внутрішньовенне, внутрішньоартеріальне, підшкірне, внутрішньочеревинне, внутрішньом'язове, шляхом ін'єкції або інфузії; або внутрішньочерепне, наприклад, інтратекальне або внутрішньошлуночкове введення. Парентеральне введення може здійснюватися у формі одноразової болюсної дози, або його можна виконувати, наприклад, за допомогою насоса безперервної перфузії. 60 Фармацевтичні композиції й препарати для місцевого застосування можуть включати

трансдермальні пластири, мазі, лосьйони, креми, гелі, краплі, супозиторії, спреї, рідини й порошки. За необхідності або за бажання можна використовувати стандартні фармацевтичні носії, рідкі, порошкоподібні або масляні основи, згущувачі тощо.

Цей винахід також включає фармацевтичні композиції, які містять як активний інгредієнт селективний інгібітор JAK1, описаний у цьому документі, або його фармацевтично прийнятну сіль у комбінації з одним або більше фармацевтично прийнятними носіями (допоміжними речовинами). У деяких варіантах втілення композиція підходить для місцевого застосування. Під час створення композицій активний інгредієнт звичайно змішують із допоміжною речовиною, розбавляють допоміжною речовиною або укладають усередину такого носія у формі, наприклад, капсули, саше, обгортки або іншої оболонки. Коли допоміжна речовина слугує як розріджувач, вона може являти собою твердий, напівтвердий або рідкий матеріал, що діє як основа, носій або середовище для активного інгредієнта. Таким чином, композиції можуть бути у формі таблеток, пігулок, порошоків, пастилок, саше, облаток, еліксирів, суспензій, емульсій, розчинів, сиропів, аерозолів (у вигляді твердої речовини або в рідкому середовищі), мазей, що містять, наприклад до 10 % від маси активної сполуки, м'яких і твердих желатинових капсул, супозиторіїв, стерильних розчинів для ін'єкцій і стерильних розфасованих порошоків.

Під час отримання препарату (перед змішуванням з іншими інгредієнтами) активну сполуку можна здрібнювати для забезпечення відповідного розміру часток. Якщо активна сполука є по суті нерозчинною, її можна здрібнювати до часток розміром менше ніж 200 меш. Якщо активна сполука є по суті розчинною у воді, розмір часток може бути відрегульований шляхом здрібнювання з забезпеченням по суті однорідного розподілу в препараті, наприклад, приблизно 40 меш.

Селективні інгібітори JAK1 можуть бути здрібнені з використанням відомих способів здрібнювання, таких як вологе розмелювання з отриманням відповідного розміру часток для утворення таблеток і інших типів препаратів. Тонкодисперсні (у вигляді наночастинок) препарати селективних інгібіторів JAK1 можна отримати за допомогою способів, відомих у цій галузі, наприклад, див. міжнародну заявку № WO 2002/000196.

Деякі приклади відповідних допоміжних речовин включають лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбіт, маніт, крохмалі, аравійську камедь, фосфат кальцію, альгінати, трагакант, желатин, силікат кальцію, мікрокристалічну целюлозу, полівінілпіролідон, целюлозу, воду, сироп і метилцелюлозу. Препарати можуть додатково включати ковзні речовини, такі як тальк, магнію стеарат і мінеральне масло; зволожуючі агенти; емульгатори й суспендуєчі агенти; консерванти, такі як метил- і пропілгідроксibenзоати; підсолоджувачі; і ароматизатори. Рецептuru композицій може бути складена так, щоб забезпечити негайне, тривале або відстрочене вивільнення активного інгредієнта після введення пацієнтові з використанням способів, відомих у цій галузі техніки.

У деяких варіантах втілення фармацевтична композиція містить силіфіковану мікрокристалічну целюлозу (СМКЦ) і принаймні одну сполуку, описану в цьому документі, або її фармацевтично прийнятну сіль. У деяких варіантах втілення силіфікована мікрокристалічна целюлоза містить приблизно 98 % мікрокристалічної целюлози й приблизно 2 % мас./мас. діоксиду кремнію.

У деяких варіантах втілення композиція являє собою композицію з тривалим вивільненням, яка містить принаймні один селективний інгібітор JAK1, описаний у цьому документі, або його фармацевтично прийнятну сіль і принаймні один фармацевтично прийнятний носій. У деяких варіантах втілення композиція містить принаймні один селективний інгібітор JAK1, описаний у цьому документі, або його фармацевтично прийнятну сіль і принаймні один компонент, вибраний з-поміж мікрокристалічної целюлози, моногідрату лактози, гідроксипропілметилцелюлози й поліетиленоксиду. У деяких варіантах втілення композиція містить принаймні один селективний інгібітор JAK1, описаний у цьому документі, або його фармацевтично прийнятну сіль і мікрокристалічну целюлозу, моногідрат лактози й гідроксипропілметилцелюлозу. У деяких варіантах втілення композиція містить принаймні один селективний інгібітор JAK1, описаний у цьому документі, або його фармацевтично прийнятну сіль і мікрокристалічну целюлозу, моногідрат лактози й поліетиленоксид. У деяких варіантах втілення композиція додатково містить магнію стеарат або діоксид кремнію. У деяких варіантах втілення мікрокристалічна целюлоза являє собою Avicel PH102™. У деяких варіантах втілення моногідрат лактози являє собою Fast-flo 316™. У деяких варіантах втілення гідроксипропілметилцелюлоза являє собою гідроксипропілметилцелюлозу 2208 K4M (наприклад, Methocel K4M Premier™) і/або гідроксипропілметилцелюлозу 2208 K100LV (наприклад, Methocel K00LV™). У деяких варіантах втілення поліетиленоксид являє собою поліетиленоксид WSR 1105 (наприклад, Polyox WSR 1105™).

У деяких варіантах втілення для отримання композиції використовується спосіб вологого гранулювання. У деяких варіантах втілення для отримання композиції використовується спосіб сухого гранулювання.

Рецептура композиції може бути складена у вигляді стандартної лікарської форми, кожна доза якої містить від приблизно 5 до приблизно 1000 мг (1 г), звичайно від приблизно 100 мг до приблизно 500 мг активного інгредієнта. У деяких варіантах втілення кожна доза містить приблизно 10 мг активного інгредієнта. У деяких варіантах втілення кожна доза містить приблизно 50 мг активного інгредієнта. У деяких варіантах втілення кожна доза містить приблизно 25 мг активного інгредієнта. Термін "стандартні лікарські форми" відноситься до фізично дискретних одиниць, які підходять для однократного введення дози суб'єктам-людям і іншим ссавцям, причому кожна одиниця містить заздалегідь визначену кількість активного матеріалу, який за розрахунками викликає бажаний терапевтичний ефект, у комплексі з відповідною фармацевтичною допоміжною речовиною.

У деяких варіантах втілення композиції містять від приблизно 2 мг до приблизно 10 мг або від приблизно 5 мг до приблизно 50 мг активного інгредієнта. Фахівцю в цій галузі буде зрозуміло, що це є втіленням сполук і композицій, що містять від приблизно 2 мг до приблизно 10 мг, від 5 мг до приблизно 10 мг, від приблизно 10 мг до приблизно 15 мг, від приблизно 15 мг до приблизно 20 мг, від приблизно 20 мг до приблизно 25 мг, від приблизно 25 мг до приблизно 30 мг, від приблизно 30 мг до приблизно 35 мг, від приблизно 35 мг до приблизно 40 мг, від приблизно 40 мг до приблизно 45 мг або від приблизно 45 мг до приблизно 50 мг активного інгредієнта.

У деяких варіантах втілення композиції містять від приблизно 50 мг до приблизно 500 мг активного інгредієнта. Фахівцю в цій галузі буде зрозуміло, що це є втіленням сполук і композицій, що містять від приблизно 50 мг до приблизно 100 мг, від приблизно 100 мг до приблизно 150 мг, від приблизно 150 мг до приблизно 200 мг, від приблизно 200 мг до приблизно 250 мг, від приблизно 250 мг до приблизно 300 мг, від приблизно 350 мг до приблизно 400 мг або від приблизно 450 мг до приблизно 500 мг активного інгредієнта.

У деяких варіантах втілення композиції містять від приблизно 500 мг до приблизно 1000 мг активного інгредієнта. Фахівцю в цій галузі буде зрозуміло, що це є втіленням сполук і композицій, що містять від приблизно 500 мг до приблизно 550 мг, від приблизно 550 мг до приблизно 600 мг, від приблизно 600 мг до приблизно 650 мг, від приблизно 650 мг до приблизно 700 мг, від приблизно 700 мг до приблизно 750 мг, від приблизно 750 мг до приблизно 800 мг, від приблизно 800 мг до приблизно 850 мг, від приблизно 850 мг до приблизно 900 мг, від приблизно 900 мг до приблизно 950 мг або від приблизно 950 мг до приблизно 1000 мг активного інгредієнта.

Активна сполука може бути ефективною в межах широкого діапазону доз, і зазвичай її вводять у фармацевтично ефективній кількості. Однак необхідно розуміти, що кількість фактично введеної сполуки звичайно визначається лікарем з урахуванням відповідних обставин, включаючи патологічний стан, який необхідно лікувати, вибраний спосіб введення, конкретну сполуку, що вводиться, вік, масу тіла й реакцію конкретного пацієнта, тяжкість симптомів пацієнта тощо.

Для отримання твердих композицій, таких як таблетки, основний активний інгредієнт змішують із фармацевтичною допоміжною речовиною з утворенням твердої попередньої композиції, що містить гомогенну суміш сполуки, описаної в цьому документі, або її фармацевтично прийнятної солі. У попередніх композиціях, які називаються гомогенними, активний інгредієнт звичайно рівномірно розподілений по композиції так, що композиція може бути з легкістю розділена на рівні ефективні стандартні лікарські форми, такі як таблетки, пігулки й капсули. Ці тверді попередні композиції потім розділяють на описані вище види стандартних лікарських форм, що містять, наприклад, від приблизно 0,1 до приблизно 1000 мг активного інгредієнта за цим винаходом.

Таблетки або пігулки можуть бути покриті або складені іншим способом з отриманням лікарської форми, що забезпечує переваги пролонгованій дії. Наприклад, таблетка або пігулка може містити внутрішній дозований компонент і зовнішній дозований компонент, причому останній перебуває у формі оболонки для першого. Ці два компоненти можуть бути розділені ентеросолюбільним шаром, який перешкоджає розкладанню в шлунку та дозволяє внутрішньому компоненту проходити неушкодженим у дванадцятипалу кишку або вивільнятися уповільненим способом. Для таких ентеросолюбільних шарів або покриттів можуть використовуватися різноманітні матеріали, які включають низку полімерних кислот і сумішей полімерних кислот з такими матеріалами, як шелак, цетиловий спирт і ацетат целюлози.

Рідкі форми, в які сполуки й композиції можуть бути включені для перорального введення або ін'єкції, включають водні розчини, відповідним чином ароматизовані сиропи, водні або масляні суспензії й ароматизовані емульсії з харчовими маслами, такими як бавовняна олія, кунжутна олія, кокосове масло або арахісове масло, а також еліксири й подібні фармацевтичні носії.

Композиції для інгаляції або інсуфляції включають розчини й суспензії у фармацевтично прийнятних водних або органічних розчинниках або їх суміші й порошки. Рідкі або тверді композиції можуть містити відповідні фармацевтично прийнятні допоміжні речовини, як описано вище. У деяких варіантах втілення композиції вводять пероральним або назальним респіраторним шляхом для досягнення місцевого або системного ефекту. Композиції можна розпорошувати з використанням інертних газів. Розпорошені суміші можна вдихати безпосередньо з пристрою для розпорошення, або пристрій для розпорошення можна приєднати до маски для обличчя або до апарату для штучної вентиляції легенів із переміжним позитивним тиском. Композиції у вигляді розчинів, суспензій або порошоків можна вводити перорально або назально за допомогою пристроїв для доставки препаратів відповідним чином.

Препарати для місцевого застосування можуть містити один або більше стандартних носіїв. У деяких варіантах втілення мазі можуть містити воду й один або більше гідрофобних носіїв, наприклад, вибраних з-поміж рідкого парафіну, алкілового етеру поліоксіетилену, пропіленгліколю, білого вазеліну тощо. Основою композицій носіїв для кремів може бути вода в комбінації з гліцирином і одним або більше іншими компонентами, наприклад, гліцеринмоностеаратом. ПЕГ-гліцеринмоностеаратом і цетилстеариловим спиртом. Рецептура гелів може бути складена з використанням ізопропілового спирту й води, відповідно в комбінації з іншими компонентами, такими як, наприклад, гліцерин, гідроксіетилцелюлоза тощо. У деяких варіантах втілення препарати для місцевого застосування містять принаймні приблизно 0,1, принаймні приблизно 0,25, принаймні приблизно 0,5, принаймні приблизно 1, принаймні приблизно 2 або принаймні приблизно 5 % мас. сполуки, описаної в цьому документі, або її фармацевтично прийнятної солі. Препарати для місцевого застосування можуть бути, наприклад, відповідним чином упаковані в тубики по 100 г, які необов'язково пов'язані з інструкціями для лікування вибраного показання для призначення, наприклад, псоріазу або інших патологічних станів шкіри.

Кількість сполуки або композиції, яку вводять пацієнтові, буде змінюватися залежно від того, що вводять, мети введення (наприклад, профілактика або терапія), стану пацієнта, способу введення тощо. При терапевтичному застосуванні композиції можна вводити пацієнтові, який уже страждає захворюванням, у кількості, достатній для того, щоб вилікувати або принаймні часткового зупинити симптоми захворювання і його ускладнення. Ефективні дози залежатимуть від стану захворювання, яке необхідно лікувати, рішення лікуючого лікаря, залежно від таких чинників, як тяжкість захворювання, вік, маса тіла й загальний стан пацієнта тощо.

Композиції, які вводять пацієнтові, можуть бути у формі фармацевтичних композицій, описаних вище. Ці композиції можуть бути простерилізовані за допомогою стандартних методик стерилізації або можуть бути стерильно профільтровані. Водні розчини можуть бути упаковані в готовій до застосування формі або можуть бути ліофілізованими, причому ліофілізований препарат перед введенням змішують зі стерильним водним носієм. Рівень pH препаратів сполуки звичайно становитиме від 3 до 11, переважніше від 5 до 9 і найпреважніше від 7 до 8. Необхідно розуміти, що використання деяких із перерахованих вище допоміжних речовин, носіїв або стабілізаторів призводить до утворення фармацевтичних солей.

Терапевтична доза селективного інгібітора JAK1, описаного в цьому документі, або його фармацевтично прийнятної солі може змінюватися, наприклад, відповідно до конкретного виду застосування, для якого призначено лікування, способу введення сполуки, стану здоров'я і загального стану пацієнта й рішення лікаря, що призначає лікування. Частка або концентрація сполуки, описаної в цьому документі, або її фармацевтично прийнятної солі у фармацевтичній композиції може змінюватися залежно від низки чинників, що включають дозу, хімічні характеристики (наприклад, гідрофобність) і шлях введення. Наприклад, селективний інгібітор JAK1 може бути забезпечено в рідкому фізіологічному буферному розчині, що містить від приблизно 0,1 до приблизно 10 % мас./об. сполуки для парентерального введення. Деякі типові діапазони доз становлять від приблизно 1 мкг/кг до приблизно 1 г/кг маси тіла на добу. У деяких варіантах втілення діапазони доз становлять від приблизно 0,01 мг/кг до приблизно 100 мг/кг маси тіла на добу. Імовірно, доза залежить від таких змінних, як тип і інтенсивність прогресування захворювання або порушення, загальний стан здоров'я конкретного пацієнта, відносна біологічна ефективність вибраної сполуки, склад допоміжних речовин і спосіб їхнього

введення. Ефективні дози можна екстраполювати з кривих "доза-відповідь", отриманих із дослідних систем *in vitro* або тваринних моделей випробування.

Композиції цього винаходу можуть додатково включати один або більше додаткових фармацевтичних агентів, таких як хіміотерапевтична, стероїдна, протизапальна сполука або імундепресант, приклади яких наведені вище.

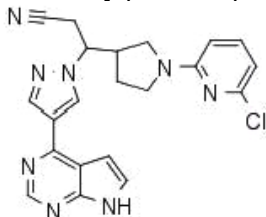
#### Набори

Цей винахід також включає фармацевтичні набори, які використовують, наприклад, для лікування або профілактики мієлодиспластичного синдрому, які включають один або більше контейнерів, що містять фармацевтичну композицію, яка містить терапевтично ефективну кількість сполуки, описаної в цьому документі, або її фармацевтично прийнятної солі. Такі набори за бажання можуть додатково включати один або більше різноманітних стандартних компонентів фармацевтичних наборів, таких як, наприклад, контейнери з одним або більше фармацевтично прийнятними носіями, додаткові контейнери тощо, як буде легко зрозуміло фахівцям у цій галузі. У набір також можуть бути включені інструкції, як у вигляді вкладишів, так і у вигляді етикеток, які вказують кількості компонентів для введення й містять рекомендації щодо введення й/або рекомендації щодо змішування компонентів.

#### ПРИКЛАДИ

Цей винахід буде описано детальніше за допомогою конкретних прикладів. Наведені нижче приклади запропоновані для цілей ілюстрації і не призначені для обмеження винаходу будь-яким способом. Фахівцям у цій галузі буде цілком очевидно, що можна змінювати або модифікувати багато некритичних параметрів, отримуючи по суті аналогічні результати. Було виявлено, що згідно принаймні з одним аналізом, описаним у цьому документі, сполуки з розділу "Приклади" є інгібіторами JAK.

Приклад 1. 3-[1-(6-хлорпіридин-2-іл)піролідин-3-іл]-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрил (виділено два різних енантіомери)



Стадія 1. Бензил-3-{2-ціано-1-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]етил}піролідин-1-карбоксилат

Бензил 3-[2-ціановініл]піролідин-1-карбоксилат (4,3 г, 0,017 моль, суміш Е і Z ізомерів, отриману як описано в WO 2007/070514 у прикладі 742) розчиняли в ацетонітрилі (270 мл). Додавали 1,8-діазобіцикло[5.4.0]ундец-7-ен (5,02 мл, 0,0336 моль) з наступним додаванням 4-(1Н-піразол-4-іл)-7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідину (5,6 г, 0,017 моль, отриманого як описано в WO 2007/070514, прикладі 65). Суміш перемішували протягом ночі за кімнатної температури (КТ). Розчинник видаляли шляхом роторного випаровування, і залишок повторно розчиняли в етилацетаті. Розчин послідовно промивали 1 н. HCl, водою, насиченим розчином бікарбонату натрію й соляним розчином, сушили над сульфатом натрію й концентрували у вакуумі. Продукт очищали за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі, елюювали градієнтом 0-100 % етилацетату в гексанах з отриманням діастереомера 1 (елюється першим) (3,5 г, 36 %) і діастереомера 2 (елюється другим) (2,5 г, 25 %). РХ-МС (М+Н)<sup>+</sup>: 572,2.

Стадія 2. 3-Піролідин-3-іл-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрил

У 100 мл метанолу розчиняли бензил 3-{2-ціано-1-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]етил}піролідин-1-карбоксилат (3,5 г, 6,1 ммоль) (діастереомер 1 зі стадії 1 прикладу 1) і додавали каталітичну кількість 10 % Pd-C. Суміш струшували під тиском водню 1,0 МПа (50 фунтів на кв. дюйм) протягом 24 год. Після цього суміш фільтрували, і видаляли розчинник у вакуумі. Продукт використовували без додаткового очищення. РХ-МС (М+Н)<sup>+</sup>: 438,2.

Стадія 3. 3-[1-(6-Хлорпіридин-2-іл)піролідин-3-іл]-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрил

Суміш 3-піролідин-3-іл-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрилу (150 мг, 0,27 ммоль) і 2,6-дихлорпіридину (48,7 мг, 0,329 ммоль) у N-метилпіролідоні (NMP, 1,6 мл) і N,N-діізопропілетиламіні (96 мкл, 0,55 ммоль) нагрівали до 135 °С протягом 20 хв у мікрохвильовому реакторі. Очищення за допомогою

колонкової флеш-хроматографії на силікагелі, елювання градієнтом 0-80 % етилацетату в гексанах дозволяло отримати зазначений у заголовку продукт (28 мг, 18 %).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,85 (с, 1H), 8,36 (с, 1H), 8,36 (с, 1H), 7,41 (д, 1H), 7,37 (дд, 1H), 6,79 (д, 1H), 6,57 (д, 1H), 6,22 (д, 1H), 5,68 (с, 2H), 4,45 (дт, 1H), 3,91 (дд, 1H), 3,57-3,46 (м, 3H), 3,39-3,29 (м, 2H), 3,24 (дд, 1H), 3,13-3,01 (м, 1H), 3,01 (дд, 1H), 1,98-1,88 (м, 1H), 1,82-1,69 (м, 1H), 0,95-0,88 (м, 2H), -0,06 (с, 9H); PX-МС (M+H) $^+$ : 549,1.

Цей рацемічний продукт розділяли на його енантіомери за допомогою хіральної ВЕРХ (колонка Chiral Technologies Chiralcel OJ-H, 5 мкм, 30 × 250 мм, 45 % EtOH/гексани, 20 мл/хв) з отриманням енантіомера 1 (елюється першим, час утримування 40,7 хв) і енантіомера 2 (елюється другим, час утримування 51,6 хв), з яких окремо знімали захист на стадіях 4a/4b.

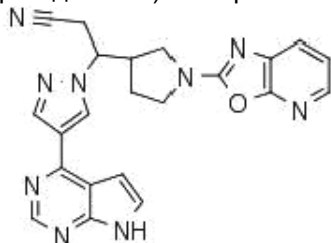
Стадія 4a. 3-[1-(6-Хлорпіридин-2-іл)піролідін-3-іл]-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрил (енантіомер 1)

3-[1-(6-хлорпіридин-2-іл)піролідін-3-іл]-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрил (енантіомер 1, отриманий на стадії 3) протягом 2 год. перемішували в розчині, що містить трифтороцтову кислоту й дихлорометан (ТФК/ДХМ) 1:1 (2 мл), після чого концентрували. Залишок розчиняли в 1 мл MeOH, і додавали 0,2 мл етилєндіаміну (ЕДА). Очищення шляхом препаративної ВЕРХ-МС (колонка C18, елювання градієнтом ACN/H<sub>2</sub>O, що містить 0,15 % NH<sub>4</sub>OH) дозволяло отримати продукт.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9,44 (ушир. с, 1H), 8,84 (с, 1H), 8,37 (с, 2H), 7,39 (дд, 1H), 7,38 (дд, 1H), 6,79 (дд, 1H), 6,58 (д, 1H), 6,22 (д, 1H), 4,46 (дт, 1H), 3,92 (дд, 1H), 3,55-3,48 (м, 1H), 3,39-3,31 (м, 2H), 3,25 (дд, 1H), 3,13-3,02 (м, 1H), 3,02 (дд, 1H), 2,00-1,88 (м, 1H), 1,84-1,71 (м, 1H); PX-МС (M+H) $^+$ : 419,1.

Стадія 4b. 3-[1-(6-Хлорпіридин-2-іл)піролідін-3-іл]-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрил (енантіомер 2)

Виконували як на стадії 4a з використанням енантіомера 2, отриманого на стадії 3.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  9,59 (ушир. с, 1H), 8,84 (с, 1H), 8,37 (с, 2H), 7,40 (дд, 1H), 7,38 (дд, 1H), 6,79 (дд, 1H), 6,58 (д, 1H), 6,22 (д, 1H), 4,46 (дт, 1H), 3,92 (дд, 1H), 3,55-3,48 (м, 1H), 3,39-3,31 (м, 2H), 3,25 (дд, 1H), 3,14-3,02 (м, 1H), 3,02 (дд, 1H), 2,01-1,90 (м, 1H), 1,83-1,72 (м, 1H); PX-МС (M+H) $^+$ : 419,1.

Приклад 2. 3-(1-[1,3]Оксазоло[5,4-b]піридин-2-іл)піролідін-3-іл)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрил (один виділений енантіомер)



Стадія 1. 3-(1-[1,3]Оксазоло[5,4-b]піридин-2-іл)піролідін-3-іл)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрил

Оксазоло[5,4-b]піридин-2(1H)-тіон (1,17 г, 7,68 ммоль, отриманий як описано в US 2010/0298334, приклад 33, стадія 4) і 3-піролідін-3-іл)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрил (2,80 г, 6,40 ммоль зі стадії 3 прикладу 15) у 1,4-діоксані (30 мл) нагрівали до 70 °C протягом 2 год. Розчинник видаляли у вакуумі. Неочищений продукт розводили в етанолі (40 мл) і порціями обробляли нітратом срібла (3 г, 15 ммоль) і водним розчином гідроксиду амонію (6 мл) протягом періоду 20 год. До реакційної суміші додавали воду, 1 н. розчин NaOH і соляний розчин. Нерозчинний матеріал видаляли шляхом фільтрації. Розділяли шари фільтрату. Водну частину екстрагували трьома порціями етилацетату. Екстракти сушили над сульфатом натрію, декантували й концентрували. Неочищений продукт очищали за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі, елювали 10 % MeOH/ДХМ з отриманням продукту у вигляді не зовсім білої піни (2,84 г, 80 %).  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,83 (с, 1H), 8,37 (с, 1H), 8,36 (с, 1H), 7,92 (дд, 1H), 7,57 (дд, 1H), 7,40 (д, 1H), 7,13 (дд, 1H), 6,78 (д, 1H), 5,67 (с, 2H), 4,52 (дт, 1H), 4,05 (дд, 1H), 3,82 (ддд, 1H), 3,67-3,44 (м, 4H), 3,25 (дд, 1H), 3,24-3,09 (м, 1H), 2,98 (дд, 1H), 2,06-1,74 (м, 2H), 0,97-1,5 0,88 (м, 2H), -0,06 (с, 9H); PX-МС (M+H) $^+$ : 556,1.

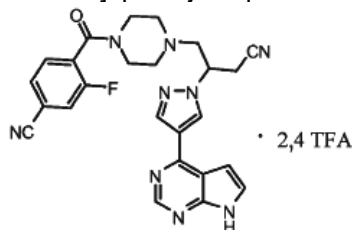
Стадія 2. 3-(1-[1,3]Оксазоло[5,4-b]піридин-2-іл)піролідін-3-іл)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрил

3-(1-[1,3]Оксазоло[5,4-b]піридин-2-іл)піролідін-3-іл)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрил (5,35 г, 9,63 ммоль, отриманий за



допомогою способу стадії 1) перемішували в суміші ДХМ і ТФК 2:1 (60 мл) протягом 6 год. Розчинники видаляли шляхом роторного випаровування. Неочищений залишок розчиняли в метанолі (50 мл), що містить ЕДА (5,15 мл, 77,0 ммоль), і перемішували протягом ночі. Після видалення розчинника продукт очищали за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі, елюювали градієнтом 0–15 % MeOH/ДХМ (3,59 г, 88 %).  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,72 (с, 1H), 8,40 (с, 1H), 8,34 (с, 1H), 7,89 (дд, 1H), 7,54 (дд, 1H), 7,36 (д, 1H), 7,12 (дд, 1H), 6,75 (д, 1H), 4,56 (дт, 1H), 4,01 (дд, 1H), 3,80 (ддд, 1H), 3,60 (ддд, 1H), 3,48 (дд, 1H), 3,26 (дд, 1H), 3,21–3,06 (м, 1H), 3,02 (дд, 1H), 2,03–1,76 (м, 2H); РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 426,1.

Приклад 3. Трифторацетатна сіль 4-[(4-{3-ціано-2-[4-(7Н-піроло[2,3- $d$ ]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропіл}піперазин-1-іл)карбоніл]-3-фторбензонітрилу (виділено один енантіомер)



Стадія 1. (R)- і (S)-трет-бутил 4-{3-ціано-2-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3- $d$ ]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропіл}піперазин-1-карбоксилат

До розчину (Е)- і (Z)-трет-бутил 4-(3-ціаноаліл)піперазин-1-карбоксилату (11,1 г, 0,0441 моль, отриманого як описано в US 2011/0059951, приклад 1, стадії 1–2) і 4-(1Н-піразол-4-іл)-7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3- $d$ ]піримідину (11,6 г, 0,0368 моль, отриманого як описано в WO 2007/070514, приклад 65) в ацетонітрилі (70 мл) додавали 1,8-діазобіцикло[5.4.0]ундец-7-ен (5,5 мл, 0,037 моль). Суміш перемішували за 50 °С протягом 15 годин. Розчинники видаляли у вакуумі. Залишок розчиняли в етилацетаті, промивали водою (3 рази), соляним розчином (один раз), сушили над сульфатом натрію й концентрували. Проведення колонкової флеш-хроматографії з наступною ВЕРХ-МС (елюювання градієнтом MeCN/H<sub>2</sub>O, що містить 0,15 % NH<sub>4</sub>OH) дозволяло отримати продукт у вигляді білої піни (8,20 г, 39 %).

Для розділення рацемічної суміші на окремі енантіомери використовували хіральну ВЕРХ (колонка Phenomenex Lux-Cellulose-2, 21,2 × 250 мм, 5 мкм, елюювання 30 % EtOH/70 % гексани, швидкість потоку 20 мл/хв). Пік 1 (елюється першим): 4,0 г і пік 2 (елюється другим): 4,0 г.  $^1\text{H}$  ЯМР піка 1 (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,84 (с, 1H), 8,33 (с, 1H), 8,31 (с, 1H), 7,40 (д, 1H), 6,79 (д, 1H), 5,68 (с, 2H), 4,70–4,62 (м, 1H), 3,58–3,51 (м, 2H), 3,44–3,35 (ушир. м, 4H), 3,16 (дд, 1H), 3,10 (дд, 1H), 2,99 (дд, 1H), 2,89 (дд, 1H), 2,50–2,40 (ушир. м, 4H), 1,44 (с, 9H), 0,95–0,89 (м, 2H), -0,06 (с, 9H); РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 567,3.  $^1\text{H}$  ЯМР піка 2 (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,84 (с, 1H), 8,32 (с, 1H), 8,31 (с, 1H), 7,40 (д, 1H), 6,79 (д, 1H), 5,68 (с, 2H), 4,70–4,62 (м, 1H), 3,58–3,51 (м, 2H), 3,45–3,34 (ушир. м, 4H), 3,16 (дд, 1H), 3,10 (дд, 1H), 2,99 (дд, 1H), 2,90 (дд, 1H), 2,50–2,40 (ушир. м, 4H), 1,44 (с, 9H), 0,95–0,89 (м, 2H), -0,06 (с, 9H); РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 567,3.

Стадія 2. Гідрохлоридна сіль 4-піперазин-1-іл-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3- $d$ ]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]бутаннітрилу

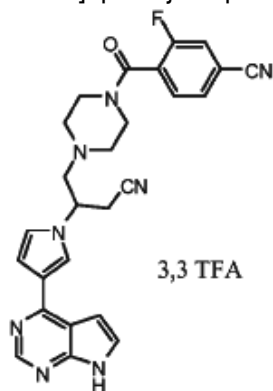
трет-Бутил 4-{3-ціано-2-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3- $d$ ]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропіл}піперазин-1-карбоксилат (4,0 г, 7,0 ммоль; пік 2, отриманий на стадії 1) розчиняли в 1,4-діоксані (40 мл) і додавали 4,0 М HCl у діоксані (25 мл, 100 ммоль). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом 80 хв. Розчинник видаляли у вакуумі з отриманням продукту у вигляді гідрохлоридної солі. РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ : 467,3.

Стадія 3. Трифторацетатна сіль 4-[(4-{3-ціано-2-[4-(7Н-піроло[2,3- $d$ ]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропіл}піперазин-1-іл)карбоніл]-3-фторбензонітрилу

Суміш 4-ціано-2-фторбензойної кислоти (138 мг, 0,836 ммоль, Alfa Aesar), N,N,N',N'-тетраметил-О-(7-азабензотриазол-1-іл)уронію гексафторфосфату (254 мг, 0,669 ммоль) і триетиламіну (0,466 мл, 3,34 ммоль) у тетрагідрофурані (ТГФ, 10,0 мл) перемішували за кімнатної температури протягом 15 хвилин. Додавали гідрохлорид 4-піперазин-1-іл-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3- $d$ ]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]бутаннітрилу (0,33 г, 0,56 ммоль; отриманий на стадії 2). Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури протягом однієї години. Реакційну суміш розводили етилацетатом і водою. Розділяли шари, і послідовно промивали органічний шар водою, 0,1 н. розчином NaOH і соляним розчином, сушили над сульфатом натрію й концентрували. Залишок розчиняли в суміші ДХМ: ТФК 2: 1, перемішували протягом 3 годин, концентрували, після чого додавали до суміші 8 мл метанолу, до якої додавали 0,8 мл етилендіаміну. Після перемішування протягом однієї години продукт очищали шляхом ВЕРХ-МС, елюювали градієнтом MeCN і H<sub>2</sub>O, що містить 0,2 % ТФК. Елюент

заморожували й ліофілізували з отриманням білого порошку (200 мг, 47 %).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{d}_6\text{-DMSO}$ ):  $\delta$  12,64 (ушир. с, 1H), 8,97 (с, 1H), 8,83 (с, 1H), 8,51 (с, 1H), 7,99 (дд, 1H), 7,82–7,76 (м, 2H), 7,61 (т, 1H), 7,15–7,11 (м, 1H), 5,13 (ушир. м, 1H), 3,82–2,37 (ушир, 12H);  $^{19}\text{F}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{d}_6\text{-DMSO}$ ):  $\delta$  -74,97 (с, 7,2F), -114,49 (ушир. с, 1F); РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 484,2.

5 Приклад 4. Трифторацетатна сіль 4-[(4-{3-ціано-2-[3-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-пірол-1-іл]пропіл}піперазин-1-іл)карбоніл]-3-фторбензонітрилу (виділено один енантіомер)



Стадія 1. трет-Бутил 4-{3-ціано-2-[3-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-пірол-1-іл]пропіл}піперазин-1-карбоксилат

10 До суміші (Е)- і (Z)-трет-бутил 4-(3-ціаноаліл)піперазин-1-карбоксилату (4,0 г, 0,016 моль; отриманого як описано в US 2011/0059951, приклад 1, стадії 1–2) і 4-(1H-пірол-3-іл)-7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7H-піроло[2,3-d]піримідину (4,2 г, 0,013 моль, отриманого як описано в WO 2009/114512, приклад 82) у N,N-диметилформаміді (25 мл) додавали карбонат калію (5,540 г, 0,0401 моль). Суміш перемішували за 60 °C протягом 17 годин. Додавали

15 додатковий (Е)- і (Z)-трет-бутил 4-(3-ціаноаліл)піперазин-1-карбоксилат (4,0 г, 0,016 моль), і реакційну суміш перемішували за 60 °C протягом 24 годин. Додавали додаткову порцію (Е)- і (Z)-трет-бутил 4-(3-ціаноаліл)піперазин-1-карбоксилату (4,0 г, 0,016 моль). Як визначено за допомогою РХ-МС, після нагрівання протягом 3 ночей, більша частина вихідного матеріалу перетворювалася на бажаний продукт. Після цього суміш фільтрували, розводили EtOAc, промивали водою (3 рази), соляним розчином (один раз), сушили над сульфатом натрію, декантували й концентрували. Очищення шляхом препаративної ВЕРХ-МС (елюювання градієнтом MeCN/H<sub>2</sub>O, що містить 0,15 % NH<sub>4</sub>OH) дозволяло отримати коричневу піну (4,20 г, 55 %).  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  8,81 (с, 1H), 7,66 (т, 1H), 7,34 (д, 1H), 6,97 (дд, 1H), 6,89 (т, 1H), 6,84 (д, 1H), 5,66 (с, 2H), 4,47–4,36 (м, 1H), 3,57–3,50 (м, 2H), 3,45–3,37 (м, 4H), 3,06 (дд, 1H), 3,00–2,90 (м, 2H), 2,83 (дд, 1H), 2,57–2,35 (м, 4H), 1,45 (с, 9H), 0,96–0,86 (м, 2H), -0,06 (с, 9H); РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 566,3.

25

Для розділення рацемічної суміші на окремі енантіомери використовували хіральну ВЕРХ (колонка Chiral Technologies ChiralPAK IA 20 × 250 мм, 5 мкм, рухома фаза 30 % EtOH/70 % гексани, швидкість потоку 12 мл/хв). Пік 1 (енантіомер, що елюється першим), 1,8 г; пік 2 (енантіомер, що елюється другим): 1,9 г.

30

Стадія 2. Гідрохлоридна сіль 4-піперазин-1-іл-3-[3-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-пірол-1-іл]бутаннітрилу

До розчину трет-бутил 4-{3-ціано-2-[3-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-пірол-1-іл]пропіл}піперазин-1-карбоксилату (1,9 г, 0,0034 моль; пік 2 стадії 1) у 1,4-діоксані (20 мл) додавали 4,0 М HCl у п-діоксані (12 мл, 48 ммоль). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом 80 хвилин. Розчинник видаляли у вакуумі з отриманням продукту у вигляді світло-жовтої твердої речовини (1,90 г, 100 %). РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 466,3.

35

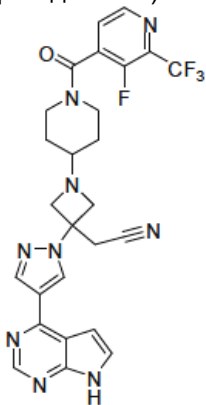
Стадія 3. Трифторацетатна сіль 4-[(4-{3-ціано-2-[3-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-пірол-1-іл]пропіл}піперазин-1-іл)карбоніл]-3-фторбензонітрилу

40 Суміш 4-ціано-2-фторбензойної кислоти (44 мг, 0,26 ммоль, Alfa Aesar), N,N,N',N'-тетраметил-О-(7-азабензотриазол-1-іл)уронію гексафторфосфату (93 мг, 0,24 ммоль) і триетиламіну (171 мкл, 1,22 ммоль) у ТГФ (2,4 мл) перемішували за кімнатної температури протягом 15 хвилин. Додавали гідрохлоридну сіль 4-піперазин-1-іл-3-[3-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-пірол-1-іл]бутаннітрилу (110 мг, 0,20 ммоль; отриману на стадії 2). Реакційну суміш перемішували протягом 2 годин. Додавали етилацетат і воду. Розділяли шари, і послідовно промивали органічний шар водою, 1 н. розчином NaOH і соляним розчином, сушили над сульфатом натрію й концентрували. Спочатку залишок розчиняли в суміші ДХМ: ТФК 1:1 протягом 1 години, концентрували, після

45

цього протягом однієї години перемішували в метанолі (2 мл), що містить етилендіамін (0,2 мл). Очищення шляхом препаративної ВЕРХ-МС (елюювання градієнтом MeCN/H<sub>2</sub>O, що містить 0,1 % ТФК, дозволяло отримати продукт у вигляді 3,3 ТФК солі (84 мг, 48 %). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, d<sub>6</sub>-ДМСО): δ 13,22 (ушир. с, 1H), 8,90 (с, 1H), 8,38 (с, 1H), 8,00 (дд, 1H), 7,97–7,93 (м, 1H), 7,80 (дд, 1H), 7,61 (т, 1H), 7,35 (с, 2H), 7,18–7,13 (м, 1H), 5,00–4,80 (м, 1H), 3,75–3,49 (ушир. м, 2H), 3,35–2,33 (м, 10H); <sup>19</sup>F ЯМР (300 МГц, d<sub>6</sub>-ДМСО): δ -74,82 (с, 10F), -114,53 (с, 1F); РХ-МС (M+H)<sup>+</sup>: 483,2.

Приклад 5. {1-{1-[3-Фтор-2-(трифторметил)ізонікотиноіл]піперидин-4-іл}-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил



Стадія А. трет-Бутил 3-оксоазетидин-1-карбоксилат

До суміші трет-бутил 3-гідроксіязетидин-1-карбоксилату (10,0 г, 57,7 ммоль), диметилсульфоксиду (24,0 мл, 338 ммоль), триетиламіну (40 мл, 300 ммоль) і метиленхлориду (2,0 мл) за 0 °С порціями додавали комплекс триоксиду сірки й піридину (40 г, 200 ммоль). Суміш перемішували протягом 3 годин, гасили соляним розчином і екстрагували метиленхлоридом. Об'єднані екстракти сушили над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували й концентрували під зниженим тиском. Залишок очищали на колонці з силікагелем (0–6 % етилацетат (EtOAc) у гексанах) з отриманням трет-бутил 3-оксоазетидин-1-карбоксилату (5,1 г, вихід 52 %).

Стадія В. трет-Бутил 3-(ціанометилен)азетидин-1-карбоксилат

До висушеної в сушильній шафі 1-літрової 4-горлої круглодонної колби, обладнаної магнітною мішалкою, перегородкою, вхідним отвором для азоту, крапельною лійкою на 250 мл і термopарою, в атмосфері азоту завантажували гідрид натрію (5,6 г, 0,14 моль) і тетрагідрофуран (ТГФ) (140 мл). Суміш охолоджували до 3 °С, після чого по краплях за допомогою шприца протягом 20 хвилин додавали діетилціанометилфосфонат (22,4 мл, 0,138 моль). Розчин перетворювався на світло-жовту суспензію. Після цього реакційну суміш перемішували протягом 75 хвилин, одночасно нагріваючи її до 18,2 °С. Розчин трет-бутил 3-оксоазетидин-1-карбоксилату (20 г, 0,1 моль) у тетрагідрофурані (280 мл) отримували у висушеній у сушильній шафі круглодонній колбі, завантажували до крапельної лійки через канюлю, після чого по краплях додавали до реакційної суміші протягом 25 хвилин. Колір реакційного розчину ставав червоним. Реакційну суміш залишали перемішуватися протягом ночі. Через 24 години реакцію перевіряли за допомогою тонкошарової хроматографії (ТШХ, 70 % гексан/EtOAc) і виявляли її завершення. Реакційну суміш розводили 200 мл 20 % соляного розчину й 250 мл EtOAc. Розчин розділяли, і водну фазу екстрагували з використанням 250 мл EtOAc. Об'єднану органічну фазу сушили над MgSO<sub>4</sub> і фільтрували, випаровували під зниженим тиском і очищали за допомогою флеш-хроматографії (від 0 % до 20 % EtOAc/гексани, флеш-колонка 150 г) з отриманням бажаного продукту, трет-бутил 3-(ціанометилен)азетидин-1-карбоксилату (15 г, вихід 66,1 %).

Стадія С. 4-Хлор-7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7H-піроло[2,3-d]піримідин

До суспензії гідриду натрію (36,141 г, 903,62 ммоль) у N,N-диметилацетаміді (118 мл) за -5 °С (баня лід/сіль) повільно додавали темний розчин 4-хлорпіроло[2,3-d]піримідину (119,37 г, 777,30 ммоль) у N,N-диметилацетаміді (237 мл). Колбу й крапельну лійку промивали N,N-диметилацетамідом (30 мл). Відразу виділялась велика кількість газу. Суміш перетворювалась на злегка мутну суміш помаранчевого кольору. Суміш перемішували за 0 °С протягом 60 хв з отриманням світло-коричневої густої суміші. До суміші повільно додавали [2-(триметилсиліл)етокси]метилхлорид (152,40 г, 914,11 ммоль), і реакційну суміш перемішували за 0 °С протягом 1 год. Реакційну суміш гасили повільним додаванням 12 мл H<sub>2</sub>O. Додавали більше води (120 мл) із наступним додаванням метил трет-бутилового етеру (МТБЕ) (120 мл).

Суміш перемішували протягом 10 хв. Відділяли органічний шар. Водний 15 шар екстрагували іншою порцією МТБЕ (120 мл). Органічні екстракти об'єднували, промивали соляним розчином (120 мл × 2) і концентрували під зниженим тиском з отриманням неочищеного продукту 4-хлор-7-[[2-(триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-д]піримідину у вигляді темного масла. Вихід: 85,07 г (97 %); РХ-МС: 284,1 (М+Н)<sup>+</sup>. Цей продукт використовували в наступній реакції без очищення.

Стадія D. 4-(1Н-Піразол-4-іл)-7-[[2-(триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-д]піримідин

До круглодонної колби на 1000 мл завантажували 4-хлор-7-[[2-(триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-д]піримідин (10,00 г, 35,23 ммоль), 1-бутанол (25,0 мл), 1-(1-етоксіетил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразол (15,66 г, 52,85 ммоль), воду (25,0 мл) і карбонат калію (12,17 г, 88,08 ммоль). Цей розчин дегазували 4 рази, кожен раз наповнюючи азотом. До розчину додавали тетракіс(трифенілфосфін)паладій (0) (4,071 г, 3,523 ммоль). Розчин дегазували 4 рази, кожен раз наповнюючи азотом. Суміш перемішували протягом ночі за 100 °С. Після охолодження до кімнатної температури суміш фільтрували через шар целіту, і промивали целіт етилацетатом (42 мл). Об'єднували фільтрат, і відділяли органічний шар. Водний шар екстрагували етилацетатом. Органічні екстракти об'єднували й концентрували у вакуумі на бані з температурою 30–70 °С з отриманням кінцевої сполуки, 4-(1Н-піразол-4-іл)-7-[[2-(триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-д]піримідину. Вихід: 78 %. РХ-МС: 316,2 (М+Н)<sup>+</sup>.

Стадія E. трет-Бутил 3-(ціанометил)-3-[4-(7-[[2-(триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-карбоксилат

До 2-літрової круглодонної колби, обладнаної верхньопривідною мішалкою, перегородкою і вхідним отвором для азоту, завантажували трет-бутил 3-(ціанометил)азетидин-1-карбоксилат (9,17 г, 0,0472 моль), 4-(1Н-піразол-4-іл)-7-[[2-(триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-д]піримідин (14,9 г, 0,0472 моль) і ацетонітрил (300 мл). Отриманий розчин був неоднорідним. За кімнатної температури до розчину порціями протягом 3 хв через шприц додавали 1,8-діазобіцикло[5.4.0]ундец-7-ен (8,48 мл, 0,0567 моль). Розчин повільно ставав гомогенним і набував жовтого кольору. Реакційну суміш залишали перемішуватися за кімнатної температури протягом 3 год. Визначали завершення реакції за допомогою ВЕРХ і РХ-МС, і реакційну суміш концентрували шляхом роторного випаровування для видалення ацетонітрилу (~ 150 мл). Додавали EtOAc (100 мл) з наступним додаванням 100 мл 20 % соляного розчину. Розділяли дві фази. Водна фазу екстрагували з використанням 150 мл EtOAc. Об'єднані органічні фази сушили над MgSO<sub>4</sub>, фільтрували й концентрували з отриманням помаранчевого масла. Очищення за допомогою флеш-хроматографії (150 грамів силікагелю, 60 % EtOAc/гексани, наповнення CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) дозволяло отримати зазначену в заголовку сполуку, трет-бутил 3-(ціанометил)-3-[4-(7-[[2-(триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-карбоксилат, у вигляді жовтого масла (21,1 г, вихід 88 %). РХ-МС: [М+Н]<sup>+</sup> = 510,3.

Стадія F. Дигідрохлорид {3-[4-(7-[[2-(триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу

До розчину трет-бутил 3-(ціанометил)-3-[4-(7-[[2-(триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-карбоксилату (2 г, 3,9 ммоль) 25 у 10 мл ТГФ додавали 10 мл 4 н. HCl у діоксані. Розчин перемішували за кімнатної температури протягом 1 години й концентрували у вакуумі з отриманням 1,9 г (99 %) зазначеної в заголовку сполуки у вигляді білої порошкоподібної твердої речовини, яку використовували в наступній реакції без очищення. РХ-МС: [М+Н]<sup>+</sup> = 410,3.

Стадія G. трет-Бутил 4-{3-(ціанометил)-3-[4-(7-[[2-(триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}піперидин-1-карбоксилат

До розчину дигідрохлориду {3-[4-(7-[[2-(триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу (2,6 г, 6,3 ммоль), трет-бутил 4-оксо-1-піперидинкарбоксилату (1,3 г, 6,3 ммоль) у ТГФ (30 мл) додавали N,N-діізопропілетиламін (4,4 мл, 25 ммоль) і триацетоксиборгідрид натрію (2,2 г, 10 ммоль). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом ночі. Після додавання 20 мл соляного розчину, розчин екстрагували з використанням EtOAc. Екстракт сушили над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і концентрували. Залишок очищали на хроматографічній колонці системи CombiFlash, елюювали градієнтом 30–80 % EtOAc у гексанах з отриманням бажаного продукту, трет-бутил 4-{3-(ціанометил)-3-[4-(7-[[2-(триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}піперидин-1-карбоксилату. Вихід: 3,2 г (86 %); РХ-МС: [М+Н]<sup>+</sup> = 593,3.

Стадія H. Тригідрохлорид {1-піперидин-4-іл-3-[4-(7-[[2-(триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу

До розчину трет-бутил 4-{3-(ціанометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл]піперидин-1-карбоксилату (3,2 г, 5,4 ммоль) у 10 мл ТГФ додавали 10 мл 4 н. HCl у діоксані. Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури протягом 2 годин. Видалення розчинників під зниженим тиском дозволяло отримати 3,25 г (100 %) тригідрохлориду {1-піперидин-4-іл-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу у вигляді білої порошкоподібної твердої речовини, яку безпосередньо використовували в наступній реакції. РХ-МС:  $[M+H]^+ = 493,3$ .  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  9,42 (с, 1H), 9,21 (с, 1H), 8,89 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 7,97 (с, 1H), 7,39 (д, 1H), 5,68 (с, 2H), 4,96 (д, 2H), 4,56 (м, 2H), 4,02–3,63 (м, 2H), 3,55 (с, 2H), 3,53 (т, 2H), 3,49–3,31 (3, 3H), 2,81 (м, 2H), 2,12 (д, 2H), 1,79 (м, 2H), 0,83 (т, 2H), -0,10 (с, 9H).

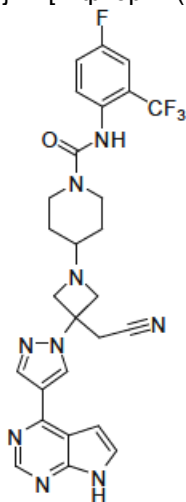
Стадія I. {1-{1-[3-Фтор-2-(трифторметил)ізонікотиноїл]піперидин-4-іл}-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил

Суміш тригідрохлориду {1-піперидин-4-іл-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу (1,22 г, 2,03 ммоль), 3-фтор-2-(трифторметил) ізонікотинової кислоти (460 мг, 2,2 ммоль), бензотриазол-1-ілокситрис(диметиламіно)фосфонію гексафторфосфату (1,07 г, 2,42 ммоль) і триетиламіну (2,0 мл, 14 ммоль) у диметилформаміді (ДМФ) (20,0 мл) перемішували за кімнатної температури протягом ночі. Визначали завершення реакції за допомогою РХ-МС. До реакційної суміші додавали EtOAc (60 мл) і насичений водний розчин  $NaHCO_3$  (60 мл). Після перемішування за кімнатної температури протягом 10 хвилин відділяли органічну фазу, і водний шар тричі екстрагували з використанням EtOAc. Об'єднану органічну фазу промивали соляним розчином, сушили над безводним  $Na_2SO_4$ , фільтрували й випаровували під зниженим тиском. Очищення за допомогою флеш-хроматографії забезпечувало отримання бажаного продукту, {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)ізонікотиноїл]піперидин-4-іл}-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу. РХ-МС: 684,3 (M+H) $^+$ .

Стадія J. {1-{1-[3-Фтор-2-(трифторметил)ізонікотиноїл]піперидин-4-іл}-3-[4-(7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил

До розчину {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)ізонікотиноїл]піперидин-4-іл}-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу (56 мг, 0,1 ммоль) у метиленхлориді (1,5 мл) додавали трифтороцтову кислоту (1,5 мл). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом 2 годин. Після видалення розчинників у вакуумі залишок розчиняли в розчині метанолу, що містить 20 % етилендіамін. Після перемішування за кімнатної температури протягом 1 години розчин очищали шляхом ВЕРХ (спосіб В) з отриманням зазначеної в заголовку сполуки. РХ-МС: 554,3 (M+H) $^+$ ;  $^1H$  ЯМР (400 МГц,  $CDCl_3$ ): 9,71 (с, 1H), 8,82 (с, 1H), 8,55 (д, J=4,6 Гц, 1H), 8,39 (с, 1H), 8,30 (с, 1H), 7,52 (т, J=4,6 Гц, 1H), 7,39 (дд, J<sub>1</sub>=3,4 Гц, J<sub>2</sub>=1,5 Гц, 1H), 6,77 (дд, J<sub>1</sub>=3,6 Гц, J<sub>2</sub>=0,7 Гц, 1H), 4,18 (м, 1H), 3,75 (м, 2H), 3,63 (дд, J<sub>1</sub>=7,8 Гц, J<sub>2</sub>=3,7 Гц, 2H), 3,45 (м, 2H), 3,38 (с, 2H), 3,11 (м, 1H), 2,57 (м, 1H), 1,72 (м, 1H), 1,60 (м, 1H), 1,48 (м, 1H), 1,40 (м, 1H).

Приклад 6. 4-{3-(Ціанометил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-[4-фтор-2-(трифторметил)феніл]піперидин-1-карбоксамід



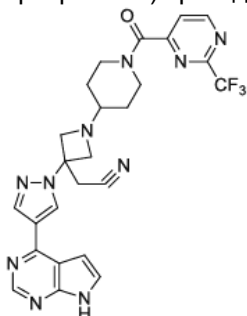
Стадія А. 4-{3-(Ціанометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-[4-фтор-2-(трифторметил)феніл]піперидин-1-карбоксамід

До розчину {1-піперидин-4-іл-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил тригідрохлориду (500 мг, 1 ммоль) у тетрагідрофурані (30 мл) додавали триетиламін (0,29 г, 2,8 ммоль) і 4-фтор-1-ізоціанато-2-(трифторметил)бензол (190 мг, 0,95 ммоль). Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури протягом 1 години. Розчинник видаляли під зниженим тиском. Очищення за допомогою системи Combi-Flash з використанням градієнта 30–100 % EtOAc/гексани забезпечувало отримання 4-{3-(ціанометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-[4-фтор-2-(трифторметил)феніл]піперидин-1-карбоксаміду у вигляді порошку. РХ-МС: 698,1 (М+Н)<sup>+</sup>.

Стадія В. 4-{3-(Ціанометил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-[4-фтор-2-(трифторметил)феніл]піперидин-1-карбоксамід

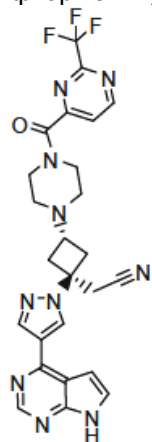
У 50 М розчині трифтороцтової кислоти в метиленхлориді (20 мл) розчиняли 4-{3-(ціанометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-[4-фтор-2-(трифторметил)феніл]піперидин-1-карбоксамід (210 мг, 0,3 ммоль). Після перемішування за кімнатної температури протягом однієї години розчинники видаляли під зниженим тиском. Залишок розчиняли в метанолі (20 мл) і етилендіаміні (1,0 г, 17 ммоль). Після перемішування за кімнатної температури протягом однієї години, суміш очищали за допомогою ВЕРХ (спосіб В) з отриманням 4-{3-(ціанометил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-[4-фтор-2-(трифторметил)феніл]піперидин-1-карбоксаміду у вигляді білого порошку. РХ-МС: 568,1 (М+Н)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>): δ 12,10 (с, 1Н), 8,76 (с, 1Н), 8,63 (с, 1Н), 8,36 (с, 1Н), 8,18 (с, 1Н), 7,55 (д, J=3,6 Гц, 1Н), 7,50 (м, 1Н), 7,43 (м, 1Н), 7,34 (м, 1Н), 7,01 (д, J=3,6 Гц, 1Н), 3,79 (м, 2Н), 3,67 (д, J=8 Гц, 2Н), 3,51 (м, 4Н), 2,92 (м, 2Н), 2,38 (м, 1Н), 1,62 (м, 2Н), 1,09 (м, 2Н).

Приклад 7. [3-[4-(7Н-Піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]-1-(1-{[2-(трифторметил)піримідин-4-іл]карбоніл}піперидин-4-іл)азетидин-3-іл]ацетонітрил



Зазначену в заголовку сполуку отримували способом, аналогічним до того, що використовували для одержання сполуки, описаної в прикладі 5. РХ-МС (М+Н)<sup>+</sup>: 537,2.

Приклад 8. [транс-1-[4-(7Н-Піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]-3-(4-{[2-(трифторметил)піримідин-4-іл]карбоніл}піперазин-1-іл)циклобутил]ацетонітрил

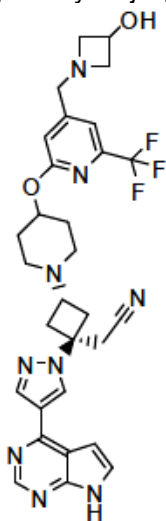


Суміш 2-(трифторметил)піримідин-4-карбонової кислоти (0,225 г, 1,17 ммоль, отриманої шляхом гідролізу метилового естера, придбаного в компанії Apollo, як описано в WO 2006/067445), N,N,N',N'-тетраметил-О-(7-азабензотриазол-1-іл)уронію гексафторфосфату (0,29



г, 0,76 ммоль, Aldrich) і триетиламіну (0,26 мл, 1,9 ммоль) у тетрагідрофурані (6 мл) попередньо перемішували протягом 15 хвилин, після чого додавали {транс-3-піперазин-1-іл-1-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил (0,188 г, 0,380 ммоль, отриманий як описано в US 2012/0149681, приклад 1b, стадія 1) у тетрагідрофурані (10 мл). Реакційну суміш перемішували протягом ночі. ТГФ видаляли у вакуумі. Залишок розділяли між насиченим розчином бікарбонату натрію й етилацетатом. Загалом водну частину екстрагували тричі. Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, декантували й концентрували. Для очищення проміжної речовини, захищеної групою SEM (2-(триметилсиліл)етоксиметил), використовували флеш-хроматографію, елюювання градієнтом 0–10 % MeOH у ДХМ. Зняття захисту здійснювали шляхом перемішування спочатку з трифтороцтовою кислотою (10 мл) у метиленхлориді (10 мл) протягом 2 годин, після чого випаровували розчинник у вакуумі, а потім протягом ночі перемішували з метанолом (6 мл, 200 ммоль), що містить етилендіамін (0,5 мл, 7 ммоль). Реакційну суміш розділяли між водою й етилацетатом, і водну порцію додатково двічі екстрагували етилацетатом. Об'єднані екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували. Для очищення продукту використовували флеш-хроматографію з елююванням градієнтом 0–10 % MeOH у ДХМ. Продукт повторно очищали за допомогою препаративної ВЕРХ-МС (колонка C18, елюювання градієнтом H<sub>2</sub>O/MeCN, що містить 0,1 % ТФК). З елюента, що мав бажану масу, за допомогою роторного випаровування видаляли ацетонітрил, після цього решту водного розчину нейтралізували шляхом додавання бікарбонату натрію, і декілька разів екстрагували етилацетатом. Об'єднані органічні екстракти сушили над сульфатом натрію, фільтрували й концентрували. Продукт повторно очищали шляхом препаративної ВЕРХ-МС (колонка C18, елюювання градієнтом H<sub>2</sub>O/MeCN, що містить 0,15 % NH<sub>4</sub>OH). Елюент, що мав бажану масу, заморожували й ліофілізували з отриманням продукту у вигляді вільної основи (99 мг, 48 %). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ 9,13 (д, 1H), 8,71 (с, 1H), 8,66 (с, 1H), 8,39 (с, 1H), 7,88 (д, 1H), 7,50 (д, 1H), 6,98 (д, 1H), 3,89–3,81 (м, 2H), 3,59–3,52 (м, 2H), 3,34 (с, 2H), 3,13–3,03 (м, 2H), 2,97 (тт, 1H), 2,59–2,42 (м, 6H); <sup>19</sup>F ЯМР (282 МГц, CD<sub>3</sub>OD): δ -72,43 (с, 3F); РХ-МС (М+Н)<sup>+</sup>: 537,0.

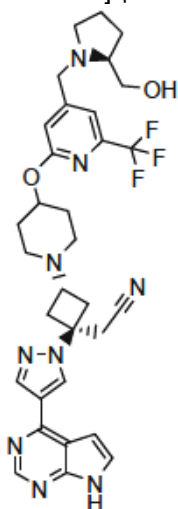
Приклад 9. {транс-3-(4-{[4-[(3-Гідроксіазетидин-1-іл)метил]-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-д]піримідин-25-іл)циклобутил}ацетонітрил



Дотримувалися процедури, описаної в US 2012/0149681, прикладі 153, із використанням на стадії заміщення N,N-діізопропілетиламіну (64 мкл, 0,37 ммоль) і гідрохлориду азетидин-3-олу (30 мг, 0,3 ммоль, Oakwood). Після перемішування протягом ночі за кімнатної температури, додавали метанол (0,20 мл) з отриманням гомогенного розчину, який перемішували протягом додаткових 2,5 години за кімнатної температури й обробляли згідно з умовами зняття захисту й очищення, наведеними в US 2012/0149681, приклад 153, з отриманням продукту у вигляді вільної основи (9,7 мг, 44%). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,12 (ушир. с, 1H), 8,81 (с, 1H), 8,67 (с, 1H), 8,40 (с, 1H), 7,59 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,29 (с, 1H), 7,06 (д, J=3,6 Гц, 1H), 6,93 (с, 1H), 5,34 (д, J=6,4 Гц, 1H), 5,05–4,77 (м, 1H), 4,19 (х, J=6,1 Гц, 1H), 3,60 (с, 2H), 3,50 (тд, J=6,1, 2,0 Гц, 2H), 3,40 (с, 2H), 3,06–2,92 (м, 2H), 2,86–2,71 (м, 3H), 2,68–2,53 (м, 2H), 2,38–2,22 (м, 2H), 2,22–2,07 (ушир. м, 2H), 2,05–1,95 (ушир. м, 2H), 1,75–1,48 (м, 2H); <sup>19</sup>F ЯМР (376 МГц, DMSO) δ -67,36 (с); РХ-МС (М+Н)<sup>+</sup>: 608,2.

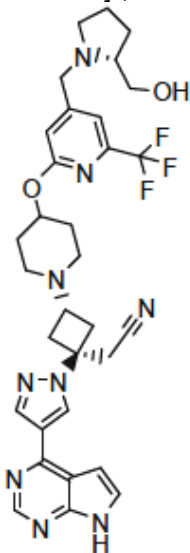
Приклад 10. {транс-3-(4-{[4-[(2S)-2-(Гідроксиметил)піролідин-1-іл]метил]-6-

(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил



Дотримувалися способу, описаного в прикладі 158 у US 2012/0149681, за винятком того, що заміщення мезилату аміном проводили з використанням (2S)-піролідин-2-ілметанолу (20 мкл, 0,2 ммоль, Aldrich) за кімнатної температури протягом ночі (8,3 мг, 59 %). <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО) δ 12,09 (ушир. с, 1H), 8,81 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,41 (с, 1H), 7,59 (д, J=3,5 Гц, 1H), 7,39 (с, 1H), 7,06 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,03 (с, 1H), 5,00 (тт, J=8,4, 3,9 Гц, 1H), 4,48 (с, 1H), 4,12 (д, J=14,8 Гц, 1H), 3,45 (д, J=15,0 Гц, 1H), 3,41 (с, 2H), 3,42–3,25 (м, 2H), 3,06–2,97 (м, 2H), 2,87–2,77 (м, 2H), 2,69–2,62 (м, 2H), 2,59 (дддд, J=5,8, 5,8, 5,8, 8,1 Гц, 1H), 2,41–2,31 (м, 2H), 2,22–2,09 (м, 3H), 2,08–1,95 (м, 2H), 1,83 (дддд, J=8,1, 8,1, 8,3, 12,2 Гц, 1H), 1,75–1,46 (м, 5H); <sup>19</sup>F ЯМР (376 МГц, ДМСО) δ -67,24 (с); РХ-МС (М+Н)<sup>+</sup>: 636,3.

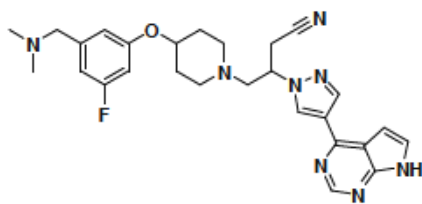
Приклад 11. {транс-3-(4-{[4-((2R)-2-(Гідроксиметил)піролідин-1-іл)метил]-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил



Дотримувалися способу, описаного в прикладі 158 у US 2012/0149681, за винятком того, що заміщення мезилату аміном проводили з використанням (2R)-піролідин-2-ілметанолу (20 мкл, 0,2 ммоль, Aldrich) за кімнатної температури протягом ночі (8,3 мг, 59 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО) δ 12,14 (ушир. с, 1H), 8,83 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,42 (с, 1H), 7,60 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,39 (с, 1H), 7,08 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,03 (с, 1H), 5,04–4,94 (м, 1H), 4,52 (т, J=5,4 Гц, 1H), 4,12 (д, J=14,9 Гц, 1H), 3,52–3,22 (м, 5H), 3,09–2,92 (м, 2H), 2,86–2,73 (м, 2H), 2,70–2,53 (м, 3H), 2,42–2,27 (м, 2H), 2,22–2,09 (м, 3H), 2,06–1,87 (м, 2H), 1,82 (дддд, J=8,0, 8,0, 8,4, 11,9 Гц, 1H), 1,77–1,37 (м, 5H); <sup>19</sup>F ЯМР (376 МГц, ДМСО) δ -67,24 (с); РХ-МС (М+Н)<sup>+</sup>: 636,3.

Приклад 12. 4-(4-{3-[(Диметиламіно)метил]-5-фторфенокси}піперидин-1-іл)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]бутаннітрил (хіральний)





#### Стадія 1. 3-Фтор-5-гідроксибензальдегід

До суспензії 3-фтор-5-гідроксибензонітрилу (1,00 г, 7,29 ммоль) у толуолі (60,0 мл) за  $-78^{\circ}\text{C}$  додавали 1,0 М діізобутилалюмінійгідриду в толуолі (18,2 мл, 18,2 ммоль). Отриману суміш перемішували за  $-78^{\circ}\text{C}$  протягом 1 години й залишали нагріватися до кімнатної температури протягом ночі. Додавали суміш метанолу й води 1:1 (10 мл) і перемішували протягом 35 хвилин. Тверду речовину відфільтровували й промивали етилацетатом. Фільтрати промивали водою й соляним розчином, потім сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрували й концентрували. Неочищений продукт очищали на колонці з силікагелем (елюювали градієнтом 10–50 % етилацетат/гексани) з отриманням бажаного продукту (0,77 г, 75 %).  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  10,49 (с, 1H), 9,88 (с, 1H), 7,10 (м, 2H), 6,87 (д, 1H).

#### Стадія 2. 3-[(Диметиламіно)метил]-5-фторфенол

До суміші гідрохлориду диметиламіну (160 мг, 1,96 ммоль) і 3-фтор-5-гідроксибензальдегіду (250,0 мг, 1,784 ммоль) у метиленхлориді (9,0 мл) додавали триетиламін (323 мкл, 2,32 ммоль) і смолу триацетоксиборгідриду натрію (1,1 г, 2,7 ммоль). Отриману суміш перемішували протягом ночі, потім фільтрували й концентрували. Неочищений продукт очищали на колонці з силікагелем (елюювали градієнтом 0–15 % метанол/ДХМ) з отриманням бажаного продукту (0,21 г, 70 %).  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  6,55 (м, 2H), 6,42 (д, 1H), 2,15 (с, 6H), 1,89 (с, 2H). РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 170,1.

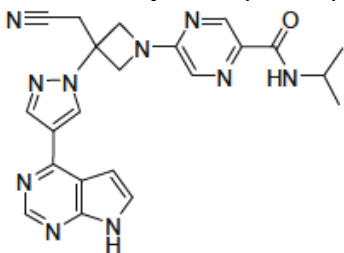
#### Стадія 3. 4-(4-{3-[(Диметиламіно)метил]-5-фторфенокси}піперидин-1-іл)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]бутаннітрил

До суміші 3-[(диметиламіно)метил]-5-фторфенолу (158 мг, 0,934 ммоль) у метиленхлориді (9 мл) додавали смолу трифенілфосфіну (578 мг, 1,37 ммоль) і ди-трет-бутил азодикарбоксилат (229 мг, 0,996 ммоль). Перед додаванням розчину 4-(4-гідроксипіперидин-1-іл)-3-[4-(7-{2-(триметилсиліл)етокси}метил)-7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]бутаннітрилу (300 мг, 0,6 ммоль) у метиленхлориді (2 мл) суміш перемішували протягом 20 хвилин. Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури протягом ночі. Додавали додаткову смолу трифенілфосфіну (0,5 г), ди-трет-бутил азодикарбоксилат (0,23 г) і ДХМ (8 мл), і перемішували протягом додаткових 2 годин. Флакон і смолу промивали ДХМ і фільтрували. Фільтрати промивали 10 % водним розчином  $\text{NaOH}$ . Органічний шар сушили над  $\text{MgSO}_4$ , фільтрували й концентрували. Неочищений продукт очищали на колонці з силікагелем (елюювали градієнтом 0–15 % метанол/ДХМ) з отриманням SEM-захищеного продукту. РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 633,5. До очищеного продукту додавали метиленхлорид (1,5 мл) і трифтороцтову кислоту (1,5 мл, 19 ммоль) і перемішували протягом 2 годин. Перед додаванням метанолу (3,5 мл) і етилендіаміну (0,70 мл, 10 ммоль) випаровували розчинники. Отриману суміш перемішували протягом 1 години, після чого концентрували. Концентрат переносили в ДХМ і промивали водою, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фільтрували й концентрували з отриманням неочищеного продукту, який очищали за допомогою хіральної препаративної ВЕРХ (колонка Chiralcel OJ-H,  $4,6 \times 250$  мм, 5 мкм, 60 % етанол/гексан, 0,5 мл/хв) з отриманням 2 енантіомерів.

Енантіомер 1 (елюється першим): РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 503,3.

Енантіомер 2 (елюється другим):  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  8,78 (с, 1H), 8,67 (с, 1H), 8,35 (с, 1H), 7,59 (д, 1H), 6,96 (д, 1H), 6,64 (т, 3H), 4,94 (м, 1H), 4,36 (м, 1H), 3,39 (м, 2H), 3,19 (д, 3H), 2,77 (м, 3H), 2,60 (м, 1H), 2,32 (м, 2H), 2,10 (с, 6H), 1,83 (м, 2H), 1,54 (м, 2H). РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}^+$ ): 503,3.

Приклад 13. 5-{3-(Ціанометил)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-ізопропілпіразин-2-карбоксамід



Стадія 1. Метил 5-{3-(ціанометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}піразин-2-карбоксилат

(R)-(+)-2,2'-Біс(дифенілфосфіно)-1,1'-бінафтил (0,065 г, 0,10 ммоль) в атмосфері азоту додавали до суміші дигідрохлориду {3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу (0,50 г, 1,0 ммоль), метил-5-хлорпіразин-2-карбоксилату (0,18 г, 1,0 ммоль) (Ark Pharm, Inc., номер за каталогом: АК-23920) і карбонату цезію (1,0 г, 3,1 ммоль) у толуолі (15,0 мл), після чого додавали ацетат паладію (0,023 г, 0,10 ммоль). Реакційну суміш перемішували за 120 °С протягом 3 год. Після охолодження до к.т. реакційну суміш фільтрували через шар целіту, промивали етилацетатом. Фільтрат концентрували за зниженого тиску. Залишок очищали за допомогою флеш-хроматографії на колонці з силікагелем із використанням етилацетату в дихлорметані (0–70 %) з отриманням бажаного продукту (0,31 г, 55 %). РХ-МС (М+Н)<sup>+</sup>: m/z=546,3.

Стадія 2. 5-{3-(Ціанометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}піразин-2-карбонова кислота

Суміш метил 5-{3-(ціанометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}піразин-2-карбоксилату (0,31 г, 0,57 ммоль), моногідрату гідроксиду літію (0,060 г, 1,4 ммоль) у метанолі (6,0 мл) і воду (2,5 мл) перемішували за 30 °С протягом ночі. Рівень pH суміші доводили до pH=4 водним розчином HCl, і для видалення MeOH концентрували її під зниженим тиском. Отриману тверду речовину фільтрували, промивали водою й етером, після чого сушили у вакуумі з отриманням бажаного продукту (0,25 г, 83 %). РХ-МС (М+Н)<sup>+</sup>: m/z=532,3.

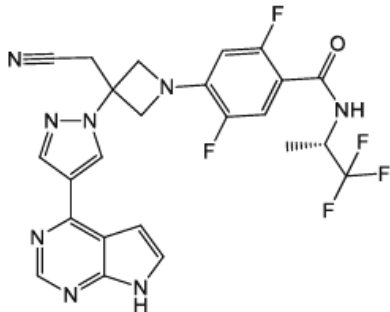
25

Стадія 3. 5-{3-(Ціанометил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-ізопропілпіразин-2-карбоксамід

Триетиламін (15 мкл, 0,11 ммоль) додавали до суміші 5-{3-(ціанометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}піразин-2-карбонової кислоти (19,4 мг, 0,0365 ммоль), бензотриазол-1-ілокситрис(диметиламіно)фосфонію гексафторфосфату (19 мг, 0,044 ммоль) і 2-пропанаміну (3,2 мг, 0,055 ммоль) у метиленхлориді (1,3 мл). Реакційну суміш перемішували за к.т. протягом ночі. Реакційну суміш обробляли водним розчином NaHCO<sub>3</sub> і екстрагували метиленхлоридом (2 × 2 мл). Об'єднані органічні шари промивали водою (1 мл) і концентрували під зниженим тиском. Залишок використовували на наступній стадії без додаткового очищення. РХ-МС (М+Н)<sup>+</sup>: m/z=573,3.

До зазначеної вище проміжної речовини додавали метиленхлорид (1,3 мл) і трифтороцтову кислоту (0,6 мл). Реакційну суміш перемішували за к.т. протягом 1,5 год. Суміш концентрували під зниженим тиском. Залишок розчиняли в метанолі (1,3 мл). До розчину додавали етилендіамін (0,086 мл). Реакційну суміш перемішували за к.т. протягом 2 год. і очищали за допомогою ОФ-ВЕРХ (pH=10) з отриманням бажаного продукту. РХ-МС (М+Н)<sup>+</sup>: m/z=443,2. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,15 (ушир, 1H), 8,97 (с, 1H), 8,68 (с, 1H), 8,63 (д, J=1,2 Гц, 1H), 8,46 (с, 1H), 8,12 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,97 (д, J=1,2 Гц, 1H), 7,60 (дд, J=3,3, 2,4 Гц, 1H), 7,07 (дд, J=3,4, 1,7 Гц, 1H), 4,81 (д, J=9,8 Гц, 2H), 4,53 (д, J=9,6 Гц, 2H), 4,13–4,02 (м, 1H), 3,78 (с, 2H), 1,14 (д, J=6,8 Гц, 6H).

Приклад 14. 4-{3-(Ціанометил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилетил]бензамід



Стадія 1. 4-Хлор-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилетил]бензамід

4-Хлор-2,5-дифторбензоїлхлорид (29,6 мг, 0,140 ммоль) (Oakwood, номер за каталогом: 001628) додавали до суміші (2S)-1,1,1-трифторпропан-2-амін гідро хлориду (20,0 мг, 0,134 ммоль) (SynQuest Lab, номер за каталогом: 3130-7-S1) і діізопропілетиламіну (58 мкл, 0,33 ммоль) у дихлорметані (4,0 мл) за 0 °С. Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури протягом 30 хв, обробляли насиченим водним розчином NaHCO<sub>3</sub> і екстрагували

дихлорметиленом (3 × 10 мл). Об'єднані органічні шари промивали соляним розчином, сушили над  $\text{MgSO}_4$ , фільтрували й концентрували під зниженим тиском з отриманням бажаного продукту, який безпосередньо використовували в наступній стадії реакції без додаткового очищення. РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>:  $m/z=288,0/290,0$ .

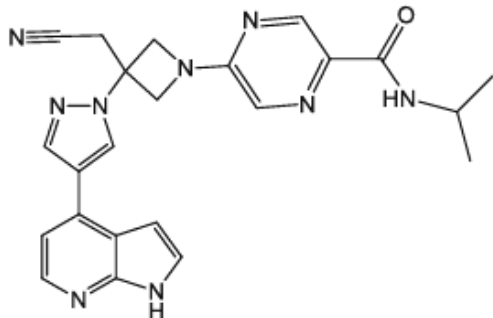
5 Стадія 2. 4-{3-(Ціанометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилетил]бензамід

До суміші {3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил дигідрохлориду (65 мг, 0,13 ммоль), 4-хлор-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилетил]бензаміду (0,14 ммоль) і карбонату цезію (0,13 г, 0,40 ммоль) у толуолі (4,0 мл) в атмосфері  $\text{N}_2$  додавали (R)-(+)-2,2'-біс(дифенілфосфіно)-1,1'-бінафтил (8,3 мг, 0,013 ммоль), після чого додавали ацетат паладію (3,0 мг, 0,013 ммоль). Реакційну суміш перемішували за 130 °С протягом 5 год. Після цього реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, обробляли суміш водою й екстрагували етилацетатом (3 × 10 мл). Об'єднані органічні шари промивали соляним розчином, сушили над  $\text{MgSO}_4$ , фільтрували й концентрували під зниженим тиском з отриманням неочищеного продукту, який безпосередньо використовували в наступній стадії реакції без додаткового очищення. РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>:  $m/z=661,2$ .

20 Стадія 3. 4-{3-(Ціанометил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилетил]бензамід

До розчину 4-{3-(ціанометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилетил]бензаміду в ацетонітрилі (1,0 мл) за 0 °С у атмосфері  $\text{N}_2$  додавали етерат трифториду бору (0,051 мл, 0,40 ммоль). Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури протягом 3 год. (РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>:  $m/z=561,3$ ). Потім суміш охолоджували до 0 °С, додавали воду (0,13 мл). Через 30 хв за 0 °С повільно протягом 5 хв додавали 5,0 М гідроксиду амонію у воді (0,2 мл, 1 ммоль). Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури протягом ночі й очищали за допомогою ОФ-ВЕРХ (рН=10) з отриманням бажаного продукту. РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>:  $m/z=531,0$ . <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  12,62 (ушир, 1Н), 9,07 (с, 1Н), 8,84 (с, 1Н), 8,55 (с, 1Н), 8,51 (дд, J=8,8, 1,2 Гц, 1Н), 7,78 (ушир, 1Н), 7,35 (дд, J=12,6, 6,5 Гц, 1Н), 7,23 (д, J=1,9 Гц, 1Н), 6,65 (дд, J=11,9, 7,3 Гц, 1Н), 4,76 (м, 1Н), 4,70 (д, J=9,3 Гц, 2Н), 4,44 (д, J=9,2 Гц, 2Н), 3,76 (с, 2Н), 1,30 (д, J=7,1 Гц, 3Н).

Приклад 15. 5-{3-(Ціанометил)-3-[4-(1Н-піроло[2,3-b]піридин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-ізопропілпіразин-2-карбоксамід



35 Стадія 1. Метил 5-{3-(ціанометил)-3-[4-(1-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-1Н-піроло[2,3-b]піридин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}піразин-2-карбоксилат

До суміші {3-[4-(1-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-1Н-піроло[2,3-b]піридин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил дигідрохлориду (0,96 г, 2,0 ммоль) і метил 5-хлорпіразин-2-карбоксилату (0,34 г, 2,0 ммоль) у 1,4-діоксані (15 мл) додавали N,N-діізопропілетиламін (1,0 мл, 6,0 ммоль). Реакційну суміш перемішували за 120 °С протягом ночі. Суміш обробляли насиченим водним розчином  $\text{NaHCO}_3$  і екстрагували дихлорметиленом (3 × 20 мл). Об'єднані органічні шари промивали соляним розчином, сушили над  $\text{MgSO}_4$ , фільтрували й концентрували під зниженим тиском. Залишок очищали за допомогою флеш-хроматографії на колонці з силікагелем із використанням етилацетату в гексанах (0–60 %) з отриманням бажаного продукту (0,13 г, 12 %). РХ-МС ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>:  $m/z=545,2$ .

Стадія 2. 5-{3-(Ціанометил)-3-[4-(1-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-1Н-піроло[2,3-b]піридин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}піразин-2-карбонова кислота

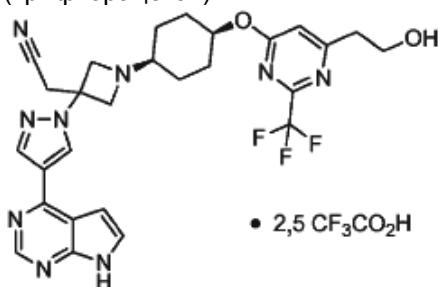
50 Реакційну суміш метил 5-{3-(ціанометил)-3-[4-(1-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-1Н-піроло[2,3-b]піридин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}піразин-2-карбоксилату (0,13 г, 0,24

ммоль), моногідрату гідроксиду літію (0,025 г, 0,60 ммоль) у метанолі (4,0 мл), ТГФ (2,0 мл) і воду (1,0 мл) перемішували за 40 °С протягом 3 год. Рівень рН суміші доводили до рН=4 із використанням 2,0 н. водного розчину НСІ, і для видалення MeOH і ТГФ концентрували її під зниженим тиском. Утворений осад фільтрували, промивали водою й етером і сушили у вакуумі з отриманням бажаного продукту (0,100 г, 79 %). РХ-МС (М+Н)<sup>+</sup>: m/z=531,4.

Стадія 3. 5-{3-(Ціанометил)-3-[4-(1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-ізопропілпіразин-2-карбоксамід

До суміші 5-{3-(ціанометил)-3-[4-(1-{2-(триметилсиліл)етокси}метил)-1Н-піроло[2,3-*b*]піридин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}піразин-2-карбонової кислоти (19,4 мг, 0,0365 ммоль), бензотриазол-1-ілокситрис(диметиламіно)фосфонію гексафторфосфату (19 мг, 0,044 ммоль) і 2-пропанаміну (3,2 мг, 0,055 ммоль) у ДМФ (1,0 мл) додавали N,N-діізопропілетиламін (19 мкл, 0,11 ммоль). Реакційну суміш перемішували за кімнатної температури протягом ночі. Реакційну суміш обробляли насиченим водним розчином NaHCO<sub>3</sub> і екстрагували дихлорметиленом (3 × 20 мл). Об'єднані органічні шари промивали соляним розчином, сушили над MgSO<sub>4</sub>, фільтрували й концентрували під зниженим тиском. Залишок обробляли метиленхлоридом (1,3 мл) і ТФК (1,3 мл). Суміш перемішували за кімнатної температури протягом 1,5 год. і концентрували під зниженим тиском. Залишок розчиняли в метанолі (1,3 мл) і обробляли етилендіаміном (0,086 мл, 1,3 ммоль). Отриману суміш перемішували за кімнатної температури протягом 2 год., після чого очищали за допомогою ОФ-ВЕРХ (рН=10) з отриманням бажаного продукту. РХ-МС (М+Н)<sup>+</sup>: m/z=442,1. <sup>1</sup>Н ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 12,19 (ушир, 1Н), 8,99 (с, 1Н), 8,66 (д, J=1,4 Гц, 1Н), 8,47 (с, 1Н), 8,32 (д, J=5,7 Гц, 1Н), 8,14 (д, J=8,4 Гц, 1Н), 8,00 (д, J=1,4 Гц, 1Н), 7,67 (дд, J=3,2, 2,7 Гц, 1Н), 7,54 (д, J=5,5 Гц, 1Н), 7,09 (дд, J=3,5, 2,7 Гц, 4,82 (д, J=10,0 Гц, 2Н), 4,56 (д, J=10,0 Гц, 2Н), 4,10 (м, 1Н), 3,79 (с, 2Н), 1,17 (д, J=6,4 Гц, 6Н).

Приклад 16. {1-(цис-4-{[6-(2-Гідроксіетил)-2-(трифторметил)піримідин-4-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил трис(трифторацетат)



Стадія 1. Діетил [6-(1,4-діоксаспіро[4.5]дец-8-ілокси)-2-(трифторметил)піримідин-4-іл]малонат

До суміші тетрагідрофурану (40 мл) і NaH у мінеральному маслі (1,1 г, 28 ммоль) 25 за 0 °С по краплях додавали етилмалонат (4,2 мл, 28 ммоль). Після цього додавали 4-хлор-6-(1,4-діоксаспіро[4.5]дец-8-ілокси)-2-(трифторметил)піримідин (описаний у US 2013/0045963, приклад 1, стадія 1) (3,75 г, 11,1 ммоль). Реакційну суміш перемішували за 64 °С. Через 3 години аналізу ВЕРХ і РХ-МС продемонстрували 70 % завершення реакції. Суміш нагрівали ще протягом 6 годин, а потім охолоджували до 20 °С. Утворювалися лише сліди продукту декарбоксилювання. Реакційну суміш розводили водним розчином бікарбонату й екстрагували з використанням EtOAc. Екстракт EtOAc промивали соляним розчином, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і випаровували у вакуумі з отриманням 8,5 г масла (включає надлишок етилмалонату й мінерального масла). Неочищений продукт очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем 120 г з використанням розчинника А=гексан; розчинника В=EtOAc; зі швидкістю потоку 60 мл/хв; А 3 хв; градієнт до 40 % В за 40 хв; детектор налаштовано на довжину хвилі 254 нм; збирали 47 мл фракцій; час утримування 28 хв. Об'єднані фракції випаровували з отриманням 4,6 г безбарвного масла, вихід 90 %. <sup>1</sup>Н ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 7,05 (с, 1Н); 5,30 (м, 1Н, OCH); 4,85 (с, 1Н, CH); 4,25 (м, 2Н, OCH<sub>2</sub>); 3,95 (с, 4Н, OCH<sub>2</sub>); 1,6–2,1 (м, 8Н); 1,28 (т, 3Н, CH<sub>3</sub>).

Стадія 2. Етил [6-(1,4-діоксаспіро[4.5]дец-8-ілокси)-2-(трифторметил)піримідин-4-іл]ацетат

Діетил [6-(1,4-діоксаспіро[4.5]дец-8-ілокси)-2-(трифторметил)піримідин-4-іл]малонат (4,60 г, 9,95 ммоль) розчиняли в етанолі (46 мл). Додавали воду (18 мкл, 1,0 ммоль) і 21 % розчин етоксиду натрію в етанолі (0,37 мл, 1,0 ммоль). Реакційну суміш перемішували за 75 °С протягом 1 години. Аналізи ВЕРХ і РХ-МС продемонстрували 60 % декарбоксилювання. Нагрівання продовжували ще протягом 2 годин (до завершення реакції). Реакційну суміш розводили водним розчином бікарбонату й екстрагували з використанням EtOAc. Екстракт

EtOAc промивали соляним розчином, потім сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) і випаровували у вакуумі з отриманням 3,4 г масла (вихід 88 %). Аналізи РХ-МС, ВЕРХ і ЯМР продемонстрували, що масло було достатньо чистим для подальшого використання.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-D}_6$ ):  $\delta$  7,20 (с, 1H); 5,20 (м, 1H, OCH); 4,10 (к, 2H,  $\text{OCH}_2$ ); 3,89 (с, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 3,85 (с, 4H,  $\text{OCH}_2$ ); 1,5–2,0 (м, 8H); 1,15 (т, 3H,  $\text{CH}_3$ ). За результатами ВЕРХ УФ<sub>макс</sub> становить 222 і 252 нм.

Стадія 3. 2-[6-(1,4-Діоксаспіро[4.5]дец-8-ілокси)-2-(трифторметил)піримідин-4-іл]етанол

Етил [6-(1,4-діоксаспіро[4.5]дец-8-ілокси)-2-(трифторметил)піримідин-4-іл]ацетат (3,0 г) розчиняли в тетрагідрофурані (40 мл) і охолоджували на льодяній бані. Додавали тетрагідроборат натрію (884 мг, 23,4 ммоль) з наступним додаванням порціями метанолу (4,8 мл, 120 ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 20 хв, прибирали льодяну баню, перемішували за 21 °С протягом 0,5 години. ВЕРХ і РХ-МС продемонстрували відсутність залишкового естеру й показали перетворення на бажаний М+Н 349; а також показали ще декілька продуктів відновлення (принаймні один з яких не мав УФ-поглинання). Реакційну суміш гасили водою й випаровували. Реакційну суміш розводили водним розчином бікарбонату й EtOAc і перемішували протягом 0,5 години. Шар EtOAc промивали соляним розчином, сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) і випаровували з отриманням 3,0 г масла. Продукт очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем 120 г з використанням розчинника А=гексан; розчинника В=3 % iPA/EtOAc; зі швидкістю потоку 60 мл/хв; А 3 хв; градієнт до 50 % В за 30 хв, потім 50 % В протягом 15 хв; детектор налаштовано на довжину хвилі 254 нм; збирали 47 мл фракцій; час утримування 34 хв. Випаровували з отриманням 1,5 г світло-жовтого в'язкого масла, вихід 56 %.  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{DMSO-D}_6$ ):  $\delta$  7,10 (с, 1H); 5,20 (м, 1H, OCH); 4,71 (т, 1H, OH); 3,85 (с, 4H,  $\text{OCH}_2$ ); 3,72 (к, 2H,  $\text{OCH}_2$ ); 2,85 (т, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1,5–2,0 (м, 8H).

Стадія 4. 4-[[6-(2-Гідроксіетил)-2-(трифторметил)піримідин-4-іл]окси]циклогексанон

2-[6-(1,4-Діоксаспіро[4.5]дец-8-ілокси)-2-(трифторметил)піримідин-4-іл]етанол розчиняли в ацетоні (60 мл, 900 ммоль), додавали 5,0 М хлористого водню у воді (20 мл, 98 ммоль) і перемішували протягом 17 годин. Аналізи РХ-МС і ВЕРХ продемонстрували майже повне перетворення на М+Н 305. Додавали водний розчин бікарбонату й реакційну суміш перемішували, а потім концентрували. Суміш екстрагували з використанням EtOAc. EtOAc сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) і випаровували у вакуумі з отриманням 1,3 г світло-жовтого в'язкого масла (використовували в наступній реакції без очищення).  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  6,80 (с, 1H); 5,60 (м, 1H, OCH); 4,06 (т, 2H,  $\text{OCH}_2$ ); 3,04 (т, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 2,61 (м, 2H); 2,45 (м, 2H); 2,25 (м, 2H).

Стадія 5. {1-(4-[[6-(2-Гідроксіетил)-2-(трифторметил)піримідин-4-іл]окси]циклогексил)-3-[4-(7-[[2-(триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл]ацетонітрил

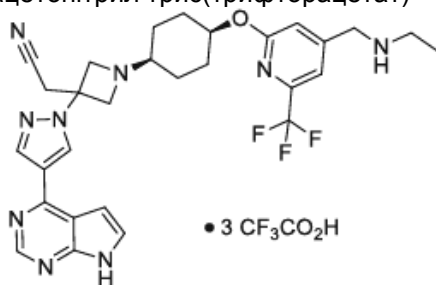
{3-[4-(7-[[2-(Триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл]ацетонітрил дигідрохлорид (1,9 г, 3,9 ммоль) і 4-[[6-(2-гідроксіетил)-2-(трифторметил)піримідин-4-іл]окси]циклогексанон (1,3 г, 4,3 ммоль) у сухому тетрагідрофурані (36 мл) перемішували протягом 15 хв у атмосфері азоту. Потім додавали триацетоксиборгідрид натрію (1,7 г, 8,2 ммоль). Суміш перемішували за 20 °С протягом 16 годин. Аналізи ВЕРХ і РХ-МС продемонстрували чисте перетворення на транс і цис продукти (М+Н 698; співвідношення 1:1). Реакційну суміш гасили водою, концентрували, перемішували з 20 %  $\text{KHCO}_3$  і екстрагували етилацетатом, сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), фільтрували й випаровували з отриманням 2,8 г. Ізомерні продукти розділяли за допомогою препаративної РХ-МС з використанням приладу Waters і колонки Xbridge C18 30 мм × 100 мм; швидкість потоку 60 мл/хв; 55 %  $\text{CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$  (0,1 %  $\text{NH}_4\text{OH}$ ); 0,5 хв; 4,5 градієнт до 72 %; 24 прогони; час утримування транс-ізомера 4,6 хв; цис-ізомера-5,4 хв. Виділений цис-ізомер містив < 1 % залишкового транс-ізомера. Вихід 1,00 г цис-ізомера, вихід 37 %.  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ; також COSY, HSQC і HMBC):  $\delta$  8,83 (с, 1H); 8,40 (с, 1H); 8,28 (с, 1H); 7,40 (м, 1H); 6,80 (м, 1H); 6,67 (с, 1H); 5,64 (с, 2H, SEM); 5,17 (м, 1H, OCH); 4,01 (т, 2H,  $\text{OCH}_2$ ); 3,74 (с, 2H, NCH); 3,59 (м, 2H, NCH); 3,55 (т, 2H, SEM); 3,38 (с, 2H,  $\text{CH}_2\text{CN}$ ); 2,95 (т, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 2,30 (м, 1H, NCH); 2,15 (м, 2H); 1,84 (м, 2H); 1,50 (м, 2H); 1,30 (м, 2H); 0,90 (т, 2H, SEM); -0,92 (с, 9H, SEM).

Стадія 6. {1-(цис-4-[[6-(2-Гідроксіетил)-2-(трифторметил)піримідин-4-іл]окси]циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл]ацетонітрил трис(трифторацетат)

Ізомер {1-(4-[[6-(2-гідроксіетил)-2-(трифторметил)піримідин-4-іл]окси]циклогексил)-3-[4-(7-[[2-(триметилсиліл)етокси]метил]-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл]ацетонітрилу розчиняли в метиленхлориді (18 мл) і трифтороцтової кислоті (ТФК, 18 мл, 230 ммоль) і перемішували протягом 1,0 години. Для видалення ТФК розчин концентрували. Аналіз РХ-МС продемонстрував перетворення гідроксиметилу проміжної речовини, М+Н 598, деяких її естерів ТФК, М+Н 694, і < 5 % залишкового SEM. Залишок розчиняли в метанолі (36 мл) і

додавали 15,0 М гідроксиду амонію у воді (9,0 мл, 130 ммоль). Розчин перемішували за 21 °С протягом 18 годин. Аналізи ВЕРХ і РХ-МС показали відсутність залишкового М+Н 598 піка або естера ТФК. Розчин випаровували. Трифторацетат амонію видаляли шляхом додавання водного розчину бікарбонату й екстрагували продукт із використанням EtOAc. Об'єднаний екстракт EtOAc випаровували з отриманням 0,96 г продукту. Його розчиняли в 70 мл 10 % H<sub>2</sub>O/ACN, що містить 1,5 еквівалента ТФК (180 мкл). Продукт виділяли шляхом препаративної РХ-МС з використанням приладу Waters Fraction-Linx і колонки Sunfire C18 30 мм × 100 мм; швидкість потоку 60 мл/хв; 15 % ACN-H<sub>2</sub>O (0,1 % ТФК) 0,5 хв; 4,5 хв градієнт до 33 %; детектор налаштовано на m/z 568; 14 прогонів; час утримування 5,0 хв. За результатами ВЕРХ УФ<sub>макс</sub> становив 224, 252, 294 і 318 нм. Об'єднані фракції ліофілізували. Вихід 1,0 г білої твердої речовини (вихід 80 %). За результатами ЯМР — це 2,5 ТФК сіль. <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, CD<sub>3</sub>CN; також COSY, HSQC і HMBC): δ 10,84 (с, 1H, NH); 9,00 (с, 1H); 8,90 (с, 1H); 8,56 (с, 1H); 7,66 (м, 1H); 7,10 (м, 1H); 6,86 (с, 1H); 5,39 (м, 1H, OCH); 4,86 (ушир. с, 2H, NCH); 4,66 (м, 2H, NCH); 3,90 (т, 2H, OCH<sub>2</sub>); 3,78 (с, 2H, CH<sub>2</sub>CN); 3,39 (м, 1H, NCH); 2,92 (т, 2H, CH<sub>2</sub>); 2,20 (м, 2H); 1,92 (м, 2H); 1,76 (м, 4H). <sup>19</sup>F ЯМР (400 МГц, ДМСО-D<sub>6</sub>): δ -69,8 (с); -74,8 (с, ТФК); РХ-МС розраховано для C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>F<sub>3</sub>N<sub>9</sub>O<sub>2</sub> (М+Н)<sup>+</sup>: m/z=568,24

Приклад 17. {1-(цис-4-{[4-[(Етиламіно)метил]-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил трис(трифторацетат)



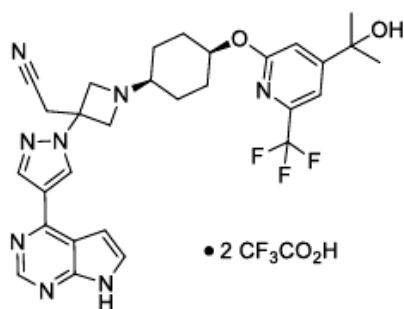
Стадія 1. [2-[(цис-4-{3-(Ціанометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}циклогексил)окси]-6-(трифторметил)піридин-4-іл]метил метансульфонат

{1-(цис-4-{[4-(Гідроксиметил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил (описаний у прикладі 64 у US 2013/0045963, 145,0 мг, 0,2124 ммоль) розчиняли в метиленхлориді (2,93 мл) і охолоджували до 0 °С. До цього розчину додавали N,N-діізопропілетиламін (60,5 мкл, 0,347 ммоль) з наступним додаванням метансульфонілхлориду (23 мкл, 0,30 ммоль). Реакційну суміш перемішували за 0 °С протягом 1 години. Потім реакційну суміш обробляли EtOAc і використовували в наступній реакції. МС (ЕР): 761(М+1).

Стадія 2. {1-(цис-4-{[4-[(Етиламіно)метил]-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил трис(трифторацетат)

[2-[(цис-4-{3-(Ціанометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}циклогексил)окси]-6-(трифторметил)піридин-4-іл]метил метансульфонат (50 мг, 0,06571 ммоль) розчиняли в 1,4-діоксані (2,5 мл) і додавали 2,0 М етиламіну в ТГФ (300 мкл, 0,6 ммоль). Реакційну суміш перемішували за 25 °С протягом 16 годин. У цей момент часу аналіз РХ-МС продемонстрував присутність переважно продукту. Продукт очищали за допомогою РХ, випаровували й знімали захист, як описано в прикладі 1 у US 2013/0045963, і очищали за допомогою РХ з отриманням продукту. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD) δ 9,08 (с, 1H), 8,87 (с, 1H), 8,58 (с, 1H), 7,78 (д, 1H), 7,50 (с, 1H), 7,25 (д, 1H), 7,13 (с, 1H), 5,38 (м, 1H), 5,08 (д, 2H), 4,80 (д, 2H), 4,27 (с, 2H), 3,74 (с, 2H), 3,50 (м, 1H), 3,16 (к, 2H), 2,24 (м, 2H), 2,01 (м, 2H), 1,76 (м, 4H), 1,34 (т, 3H). <sup>19</sup>F ЯМР (376 МГц, CD<sub>3</sub>OD) δ -70,52 (с), -77,49 (с). МС (ЕР): 580(М+1).

Приклад 18. {1-(цис-4-{[4-(1-Гідрокси-1-метилетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил біс(трифторацетат)



Стадія 1. 2-Хлор-6-(трифторметил)ізонікотинова кислота

2-Хлор-6-(трифторметил)піридин (1,0 г, 5,51 ммоль, Oakwood Products) розчиняли в тетрагідрофурані (20 мл) і за 25 °С додавали 1,0 М хлориду літію і хлор(2,2,6,6-тетраметилпіперидин-1-іл)магній (1:1) у ТГФ (6,610 мл, 6,610 ммоль, Aldrich Co.). Реакційну суміш перемішували за 25 °С протягом 1 години й охолоджували до -78 °С. Реакційну суміш перемішували за -78 °С протягом 1 години й залишали нагріватися до кімнатної температури, гасили водою й розділяли між 1 н. NaOH і етером. Розділяли фази, і водну фазу промивали додатковим етером, підкислювали концентрованою HCl до pH ~ 1 і екстрагували етером. Об'єднану органічну фазу промивали водою, насиченим розчином NaCl, сушили над MgSO<sub>4</sub>, фільтрували й випаровували до сухості з отриманням неочищеного продукту. Аналіз ЯМР продемонстрував, що цей продукт складався з суміші пара- і мета- карбонових кислот у співвідношенні ~ 2:1. Суміш переносили до наступної реакції. 440 МГц ЯМР(CDCl<sub>3</sub>) δ 8,17 (с, 1H), 8,11 (с, 1H).

Стадія 2. Етил 2-хлор-6-(трифторметил)ізонікотинат і етил 2-хлор-6-(трифторметил)нікотинат

2-хлор-6-(трифторметил)нікотинову кислоту (0,98 г, 4,4 ммоль) і 2-хлор-6-(трифторметил)ізонікотинову кислоту (1,85 г, 8,2 ммоль) розчиняли у флаконі в етилортоформіаті (5,0 мл, 30,1 ммоль) і нагрівали за 120 °С протягом 5 годин. У цей момент часу аналіз ТШХ продемонстрував, що була витрачена більша частина вихідного матеріалу, і утворилися продукти. Реакційну суміш випаровували у вакуумі, і залишок очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем із використанням 10 % EtOAc/гексани з отриманням двох продуктів етилового естеру. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,14 (с, 1H), 8,08 (с, 1H), 4,47 (к, 2H), 1,44 (т, 3H).

Стадія 3. 2-[2-Хлор-6-(трифторметил)піридин-4-іл]пропан-2-ол

Етил 2-хлор-6-(трифторметил)ізонікотинат (0,35 г, 1,4 ммоль) розчиняли в тетрагідрофурані (13,8 мл) і охолоджували до -78 °С, після чого додавали 3,0 М броміду метилмагнію в етері (1,4 мл, 4,1 ммоль). Реакційну суміш перемішували за -78 °С протягом 3 годин. У цей момент часу аналіз РХ-МС продемонстрував відсутність вихідного матеріалу. Реакційну суміш гасили насиченим NH<sub>4</sub>Cl і розділяли між водою/1 н HCl і EtOAc. Розділяли фази, і водну фазу промивали додатковим EtOAc. Об'єднану органічну фазу промивали водою, насиченим розчином NaCl, сушили над MgSO<sub>4</sub>, фільтрували й випаровували до сухості з отриманням неочищеного продукту. Аналіз ЯМР продемонстрував, що цей продукт складався з суміші спирту й проміжної речовини метилкетону в співвідношенні ~ 1:1. Неочищений матеріал використовували в наступній реакції без очищення. ЯМР 400 МГц ЯМР(CDCl<sub>3</sub>): δ 7,70 (с, 1H), 7,63 (с, 1H), 1,60 (с, 6H).

Стадія 4. 2-[2-(1,4-Діоксаспіро[4.5]дец-8-ілокси)-6-(трифторметил)піридин-4-іл]пропан-2-ол

1,4-Діоксаспіро[4.5]декан-8-ол (0,25 г, 1,58 ммоль) і 2-[2-хлор-6-(трифторметил)піридин-4-іл]пропан-2-ол (0,2 г, 0,835 ммоль) розчиняли в тетрагідрофурані (2 мл) і охолоджували до 0 °С, додавали 60 % суміш гідриду натрію (70,0 мг, 1,75 ммоль) у мінеральному маслі, і реакційну суміш перемішували за 0 °С протягом 30 хвилин і за 25 °С протягом 60 годин. У цей момент часу аналіз ТШХ продемонстрував присутність деякої кількості продукту. Реакційну суміш гасили водою, екстрагували етилацетатом, і органічні екстракти промивали водою, насиченим NaCl, сушили (MgSO<sub>4</sub>) і випаровували у вакуумі. Залишок очищали за допомогою РХ (pH 2) з отриманням продукту. МС (ЕР): 362 (M+1).

Стадія 5. 4-{{[4-(1-Гідрокси-1-метилетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексанон

2-[2-(1,4-Діоксаспіро[4.5]дец-8-ілокси)-6-(трифторметил)піридин-4-іл]пропан-2-ол (0,049 г, 0,14 ммоль) розчиняли в ацетоні (3,7 мл). Додавали розчин 12,0 М хлористого водню у воді (0,43 мл, 5,2 ммоль) і перемішували за 25 °С протягом 16 годин. У цей момент часу аналіз РХ-МС продемонстрував приблизно 70 % завершення реакції. Додавали додатковий розчин 12,0 М хлористого водню у воді (0,43 мл, 5,2 ммоль) і перемішували протягом 3 годин; Аналіз РХ-МС

продемонстрував ~ 90 % завершення реакції, і реакційну суміш гасили в надлишку  $\text{NaHCO}_3$ , екстрагували  $\text{EtOAc}$  і випаровували органічні екстракти з отриманням продукту. Цей продукт використовували в наступній реакції без очищення. МС (ЕР): 318 (M+1).

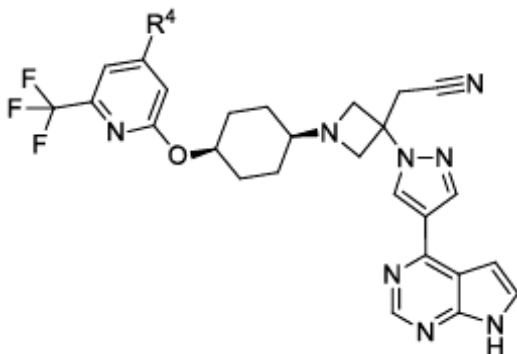
Стадія 5. {1-(цис-4-{[4-(1-Гідрокси-1-метилетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил

{3-[4-(7-{[2-(Триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил дигідрохлорид (55,3 мг, 0,115 ммоль) і 4-{[4-(1-гідрокси-1-метилетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексанон розчиняли в сухому 1,2-дихлоретані (1,38 мл), перемішували протягом 5 хв і додавали триацетоксиборгідрид натрію (86,1 мг, 0,406 ммоль). Реакційну суміш перемішували за 25 °С протягом 16 год. У цей момент часу аналіз РХ-МС продемонстрував присутність переважно двох діастереомерних продуктів. Реакційну суміш гасили водою, нейтралізували  $\text{NaHCO}_3$ , екстрагували етилацетатом, і випаровували розчинник. Залишок очищали за допомогою РХ-МС (рН 10), і фракції, що містили другий пік, об'єднували й випаровували з отриманням {1-(цис-4-{[4-(1-гідрокси-1-метилетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу. Також виділяли перший пік з отриманням {1-(транс-4-{[4-(1-гідрокси-1-метилетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу. МС(ЕР): 712 (M+1).

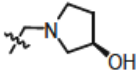
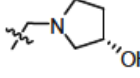
Стадія 6. {1-(цис-4-{[4-(1-Гідрокси-1-метилетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-25-іл}ацетонітрил біс(трифторацетат)

Знімали захист з {1-(цис-4-{[4-(1-гідрокси-1-метилетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу так, як описано в прикладі 1 у US 2013/0045963 і очищали за допомогою рідинної хроматографії (рН 2) з отриманням 1-(цис-4-{[4-(1-гідрокси-1-метилетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил біс(трифторацетату). Аналогічно отримували й характеризували {1-(транс-4-{[4-(1-гідрокси-1-метилетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил біс(трифторацетат).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  9,07 (с, 1Н), 8,87 (с, 1Н), 8,59 (с, 1Н), 7,78 (д, J=3,7 Гц, 1Н), 7,44 (с, 1Н), 7,24 (д, J=3,7 Гц, 1Н), 7,05 (с, 1Н), 5,35 (с, 1Н), 5,09 (д, J=12,2 Гц, 2Н), 4,82 (д, J=12,2 Гц, 2Н), 3,72 (с, 2Н), 3,5 (м, 1Н), 2,27 (м, 2Н), 2,0 (м, 2Н), 1,74 (м, 4Н), 1,50 (с, 6Н). МС(ЕР): 581 (M+1).

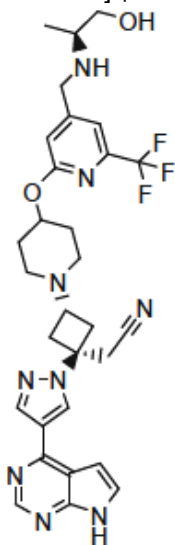
Продукти з прикладів 19 і 20, наведених нижче, отримували згідно з процедурою, описаною в прикладі 17.





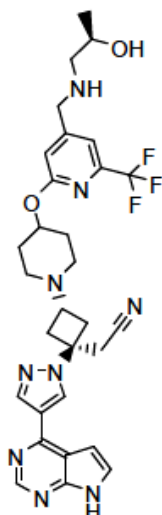
Приклад №	R4	МС (М+Н) <sup>+</sup>	Назва
19		622	{1-( <i>цис</i> -4-{[4-{[(3R)-3-гідроксипіролідин-1-іл]метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил пентакіс(трифторацетат)
20		622	{1-( <i>цис</i> -4-{[4-{[(3S)-3-гідроксипіролідин-1-іл]метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил трис(трифторацетат)

Приклад 21. {транс-3-(4-{[4-{[(1S)-2-Гідрокси-1-метилетил]аміно}метил]-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил



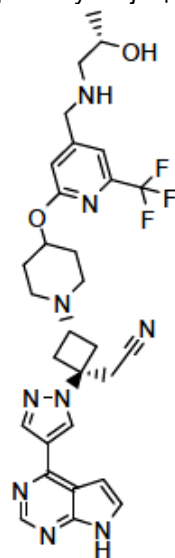
До розчину {транс-3-(4-{[4-(гідроксиметил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрилу (10,0 мг, 0,018 ммоль, піка 1 проміжної сполуки, описаної в US 2014/0005166, прикладі A2, стадія F) у метиленхлориді (0,30 мл) додавали N,N-діізопропілетиламін (9,4 мкл, 0,054 ммоль) і метансульфоновий ангідрид (7,9 мг, 0,045 ммоль), і перемішували протягом 30 хвилин з утворенням мезилату. Розчинник видаляли у вакуумі, залишок повторно розчиняли в суміші тетрагідрофурану (0,30 мл) і метанолу (0,10 мл), і додавали (2S)-2-амінопропан-1-ол (20 мкл, 0,27 ммоль, Acros). Реакційну суміш перемішували за 40 °С протягом ночі. Розчинник видаляли у вакуумі, і з неочищеного продукту знімали захист шляхом перемішування з ТФК: ДХМ 1:1 протягом однієї години, потім концентрували й перемішували з етилендіаміном (0,10 мл) у метанолі (1,0 мл) до завершення зняття захисту за результатами визначання за допомогою РХ-МС. Продукт очищали з використанням препаративної ВЕРХ-МС (колонка С18, елюювання градієнтом MeCN/H<sub>2</sub>O, що містить 0,15 % NH<sub>4</sub>OH). Елюент заморожували й ліофілізували з отриманням продукту у вигляді вільної основи (6,0 мг, 54 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD) δ 8,74 (с, 1H), 8,67 (с, 1H), 8,40 (с, 1H), 7,51 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,37 (с, 1H), 7,00–6,97 (м, 2H), 5,23–5,00 (м, 1H), 3,90 (д, J=14,8 Гц, 1H), 3,81 (д, J=14,8 Гц, 1H), 3,50 (дд, J=10,9, 4,9 Гц, 1H), 3,41 (дд, J=10,9, 6,9 Гц, 1H), 3,31 (с, 2H), 3,16–3,05 (м, 2H), 2,95 (д, J=7,5 Гц, 1H), 2,83–2,63 (м, 3H), 2,56–2,42 (м, 2H), 2,39–2,23 (м, 2H), 2,19–2,04 (м, 2H), 1,93–1,75 (м, 2H), 1,05 (д, J=6,4 Гц, 3H). <sup>19</sup>F ЯМР (376 МГц, CD<sub>3</sub>OD) δ -70,30 (с). РХ-МС (М+Н)<sup>+</sup>: 610,3.

Приклад 22. {транс-3-(4-{[4-{[(2R)-2-Гідроксипропіл]аміно}метил]-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил



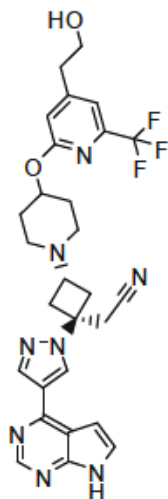
Дотримувалися процедури, описаної в прикладі 9 у US 2014/0005166, з використанням (2R)-1-амінопропан-2-олу (12 мкл, 0,15 ммоль, Aldrich) на стадії заміщення, яку проводили за 50 °C протягом 2 годин. Продукт отримували у вигляді вільної основи (8,7 мг, 46 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, d<sub>6</sub>-ДМСО) δ 12,13 (с, 1H), 8,83 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,42 (с, 1H), 7,60 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,42 (с, 1H), 7,08 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,04 (с, 1H), 5,11–4,90 (м, 1H), 4,49 (д, J=4,4 Гц, 1H), 3,76 (с, 2H), 3,67 (дд, J=10,3, 5,6 Гц, 1H), 3,42 (с, 2H), 3,11–2,96 (м, 2H), 2,81 (д, J=7,5 Гц, 1H), 2,74–2,56 (м, 2H), 2,46–2,25 (м, 4H), 2,24–2,09 (м, 2H), 2,09–1,90 (м, 2H), 1,81–1,51 (м, 2H), 1,03 (д, J=6,2 Гц, 3H). <sup>19</sup>F ЯМР (376 МГц, d<sub>6</sub>-ДМСО) δ -67,29 (с). РХ-МС (M+H)<sup>+</sup>: 610,3.

Приклад 23. {транс-3-(4-{[4-({[(2S)-2-Гідроксипропіл]аміно}метил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил



Дотримувалися процедури, описаної в прикладі 9 у US 2014/0005166, з використанням (2S)-1-амінопропан-2-олу (12 мкл, 0,15 ммоль, Aldrich) на стадії заміщення, яку проводили за 50 °C протягом 2 годин (7,9 мг, 42 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, d<sub>6</sub>-ДМСО) δ 12,13 (с, 1H), 8,83 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,42 (с, 1H), 7,60 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,42 (с, 1H), 7,08 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,04 (с, 1H), 5,27–4,71 (м, 1H), 4,49 (д, J=4,4 Гц, 1H), 3,76 (с, 2H), 3,72–3,62 (м, 1H), 3,42 (с, 2H), 3,09–2,96 (м, 2H), 2,81 (д, J=7,4 Гц, 1H), 2,72–2,55 (м, 2H), 2,43–2,25 (м, 4H), 2,25–2,08 (м, 2H), 2,08–1,96 (м, 2H), 1,78–1,57 (м, 2H), 1,03 (д, J=6,2 Гц, 3H). <sup>19</sup>F ЯМР (376 МГц, d<sub>6</sub>-ДМСО) δ -67,29 (с). РХ-МС (M+H)<sup>+</sup>: 610,3.

Приклад 24. {транс-3-(4-{[4-(2-Гідроксіетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил



Знімали захист із {транс-3-(4-{[4-(2-гідроксіетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7-{[2-(триметилсиліл)етокси]метил}-7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрилу (9,0 мг, 0,013 ммоль, піка 2 проміжної сполуки, описаної в US 2014/0005166, приклад А4, стадія 3) і очищали шляхом перемішування в суміші метиленхлориду (0,50 мл) і трифтороцтової кислоти (0,50 мл) протягом однієї години. Розчинники видаляли у вакуумі, і залишок перемішували в метанолі (0,1 мл), що містить етилендіамін (0,1 мл). Очищення шляхом препаративної ВЕРХ-МС (колонка С18, елювання градієнтом MeCN/H<sub>2</sub>O, що містить 0,15 % NH<sub>4</sub>OH) дозволяло отримати продукт у вигляді вільної основи (5,8 мг, 79 %). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, d<sub>6</sub>-ДМСО) δ 12,12 (с, 1H), 8,83 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,42 (с, 1H), 7,60 (д, J=3,6 Гц, 1H), 7,34 (с, 1H), 7,08 (д, J=3,6 Гц, 1H), 6,95 (с, 1H), 4,99 (дд, J=8,2, 4,1 Гц, 1H), 4,73 (д, J=4,9 Гц, 1H), 3,66 (к, J=5,9 Гц, 2H), 3,42 (с, 2H), 3,11–2,95 (м, 2H), 2,90–2,71 (м, 3H), 2,71–2,56 (м, 2H), 2,44–2,30 (м, 2H), 2,15 (д, J=9,2 Гц, 2H), 2,09–1,82 (м, 2H), 1,83–1,58 (м, 2H). <sup>19</sup>F ЯМР (282 МГц, d<sub>6</sub>-ДМСО) δ -67,26 (с). РХ-МС (М+Н)<sup>+</sup>: 567,2.

#### Приклад А. Аналіз активності кінази JAK in vitro

Представлені в цьому документі сполуки досліджували щодо інгібуючої активності мішеней JAK згідно з наступним аналізом in vitro, описаним в Park et al., Analytical Biochemistry 1999, 269, 94–104. Каталітичні домени JAK1 людини (амінокислоти 837–1142), JAK2 (амінокислоти 828–1132) і JAK3 (амінокислоти 781–1124) із N-кінцевою His-міткою експресували з використанням бакуловірусу в клітинах комах і очищали. Каталітичну активність JAK1, JAK2 або JAK3 аналізували шляхом вимірювання фосфорилування біотинільованого пептиду. Фосфорильований пептид виявляли за допомогою гомогенної флуоресценції з часовим розподілом (HTRF). IC<sub>50</sub> сполук вимірювали для кожної кінази в реакційних сумішах об'ємом 40 мкл, що містили фермент, АТФ і 500 нМ пептиду в 50 мМ трис-буфера (pH 7,8) із 100 мМ NaCl, 5 мМ дитіотреїтолу (ДТТ) і 0,1 мг/мл (0,01 %) бичачого сироваткового альбуміну (BSA). Для вимірювань IC<sub>50</sub> 1 мМ концентрація АТФ у реакційній суміші становила 1 мМ. Реакції проводили за кімнатної температури протягом 1 години, а потім зупиняли шляхом додавання 20 мкл 45 мМ етилендіамінтетраоцтової кислоти (EDTA), 300 нМ стрептавідину, зв'язаного з аллофікоціаніном (SA-APC), 6 нМ міченого європейським антитілом до фосфотирозину (Eu-Py20) у буфері для аналізу (Perkin Elmer, м. Бостон, штат Массачусетс, США). Зв'язування з міченим європейським антитілом відбувалося протягом 40 хвилин, і сигнал HTRF вимірювали на спектрофотометрі для зчитування планшетів Fusion (Perkin Elmer, м. Бостон, штат Массачусетс, США). Дані для описаних у прикладах сполук, визначені в дослідженні з використанням аналізу з прикладу А за присутності 1 мМ АТФ, наведені в таблиці 2.

#### Приклад В. Клітинні аналізи

Лінії ракових клітин, ріст яких залежить від цитокінів і, отже, від передачі сигналу JAK/STAT, висівали по 6000 клітин на ямку (у форматі 96-ямкового планшета) в середовище RPMI 1640, 10 % фетальної бичачої сироватки (FBS) і 1 нг/мл відповідного цитокіну. Сполуки додавали до клітин в диметилсульфоксиді (ДМСО)/середовищах (кінцева концентрація 0,2 % ДМСО) і інкубували протягом 72 годин за 37 °С, 5 % CO<sub>2</sub>. Вплив сполуки на життєздатність клітин оцінювали з використанням люмінесцентного аналізу життєздатності клітин CellTiter-Glo (Promega) з подальшим кількісним визначенням TopCount (Perkin Elmer, м. Бостон, штат Массачусетс, США). Можливі ефекти сполук "поза межами мішені" паралельно вимірювали з використанням лінії клітин, не керованої JAK, з тими ж результатами аналізу. Всі експерименти зазвичай виконували двічі.

Вищезгадані лінії клітин також можуть бути використані для вивчення впливів сполук на фосфорилування кіназ JAK або можливих нижчих субстратів, таких як білки STAT, Akt, Shp2 або Erk. Ці експерименти можуть бути виконані після вирощування цитокінів в мінімальному середовищі протягом ночі з наступною короткочасною попередньою інкубацією спільно зі сполукою (2 години або менше) і стимуляцією цитокінів протягом приблизно 1 години або менше. Потім білки екстрагують із клітин і аналізують за допомогою методик, відомих фахівцям у цій галузі, включаючи вестерн-блот або імуноферментні аналізи (ELISA), з використанням антитіл, які можуть розрізняти фосфорильований і загальний білок. У цих експериментах для дослідження активності сполук щодо біологічної природи виживання пухлинних клітин або медіаторів запального захворювання можуть бути використані нормальні або ракові клітини. Наприклад щодо останніх, такі цитокіни, як IL-6, IL-12, IL-23 або IFN, можуть бути використані для стимуляції активації JAK, що призводить до фосфорилування білка (-ів) STAT і, можливо, до транскрипційних профілів (визначених за допомогою технології матричної або кількісної ПЛР) або отримання й/або секреції білків, таких як IL-17. Здатність сполук інгібувати ці опосередковані цитокінами ефекти може бути виміряна з використанням методик, відомих фахівцям у цій галузі.

Описані в цьому документі сполуки також можна досліджувати в клітинних моделях, створених для оцінки їхньої сили й активності щодо мутантних JAK, наприклад мутації JAK2V617F, виявленої при мієлоїдних проліферативних порушеннях. У цих експериментах часто використовують цитокінзалежні клітини гематологічної лінії (наприклад, BaF/3), в яких 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 види впливу сполук на виживання, проліферацію клітин і фосфорильовані білки JAK, STAT, Akt або Erk.

Можна оцінювати деякі описані в цьому документі сполуки на активність інгібування проліферації Т-клітин. Такий аналіз можна вважати другим аналізом керованої цитокінами (тобто JAK) проліферації, а також спрощеним аналізом імуносупресії або інгібування імунної активації. Далі наведено короткий опис того, як можуть бути здійснені зазначені експерименти. Мононуклеарні клітини периферичної крові (МКПК) отримують зі зразків цільної крові людини за допомогою способу розділення з використанням фікол-гіпаку, а Т-клітини (фракція 2000) можна отримати з МКПК шляхом елютрації. Свіжовиділені Т-клітини людини можна зберігати в культуральному середовищі (RPMI 1640 з додаванням 10 % фетальної бичачої сироватки, 100 Од/мл пеніциліну, 100 мкг/мл стрептоміцину) зі щільністю  $2 \times 10^6$  клітин/мл за 37 °C до 2 діб. Для аналізу стимульованої IL-2 клітинної проліферації Т-клітини спочатку обробляють фітогемагглютиніном (PHA) у кінцевій концентрації 10 мкг/мл протягом 72 годин. Після одноразового промивання фосфатним буферним розчином (PBS) клітини висівають у 96-ямкові планшети зі щільністю 6000 клітин/лунка й обробляють сполуками в різних концентраціях в культуральному середовищі за присутності 100 Од/мл IL-2 людини (ProSpec-Tany TechnoGene; Rehovot, Israel). Планшети інкубують за 37 °C протягом 72 год., і визначають індекс проліферації з використанням люмінесцентних реагентів CellTiter-Glo відповідно до запропонованого виробником протоколу (Promega; Madison, WI).

#### Аналіз С. Модель трансгенних мишей S100A9

Раніше було продемонстровано, що у трансгенних мишей лінії S100A9 спостерігається накопичення в кістковому мозку супресорних клітин мієлоїдного походження (MDSC), що супроводжується розвитком прогресивних мультилінійних цитопеній і цитологічною дисплазією, схожою з МДС. Крім того, раннє примусове дозрівання MDSC за рахунок обробки повністю-транс-ретиноєвою кислотою або переривання передачі сигналів CD33 білком-адаптером (DAP12), що несе мотив активації імунних рецепторів на основі тирозину (ITAM), звільняє від гематологічного фенотипу й полегшує захворювання. Ця система може бути корисною для дослідження впливу інгібування JAK1 на МДС-подібне захворювання в доклінічній моделі. *J. Clin. Invest.*, 123 (11): 4595–4611 (2013). Відповідно, дозу селективного інгібітора JAK1 вводять перорально через зонд. Контролюють здатність сполуки зменшувати 20 цитопенії й цитологічні дисплазії, що спостерігаються у трансгенних мишей лінії S100A9.

Всі патенти, патентні заявки, журнальні статті й книги в повному обсязі включені в цей документ шляхом посилання.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Спосіб лікування мієлодиспластичного синдрому в пацієнта, який цього потребує, який  
5 включає введення вказаному пацієнтові терапевтично ефективної кількості селективного інгібітора JAK1 або його фармацевтично прийнятної солі, де селективний інгібітор JAK1 вибраний з:  
3-[1-(6-хлорпіридин-2-іл)піролідін-3-іл]-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрилу;  
10 3-(1-[1,3]оксазол[5,4-b]піридин-2-іл)піролідін-3-іл)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропаннітрилу;  
4-[(4-{3-ціано-2-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]пропіл}піперазин-1-іл)карбоніл]-3-фторбензонітрилу;  
4-[(4-{3-ціано-2-[3-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-пірол-1-іл]пропіл}піперазин-1-іл)карбоніл]-  
15 3-фторбензонітрилу;  
{1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)ізонікотиноіл]піперидин-4-іл}-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу;  
4-{3-(ціанометил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-[4-фтор-2-(трифторметил)феніл]піперидин-1-карбоксаміду;  
20 [3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]-1-(1-{2-(трифторметил)піримідин-4-іл}карбоніл)піперидин-4-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу;  
[транс-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]-3-(4-{2-(трифторметил)піримідин-4-іл}карбоніл)піперазин-1-іл]циклобутил}ацетонітрилу;  
{транс-3-(4-{[4-{(3-гідроксіазетидин-1-іл)метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрилу;  
25 {транс-3-(4-{[4-{(2R)-2-(гідроксиметил)піролідін-1-іл]метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрилу;  
{транс-3-(4-{[4-{(2R)-2-(гідроксиметил)піролідін-1-іл]метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрилу;  
30 {транс-3-(4-{[4-{(2R)-2-(гідроксиметил)піролідін-1-іл]метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрилу;  
4-(4-{3-[(диметиламіно)метил]-5-фторфеноксипіперидин-1-іл}-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]бутанонітрилу;  
5-{3-(ціанометил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-ізопропілпіразин-2-карбоксаміду;  
35 4-{3-(ціанометил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилетил]бензаміду;  
5-{3-(ціанометил)-3-[4-(1Н-піроло[2,3-d]піридин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-N-ізопропілпіразин-2-карбоксаміду;  
40 {1-(цис-4-{[6-(2-гідроксіетил)-2-(трифторметил)піримідин-4-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу;  
{1-(цис-4-{[4-{(етиламіно)метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу;  
{1-(цис-4-{[4-(1-гідрокси-1-метилетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу;  
45 {1-(цис-4-{[4-{(3R)-3-гідроксипіролідін-1-іл]метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу;  
{1-(цис-4-{[4-{(3S)-3-гідроксипіролідін-1-іл]метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу;  
50 {транс-3-(4-{[4-{(1S)-2-гідрокси-1-метилетил]аміно}метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрилу;  
{транс-3-(4-{[4-{(2R)-2-гідроксипропіл]аміно}метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрилу;  
55 {транс-3-(4-{[4-{(2S)-2-гідроксипропіл]аміно}метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрилу;  
60 {1-(цис-4-{[4-{(1S)-2-гідрокси-1-метилетил]аміно}метил}-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрилу і

{транс-3-(4-{[4-(2-гідроксіетил)-6-(трифторметил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-д]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрилу або їх фармацевтично прийнятної солі.

2. Спосіб за п. 1, в якому селективний інгібітор JAK1 має більшу селективність до JAK1 порівняно з JAK2, JAK3 і TYK2.
3. Спосіб за п. 1 або 2, в якому вказаний мієлодиспластичний синдром являє собою рефрактерну цитопенію з однолінійною дисплазією (РЦОД).
4. Спосіб за п. 1 або 2, в якому вказаний мієлодиспластичний синдром являє собою рефрактерну анемію з кільцевими сидеробластами (РАКС).
5. Спосіб за п. 1 або 2, в якому вказаний мієлодиспластичний синдром являє собою рефрактерну цитопенію з мультилінійною дисплазією.
6. Спосіб за п. 1 або 2, в якому вказаний мієлодиспластичний синдром являє собою рефрактерну анемію з надлишком бластів-1 (РАНБ-1).
7. Спосіб за п. 1 або 2, в якому вказаний мієлодиспластичний синдром являє собою рефрактерну анемію з надлишком бластів-2 (РАНБ-2).
8. Спосіб за п. 1 або 2, в якому вказаний мієлодиспластичний синдром являє собою некласифікований мієлодиспластичний синдром (МДС-Н).
9. Спосіб за п. 1 або 2, в якому вказаний мієлодиспластичний синдром являє собою мієлодиспластичний синдром, пов'язаний з ізольованою делецією 5q.
10. Спосіб за п. 1 або 2, в якому вказаний мієлодиспластичний синдром є рефрактерним до агентів, що стимулюють еритропоез.
11. Спосіб за будь-яким із пп. 1-10, в якому вказаний пацієнт є залежним від переливання еритроцитарної маси.
12. Спосіб за будь-яким із пп. 1-11, який додатково включає введення додаткового терапевтичного агента, вибраного з-поміж IMiD, засобів проти IL-6, засобів проти TNF-α, гіпометилуючого агента і модулятора біологічної відповіді (BRM).
13. Спосіб за п. 12, в якому вказані засоби проти TNF-α вибирають з-поміж інфліксимабу й етанерцепту.
14. Спосіб за п. 12, в якому вказаний гіпометилуючий агент являє собою інгібітор ДНК-метилтрансферази.
15. Спосіб за п. 14, в якому вказаний інгібітор ДНК-метилтрансферази вибирають з-поміж 5-азацитидину й децитабіну.
16. Спосіб за п. 12, в якому вказаний IMiD вибирають з-поміж талідоміду, леналідоміду, помалідоміду, CC-11006 і CC-10015.
17. Спосіб за будь-яким із пп. 1-11, який додатково включає введення додаткового терапевтичного агента, вибраного з-поміж антитимоцитарного глобуліну, рекомбінантного людського гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора (G-CSF), гранулоцитарно-моноцитарного CSF (GM-CSF), агента, що стимулює еритропоез (ECA), і циклоспорину.
18. Спосіб лікування мієлодиспластичного синдрому в пацієнта, який цього потребує, який включає введення вказаному пацієнтові терапевтично ефективної кількості селективного інгібітора JAK1 або його фармацевтично прийнятної солі, де селективний інгібітор JAK1 являє собою {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)ізонікотиноіл]піперидин-4-іл}-3-[4-(7Н-піроло[2,3-(1)піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл]}ацетонітрил або його фармацевтично прийнятну сіль.
19. Спосіб за п. 18, де вказаний мієлодиспластичний синдром являє собою рефрактерну цитопенію з однолінійною дисплазією (РЦОД).
20. Спосіб за п. 18, де вказаний мієлодиспластичний синдром являє собою рефрактерну анемію з кільцевими сидеробластами (РАКС).
21. Спосіб за п. 18, де вказаний мієлодиспластичний синдром являє собою рефрактерну цитопенію з мультилінійною дисплазією.
22. Спосіб за п. 18, де вказаний мієлодиспластичний синдром являє собою рефрактерну анемію з надлишком бластів-1 (РАНБ-1).
23. Спосіб за п. 18, де вказаний мієлодиспластичний синдром являє собою рефрактерну анемію з надлишком бластів-2 (РАНБ-2).
24. Спосіб за п. 18, де вказаний мієлодиспластичний синдром являє собою некласифікований мієлодиспластичний синдром (МДС-Н).
25. Спосіб за п. 18, де вказаний мієлодиспластичний синдром являє собою мієлодиспластичний синдром, пов'язаний з ізольованою делецією 5q.
26. Спосіб за п. 18, де вказаний мієлодиспластичний синдром є рефрактерним до агентів, що стимулюють еритропоез.

27. Спосіб за будь-яким із пп. 18-26, в якому вказаний пацієнт є залежним від переливання еритроцитарної маси.
28. Спосіб за будь-яким із пп. 18-27, який додатково включає введення додаткового терапевтичного агента, вибраного з-поміж IMiD, засобів проти IL-6, засобів проти TNF- $\alpha$ , гіпометилуючого агента і модулятора біологічної відповіді (BRM).
- 5 29. Спосіб за п. 28, в якому вказані засоби проти TNF- $\alpha$  вибирають з-поміж інфліксимабу й етанерцепту.
30. Спосіб за п. 28, в якому вказаний гіпометилуючий засіб являє собою інгібітор ДНК-метилтрансферази.
- 10 31. Спосіб за п. 30, в якому вказаний інгібітор ДНК-метилтрансферази вибирають з-поміж 5-азацитидину й децитабіну.
32. Спосіб за п. 28, в якому вказаний IMiD вибирають з-поміж талідоміду, леналідоміду, помалідоміду, CC-11006 і CC-10015.
- 15 33. Спосіб за будь-яким із пп. 18-27, який додатково включає введення додаткового терапевтичного агента, вибраного з-поміж антитимоцитарного глобуліну, рекомбінантного людського гранулоцитарного колонієстимулюючого фактора (G-CSF), гранулоцитарно-моноцитарного CSF (GM-CSF), агента, що стимулює еритропоез (ECA), і циклоспорину.

---

Комп'ютерна верстка С. Чулій

---

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