



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **122332** (13) **C2**  
(51) МПК (2020.01)  
**C07D 487/04** (2006.01)  
**A61K 31/519** (2006.01)  
A61P 35/00

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО  
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ"

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

<p>(21) Номер заявки: <b>а 2017 09412</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>26.02.2016</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: <b>27.10.2020</b></p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>62/121,697</b></p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>27.02.2015</b></p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: <b>US</b></p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: <b>11.12.2017, Бюл.№ 23</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: <b>26.10.2020, Бюл.№ 20</b></p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: <b>PCT/US2016/019741, 26.02.2016</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Цяо Лей (US), Вен Лінкай (US), Ши Чуншен Ерік (US), Мелоні Девід (US), Лін Циянь (US), Ся Майкл (US), Шариф Вакар (US), Фритце Вільям (US), Цзя Чжунцзян (US), Пань Юнчунь (US), Лю Пінлі (US), Юе Тай-Юйень (US), Чжоу Цзячен (US)</b></p> <p>(73) Володілець (володільці): <b>ІНСАЙТ КОРПОРЕЙШН, 1801 Augustine Cut-Off, Wilmington, Delaware 19803, United States of America (US)</b></p> <p>(74) Представник: <b>Бочаров Максим Анатолійович, реєстр. №367</b></p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: <b>US 2014/249132 A1</b></p>
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

**(54) СОЛІ ІНГІБІТОРА РІЗК І СПОСОБИ ЇХ ОТРИМАННЯ**

**(57) Реферат:**

У цій заявці запропоновані способи отримання (R)-4-(3-((S)-1-(4-аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідин-2-ону, який придатний як інгібітор фосфоінозитид-3-кінази-дельта (РІЗКδ), а також солі і проміжних сполук, пов'язаних з ним.

**UA 122332 C2**



СОЛІ ІНГІБІТОРА PI3K І СПОСОБИ ЇХ ОТРИМАННЯ<sub>у</sub>

Дана заявка просить пріоритет за попередньою заявкою на патент США № 62/121697, поданою 27 лютого 2015 р., яка включена до цього документу в повному обсязі шляхом посилання.

## 5 ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ

У цій заявці запропоновано спосіб отримання (R)-4-(3-((S)-1-(4-аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідин-2-ону, який придатний як інгібітор фосфоінозитид-3-кінази-дельта (PI3Kδ), а також солі і проміжних сполук, пов'язаних з ним.

## 10 РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Фосфоінозитид-3-кінази (PI3K) належать до великої родини ліпідних сигнальних кіназ, які фосфорилують фосфоінозитиди у положенні D3 інозитольного кільця (Cantley, Science, 2002, 296(5573):1655-7). PI3K поділяють на три класи (клас I, II і III) відповідно до їх структури, регуляції і субстратної специфічності. Клас I PI3K, який включає PI3Kα, PI3Kβ, PI3Kγ і PI3Kδ, являє собою родину ліпідних кіназ і протеїнкіназ з подвійною специфічністю, які каталізують фосфорилування фосфатидилінозит-4,5-біфосфату (PIP<sub>2</sub>), даючи фосфатидилінозит-3,4,5-трифосфат (PIP<sub>3</sub>). PIP<sub>3</sub> функціонує як вторинний посередник, що регулює ряд клітинних процесів, включаючи ріст, виживання, адгезію і міграцію. Усі чотири ізоформи класу I PI3K існують у вигляді гетеродимерів, які складаються з каталітичної субодиниці (p110) і жорстко зв'язаної регуляторної субодиниці, яка регулює їх експресію, активацію і внутрішньоклітинне розташування. PI3Kα, PI3Kβ і PI3Kδ зв'язані з регуляторною субодиницею, відомою як p85, і активуються факторами росту і цитокінами шляхом механізму, що залежить від тирозинкіназ (Jimenez, et al., J Biol Chem., 2002, 277(44):41556-62), тоді як PI3Kγ зв'язана з двома регуляторними субодиницями (p101 і p84), і її активація запускається активацією рецепторів, спряжених з G-білком (Brock, et al., J Cell Biol., 2003, 160(1):89-99). PI3Kα і PI3Kβ експресуються всюди. На відміну від цього PI3Kγ і PI3Kδ експресуються переважно у лейкоцитах (Vanhaesebroeck, et al., Trends Biochem Sci., 2005, 30(4):194-204).

Різний розподіл ізоформ PI3K у тканинах призводить до їх різних біологічних функцій. Генетична відсутність як PI3Kα, так і PI3Kβ призводить до загибелі ембріону, вказуючи на те, що PI3Kα і PI3Kβ мають суттєво важливі і ненадлишкові функції, щонайменше протягом розвитку (Vanhaesebroeck, et al., 2005). На відміну від цього миші, у яких відсутні PI3Kγ і PI3Kδ, життєздатні, здатні до розмноження і мають нормальну тривалість життя, хоча у них змінена імунна система. Дефіцит PI3Kγ призводить до порушень рекрутингу макрофагів і нейтрофілів до ділянок запалення, а також до порушень активації Т-клітин (Sasaki, et al., Science, 2000, 287(5455):1040-6). Миші з мутантною PI3Kδ мають специфічні порушення сигнальної системи В-клітин, які призводять до порушень розвитку В-клітин і ослаблення відповідей антитіл після антигенної стимуляції (Clayton, et al., J Exp Med. 2002, 196(6):753-63; Jou, et al., Mol Cell Biol. 2002, 22(24):8580-91; Okkenhaug, et al., Science, 2002, 297(5583):1031-4).

Фенотипи мишей з мутантними PI3Kγ і PI3Kδ свідчать, що ці ферменти можуть відігравати роль у запаленні і інших захворюваннях, зв'язаних з імунною системою, і це підтверджується у доклінічних моделях. Миші з мутантною PI3Kγ значною мірою захищені від захворювання у мишачих моделях ревматоїдного артриту (РА) і астми (Camps, et al., Nat Med. 2005, 11(9):936-43; Thomas, et al., Eur. J. Immunol. 2005, 35(4):1283-91). Додатково було показано, що лікування мишей дикого типу селективним інгібітором PI3Kγ ослаблює гломерулонефрит, і покращує виживаність у моделі системного червоного вовчаку (СЧВ) на мишах MRL-lpr, і пригнічує запалення і пошкодження суглобів у моделях РА (Barber, et al., Nat Med. 2005, 11(9):933-5; Camps, et al., 2005). Аналогічно, показано, що як у мишей з мутантною PI3Kδ, так і у мишей дикого типу, яких лікували селективним інгібітором PI3Kδ, спостерігається ослаблене алергічне запалення дихальних шляхів і гіперреактивність на мишачій моделі астми (Ali, et al., Nature. 2004, 431(7011):1007-11; Lee, et al., FASEB J. 2006, 20(3):455-65) і спостерігається ослаблена форма захворювання в моделі РА (Randis, et al., Eur. J. Immunol., 2008, 38(5):1215-24).

Показано, що проліферація В-клітин відіграє ключову роль у розвитку запальних аутоімунних захворювань (Puri, Frontiers in Immunology (2012), 3(256), 1-16; Walsh, Kidney International (2007) 72, 676-682). Наприклад, В-клітини підтримують аутореактивність Т-клітин, важливий компонент запальних аутоімунних захворювань. Після активації і визрівання В-клітини можуть переміщатися до ділянок запалення і рекрутувати клітини зони запалення або диференціюватися у плазмобласти. Отже, на активність В-клітин можна вплинути, діючи на цитокіни, що стимулюють В-клітини, рецептори на поверхні В-клітин, або шляхом пригнічення В-клітин. Показано, що ритуксимаб, химерне моноклональне антитіло миші/людини IgG1κ, спрямоване проти рецептора CD20 на поверхні В-клітин, пригнічує CD20+В-клітини. Показано,

що використання ритуксимабу ефективно при лікуванні ідіопатичної тромбоцитопенічної пурпури, аутоімунної гемолітичної анемії або васкуліту. Наприклад, лікування ритуксимабом викликало ремісію захворювання у пацієнтів, які страждають від асоційованого з антинеїтрофільними цитоплазматичними антитілами (АНЦА) системного васкуліту (AACB) з продемонстрованим пригніченням В-клітин у периферичній крові (Walsh, 2007; Lovric, *Nephrol Dial Transplant* (2009) 24:179–185). Аналогічно, повідомлялося про повну відповідь у від однієї третини до двох третин пацієнтів, які страждають від змішаного криоглобулінемічного васкуліту, після лікування ритуксимабом, включаючи пацієнтів, які страждають від тяжкої форми васкуліту, яка стійка до або характеризується непереносимістю інших способів лікування (Cascoub, *Ann Rheum Dis* 2008;67:283–287). Аналогічно, показано, що ритуксимаб ефективний при лікуванні пацієнтів з ідіопатичною тромбоцитопенічною пурпурою (або імунною тромбоцитопенічною пурпурою) (Garvey, *British Journal of Haematology*, (2008) 141, 149–169; Godeau, *Blood* (2008), 112(4), 999-1004; Medeo, *European Journal of Haematology*, (2008) 81, 165–169) і аутоімунною гемолітичною анемією (Garvey, *British Journal of Haematology*, (2008) 141, 149–169).

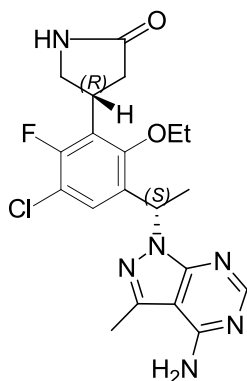
Передача сигналу за допомогою PI3Kδ зв'язана з виживаністю, міграцією і активацією В-клітин (Puri, *Frontiers in Immunology*, 2012, 3(256), 1-16, at pages 1-5; і Clayton, *J Exp Med*, 2002, 196(6):753-63). Наприклад, PI3Kδ необхідна для залежної від антигену активації В-клітин, яка запускається В-клітинним рецептором. Шляхом блокування адгезії, виживаності, активації і проліферації В-клітин, інгібування PI3Kδ може порушувати здатність В-клітин активувати Т-клітини, запобігаючи їх активації і зменшуючи секрецію аутоантитіл і прозапальних цитокінів. Отже, внаслідок їх здатності інгібувати активацію В-клітин, очікується, що інгібітори PI3Kδ будуть лікувати захворювання, опосередковані В-клітинами, які піддаються лікуванню схожими способами, такими як пригнічення В-клітин ритуксимабом. Справді, показано, що інгібітори PI3Kδ є ефективними у мишачих моделях різних аутоімунних захворювань, які також піддаються лікуванню ритуксимабом, таких як артрит (Puri (2012)). Додатково, подібні вродженим В-клітини, які зв'язані з аутоімунітетом, чутливі до активності PI3Kδ, оскільки клітини MZ і В-1 практично відсутні у мишей, у яких відсутній ген p110δ (Puri (2012)). Інгібітори PI3Kδ можуть зменшувати спрямовану міграцію і активацію клітин MZ і В-1, які втягнуті у аутоімунні захворювання.

На додаток до їх можливої ролі у запальних захворюваннях усі чотири ізоформи PI3K класу I можуть відігравати роль при раку. Ген, що кодує p110α, часто мутує при розповсюджених типах раку, включаючи рак молочної залози, передміхурової залози, товстої кишки і ендометрію (Samuels, et al., *Science*, 2004, 304(5670):554; Samuels, et al., *Curr Opin Oncol*. 2006, 18(1):77-82). Вісімдесят відсотків цих мутацій представлені однією з трьох амінокислотних замінів у спіральному або кіназному доменах ферменту і призводять до значної позитивної регуляції кіназної активності, яка спричиняє онкогенну трансформацію у клітинній культурі і на тваринних моделях (Kang, et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005, 102(3):802-7; Bader, et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006, 103(5):1475-9). Жодної з цих мутацій не було виявлено в інших ізоформах PI3K, хоча відомі факти, що вони можуть робити внесок у розвиток і прогресування злоякісних новоутворень. Відповідна надекспресія PI3Kδ спостерігається при гострому мієлобластному лейкозі (Sujobert, et al., *Blood*, 2005, 106(3):1063-6), а інгібітори PI3Kδ можуть запобігати росту лейкозних клітин (Billottet, et al., *Oncogene*. 2006, 25(50):6648-59). Підвищена надекспресія PI3Kγ спостерігається при хронічному мієлоїдному лейкозі (Hickey, et al., *J Biol. Chem*. 2006, 281(5):2441-50). Зміна експресії PI3Kβ, PI3Kγ і PI3Kδ також спостерігається при раку мозку, товстої кишки і сечового міхура (Benistant, et al., *Oncogene*, 2000, 19(44):5083-90; Mizoguchi, et al., *Brain Pathol*. 2004, 14(4):372-7; Knobbe, et al., *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2005, 31(5):486-90). Додатково показано, що усі ці ізоформи є онкогенними у клітинній культурі (Kang, et al., 2006).

Внаслідок цих причин існує необхідність у розробці нових інгібіторів PI3K, які можна використовувати при запальних розладах, аутоімунних захворюваннях і раку. Цей винахід спрямований на задоволення цієї та інших потреб.

#### СУТНІСТЬ ВИНАХОДУ

У цій заявці запропоновані способи отримання сполуки формули I:



I.

або її фармацевтично прийнятної солі, яка придатна як інгібітор PI3Kδ.

У цій заявці додатково запропонована гідрохлоридна сіль сполуки формули I.

5 У цій заявці також запропоновані фармацевтичні композиції, які містять сіль хлоридної кислоти, описану у цьому документі, і фармацевтично прийнятний носій.

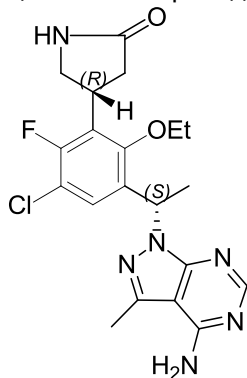
У цій заявці додатково запропоновані способи інгібування активності кінази PI3K, що включають приведення кінази у контакт з гідрохлоридною сіллю сполуки формули I.

10 У цій заявці також запропоновані способи лікування захворювання у пацієнта, причому вказане захворювання пов'язане з аномальною експресією або активністю кінази PI3K, що включають введення вказаному пацієнту терапевтично ефективної кількості гідрохлоридної солі сполуки формули I.

У цій заявці додатково запропонована гідрохлоридна сіль сполуки формули I для застосування у будь-якому зі способів, описаних у цьому документі.

15 У цій заявці додатково запропоновано застосування гідрохлоридної солі сполуки формули I для виробництва лікарського препарату для застосування у будь-якому зі способів, описаних у цьому документі.

У цій заявці також запропоновано спосіб отримання гідрохлоридної солі сполуки формули I, що включає приведення сполуки формули I:

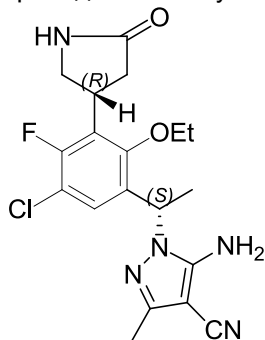


20

I

у контакт з хлоридною кислотою з отриманням вказаної солі.

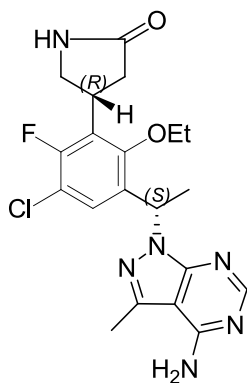
У цій заявці додатково запропоновано спосіб отримання сполуки формули I, що включає приведення сполуки формули XVI:



25

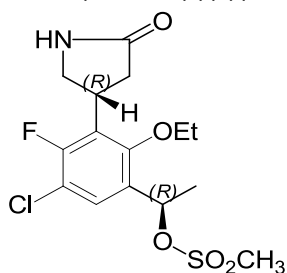
XVI

у контакт з ацетатом формамідину з отриманням вказаної сполуки формули I:



I.

У цій заявці додатково запропонована сполука формули XIV:

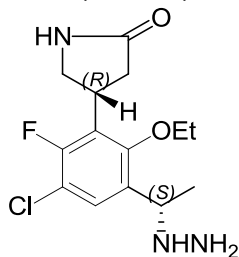


5

XIV

або її фармацевтично прийнятна сіль.

У цій заявці також запропонована сполука формули XV:

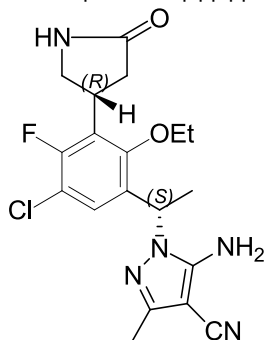


XV

10

або її фармацевтично прийнятна сіль.

У цій заявці додатково запропонована сполука формули XVI:

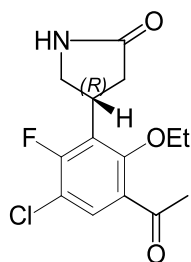


XVI

15

або її фармацевтично прийнятна сіль.

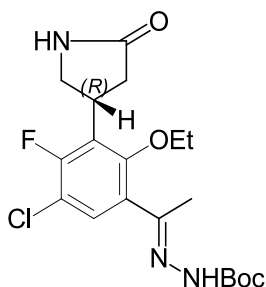
У цій заявці додатково запропонована сполука формули XIX:



XIX

або її фармацевтично прийнятна сіль.

У цій заявці також запропонована сполука формули XX:

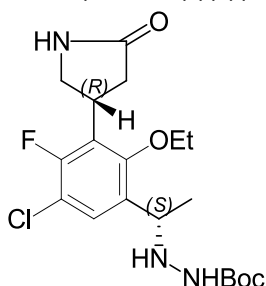


5

XX

або її фармацевтично прийнятна сіль.

У цій заявці додатково запропонована сполука формули XXI:



10

XXI

або її фармацевтично прийнятна сіль.

ОПИС ГРАФІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ

Фіг. 1 ілюструє термограму ДСК, типову для солі прикладу 3.

Фіг. 2 ілюструє дані ТГА, типові для солі прикладу 3.

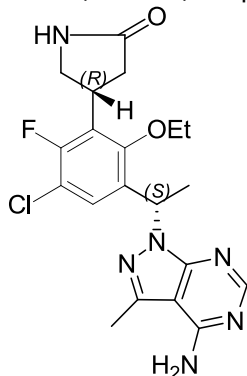
15

Фіг. 3 ілюструє дифрактограму ПРД (XRPD), типову для солі прикладу 3.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС

Сполуки та солі

У цій заявці запропоновані способи отримання сполуки формули I:



20

I

або її фармацевтично прийнятної солі, яка придатна як інгібітор PI3Kδ, де Et являє собою етил.

У цій заявці додатково запропонована сіль сполуки формули I.

Отже, у деяких варіантах реалізації винаходу у цій заявці запропонована гідрохлоридна сіль

4-(3-(1-(4-аміно-3-метил-1Н-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідин-2-ону. У деяких варіантах реалізації винаходу у цій заявці запропонована гідрохлоридна сіль (R)-4-(3-((S)-1-(4-аміно-3-метил-1Н-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідин-2-ону. У деяких варіантах реалізації винаходу сіль являє собою стехіометричне відношення 1:1 (R)-4-(3-((S)-1-(4-аміно-3-метил-1Н-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідин-2-ону до хлоридної кислоти.

Різні форми однієї і тієї самої речовини мають різні об'ємні властивості, що стосується, наприклад, гігроскопічності, розчинності, стабільності тощо. Форми з високими точками плавлення часто мають гарну термодинамічну стабільність, що корисно для подовження терміну зберігання лікарських препаратів, які містять тверду форму. Форми з більш низькими точками плавлення часто менш термодинамічно стабільні, але зручні тим, що мають підвищену розчинність у воді, що відповідає підвищеній біодоступності лікарського засобу. Форми, які є слабо гігроскопічними, доцільні внаслідок їх стабільності при нагрівання і дії вологи, і вони стійкі до деградації при тривалому зберіганні.

У деяких варіантах реалізації винаходу гідрохлоридна сіль сполуки формули I, запропонована у цьому документі, є кристалічною. При використанні у цьому документі, "кристалічний" або "кристалічна форма" стосується певної конфігурації ґратки кристалічної речовини. Різні кристалічні форми однієї і тієї ж речовини зазвичай мають різні кристалічні ґратки (наприклад, одиничні комірки), що відповідають різним фізичним властивостям, які є характерною особливістю кожної з кристалічних форм. У деяких випадках різні конфігурації ґратки характеризуються різним вмістом води або розчинника.

Різні сольові форми можуть бути ідентифіковані за допомогою методів дослідження твердого стану, таких як порошкова рентгенівська дифракція, ПРД (XRPD). Інші методи дослідження, такі як диференційна сканувальна калориметрія (ДСК), термогравіметричний аналіз (ТГА), динамічна сорбція парів, ДСП (DVS) і таке інше, додатково допомагають встановлювати форму, а також допомагають визначати стабільність і вміст розчинника/води.

Набір відбиттів ПРД (XRPD) (піки) зазвичай вважають характерною ознакою конкретної кристалічної форми. Добре відомо, що відносні інтенсивності піків ПРД (XRPD) можуть сильно змінюватися в залежності від, серед іншого, способу отримання зразка, розподілу кристалів за розмірами, різних фільтрів, що використовуються, способу становлення зразка і конкретного приладу, який застосовується. У деяких випадках можна спостерігати появу нових піків або зникнення існуючих піків в залежності від типу приладу або параметрів. При використанні у цьому документі, термін "пік" стосується відбиття, яке має відносну висоту/інтенсивність, що становить щонайменше приблизно 4 % від максимальної висоти/інтенсивності піка. Крім того, зміна обладнання і інші фактори можуть вплинути на значення 2-тета. Таким чином, задані значення піків, як, наприклад, наведені у цьому документі, можуть відрізнятися на плюс або мінус приблизно 0,2° (2-тета), і термін "практично" або "приблизно", при використанні у зв'язку з ПРД (XRPD) у цьому документі, охоплює вищенаведені коливання.

У деяких варіантах реалізації винаходу гідрохлоридна сіль сполуки формули I має щонайменше один пік ПРД (XRPD), в одиницях 2-тета вибраний з приблизно 11,3°, приблизно 16,4°, приблизно 21,0°, приблизно 23,0°, приблизно 28,1°, приблизно 31,2° і приблизно 32,8°. У деяких варіантах реалізації винаходу гідрохлоридна сіль сполуки формули I має щонайменше два піки ПРД (XRPD), в одиницях 2-тета вибрані з приблизно 11,3°, приблизно 16,4°, приблизно 21,0°, приблизно 23,0°, приблизно 28,1°, приблизно 31,2° і приблизно 32,8°. У деяких варіантах реалізації винаходу гідрохлоридна сіль сполуки формули I має щонайменше три піки ПРД (XRPD), в одиницях 2-тета вибрані з приблизно 11,3°, приблизно 16,4°, приблизно 21,0°, приблизно 23,0°, приблизно 28,1°, приблизно 31,2° і приблизно 32,8°. У деяких варіантах реалізації винаходу гідрохлоридна сіль сполуки формули I має щонайменше чотири піки ПРД (XRPD), в одиницях 2-тета вибрані з приблизно 11,3°, приблизно 16,4°, приблизно 21,0°, приблизно 23,0°, приблизно 28,1°, приблизно 31,2° і приблизно 32,8°. У деяких варіантах реалізації винаходу гідрохлоридна сіль сполуки формули I має щонайменше п'ять піків ПРД (XRPD), в одиницях 2-тета вибраних з приблизно 11,3°, приблизно 16,4°, приблизно 21,0°, приблизно 23,0°, приблизно 28,1°, приблизно 31,2° і приблизно 32,8°. У деяких варіантах реалізації винаходу гідрохлоридна сіль сполуки формули I має практично таку ж дифрактограму ПРД (XRPD), як показано на фіг. 3.

Аналогічно, показання температури у зв'язку з ДСК, ТГА або іншими термічними експериментами можуть змінюватися на приблизно  $\pm 3^\circ\text{C}$  в залежності від обладнання, конкретних параметрів, пробопідготовки тощо. Отже, кристалічна форма, описана у цьому документі, має термограму ДСК "практично" таку ж, як показано на будь-якій з фігур, або



вважають, що термін "приблизно" компенсує таку відмінність. У деяких варіантах реалізації винаходу гідрохлоридна сіль сполуки формули I має термограму ДСК, на якій спостерігається ендотермічний пік при приблизно 207 °С. У деяких варіантах реалізації винаходу гідрохлоридна сіль сполуки формули I має термограму ДСК практично таку ж, як показано на фіг. 1. У деяких

5

варіантах реалізації винаходу гідрохлоридна сіль сполуки формули I має термограму ТГА практично таку ж, як показано на фіг. 2.

У деяких варіантах реалізації винаходу солі і сполуки, описані у цьому документі (наприклад, сполука формули I або гідрохлоридна сіль сполуки формули I), виділені значною мірою. Під "виділені значною мірою" розуміють, що сіль або сполука щонайменше частково або значною

10

мірою відділена від середовища, у якому вона була отримана чи виявлена. Часткове відділення може включати, наприклад, композицію, збагачену солями, описаними у цьому документі. Відділення значною мірою може включати композиції, що містять щонайменше приблизно 50 %, щонайменше приблизно 60 %, щонайменше приблизно 70 %, щонайменше приблизно 80 %, щонайменше приблизно 90 %, щонайменше приблизно 95 %, щонайменше приблизно 97 % або

15

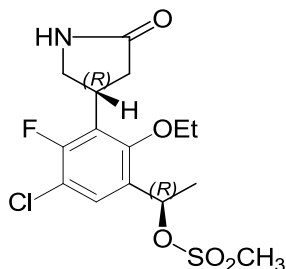
щонайменше приблизно 99 % за масою солей, описаних у цьому документі, або їх солей. Способи виділення сполук і їх солей відомі у цій галузі техніки.

Проміжні сполуки

У цій заявці додатково запропоновані проміжні сполуки, які придатні для отримання сполуки формули I.

20

Отже, у деяких варіантах реалізації винаходу у цій заявці запропонована сполука формули XIV:

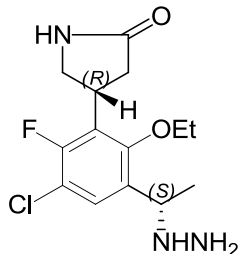


XIV

або її фармацевтично прийнятна сіль.

25

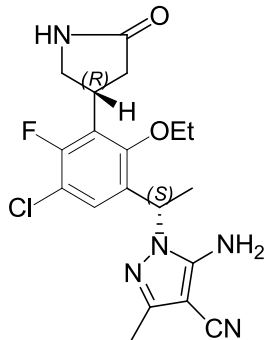
У цій заявці додатково запропонована сполука формули XV:



XV

або її фармацевтично прийнятна сіль.

У цій заявці додатково запропонована сполука формули XVI:

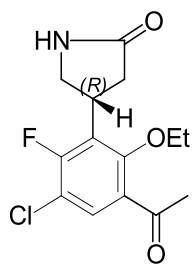


XVI

або її фармацевтично прийнятна сіль.

У цій заявці додатково запропонована сполука формули XIX:

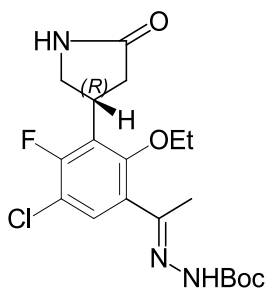
30



XIX

або її фармацевтично прийнятна сіль.

У цій заявці додатково запропонована сполука формули XX:

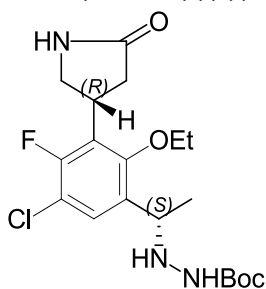


5

XX

або її фармацевтично прийнятна сіль.

У цій заявці додатково запропонована сполука формули XXI:



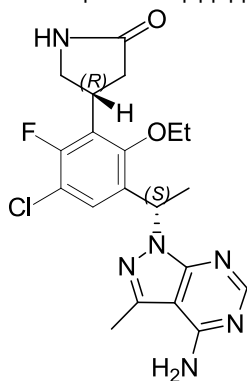
10

XXI

або її фармацевтично прийнятна сіль.

Способи

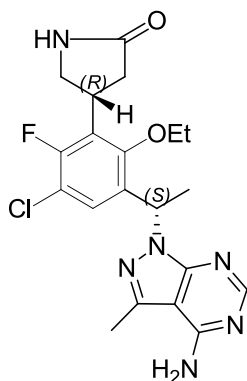
У цій заявці додатково запропоновано спосіб отримання солі формули I:



15

I.

У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб включає приведення сполуки формули I:



I

у контакт з хлоридною кислотою з отриманням вказаної солі.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказана хлоридна кислота являє собою 1 М водний розчин хлоридної кислоти.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули I використовують від приблизно 3,3 до приблизно 3,7 еквіваленти хлоридної кислоти.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення у контакт здійснюють при температурі від приблизно 45 °C до приблизно 55 °C.

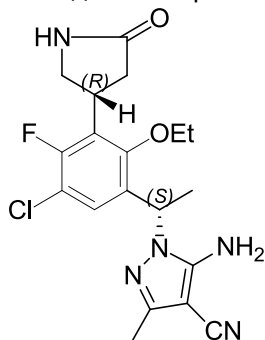
У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб включає стадії, в яких:

до сполуки формули I при кімнатній температурі додають хлоридну кислоту з утворенням суспензії;

нагрівають вказану суспензію до температури від приблизно 45 °C до приблизно 55 °C з утворенням розчину; і

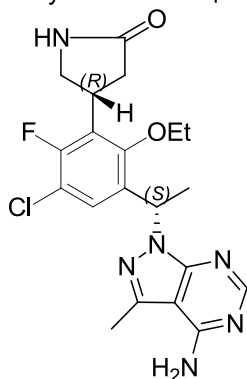
охолоджують розчин до температури від приблизно 0 °C до приблизно 5 °C для кристалізації вказаної солі.

У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб включає приведення сполуки формули XVI:



XVI

у контакт з ацетатом формамідину з отриманням сполуки формули I:



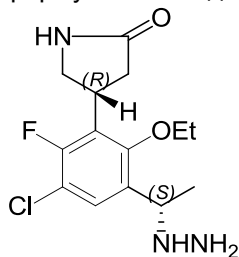
I.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення у контакт сполуки формули XVI з ацетатом формамідину здійснюють у компоненті розчинника, що містить 1,2-етандіол.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення у контакт сполуки формули XVI з ацетатом формамідину здійснюють при температурі від приблизно 100 °C до приблизно 105 °C.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули XVI використовують від приблизно 8 до приблизно 10 еквівалентів ацетату формамідину.

У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб додатково включає отримання сполуки формули XVI за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули XV:



5

XV

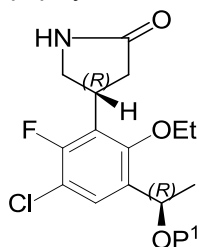
з (1-етоксиетиліден)малононітрилом у присутності третинного аміну.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний третинний амін являє собою N-метилпіролідинон.

10

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення у контакт сполуки формули XV з (1-етоксиетиліден)малононітрилом здійснюють при приблизно кімнатній температурі.

У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб додатково включає отримання сполуки формули XV за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули XIV-a:



15

XIV-a

з гідрaziном у присутності третинного аміну, де P<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-6</sub> алкілсульфоніл.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний третинний амін являє собою N-метилпіролідинон.

20

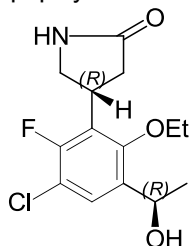
У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення у контакт сполуки формули XIV-a з гідрaziном здійснюють при температурі від приблизно 35 °C до приблизно 60 °C.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення у контакт сполуки формули XIV-a з гідрaziном здійснюють у компоненті розчинника, що містить дихлорометан.

У деяких варіантах реалізації винаходу P<sup>1</sup> являє собою метансульфонільну групу.

25

У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб додатково включає отримання сполуки формули XIV за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули XIII:



XIII

з C<sub>1-6</sub> алкілсульфонілгалогенідом у присутності третинного аміну.

30

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний C<sub>1-6</sub> алкілсульфонілгалогенід являє собою метансульфонілхлорид.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний третинний амін являє собою N, N-діізопропілетиламін.

35

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули XIII використовують від приблизно 1,1 до приблизно 1,5 еквівалента алкілсульфонілгалогеніду.

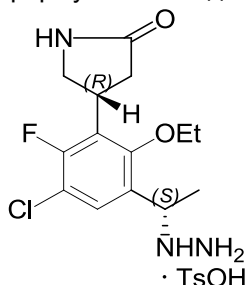
У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення сполуки формули XIII у контакт з C<sub>1-6</sub> алкілсульфонілгалогенідом здійснюють при температурі від приблизно -10 °C до приблизно 5 °C.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення сполуки формули XIII у контакт з C<sub>1-6</sub> алкілсульфонілгалогенідом здійснюють у компоненті розчинника, що містить

дихлорометан.

У деяких варіантах реалізації винаходу стадії, в яких: (i) приводять вказану сполуку формули XIII у контакт з C<sub>1-6</sub> алкілсульфонілгалогенідом; (ii) приводять вказану сполуку формули XIV-а у контакт з гідразином у присутності третинного аміну з утворенням сполуки формули XV; і (iii) приводять вказану сполуку формули XV у контакт з ацетатом формамідину з утворенням сполуки формули XVI, здійснюють в одному і тому ж реакторі без виділення сполуки формули XIV-а або сполуки формули XV.

У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб додатково включає отримання сполуки формули XVI за допомогою способу, що включає приведення у контакт солі формули XV-а:



XV-a

з (1-етоксиетиліден)малононітрилом у присутності третинного аміну, де TsOH являє собою п-толуенсульфонову кислоту.

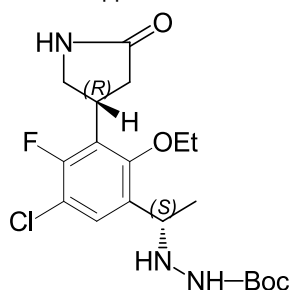
У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний третинний амін являє собою N, N-діізопропілетиламін.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення солі формули XV-a у контакт з (1-етоксиетиліден)малононітрилом здійснюють при приблизно кімнатній температурі.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент солі формули XV-a використовують від приблизно 1,3 до приблизно 1,6 еквівалента (1-етоксиетиліден)малононітрилу.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення солі формули XV-a у контакт з (1-етоксиетиліден)малононітрилом здійснюють у компоненті розчинника, що містить етанол.

У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб додатково включає отримання солі формули XV-a за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули XXI:



XXI

з п-толуенсульфоною кислотою, де Boc являє собою трет-бутоксикарбоніл.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказана п-толуенсульфонова кислота являє собою моногідрат п-толуенсульфонової кислоти.

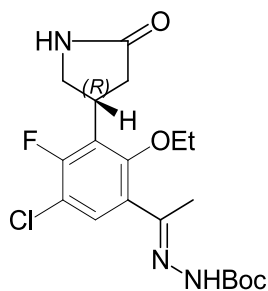
У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули XXI використовують від приблизно 1,3 до приблизно 1,6 еквівалента п-толуенсульфонової кислоти.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення у контакт вказаної сполуки формули XXI з п-толуенсульфоною кислотою здійснюють при температурі від приблизно 45 °C до приблизно 65 °C.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення вказаної сполуки формули XXI у контакт з п-толуенсульфоною кислотою здійснюють у компоненті розчинника, що містить етанол.

У деяких варіантах реалізації винаходу стадії, в яких: (i) приводять вказану сполуку формули XXI у контакт з п-толуенсульфоною кислотою з утворенням солі формули XV-a; і (ii) приводять вказану сіль формули XV-a у контакт з (1-етоксиетиліден)малононітрилом, здійснюють в одному і тому ж реакторі без виділення солі формули XV-a.

У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб додатково включає отримання сполуки формули XX за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули XX:



XX

з газоподібним воднем у присутності одного або більше незалежно вибраних каталізаторів гідрування, де Boc являє собою трет-бутоксикарбоніл.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення сполуки формули XX у контакт з газоподібним воднем здійснюють у присутності двох незалежно вибраних каталізаторів гідрування.

У деяких варіантах реалізації винаходу один каталізатор гідрування являє собою біс(1,5-циклооктадієн)родію(I) тетрафлуороборат, а інший являє собою (R)-(-)-1-[(S)-2-[біс(4-трифлуорометилфеніл)фосфін]фероценіл]етил-ди-трет-бутилфосфін.

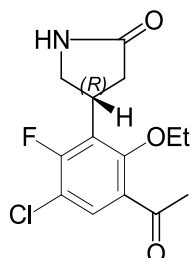
У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули XX використовують від приблизно 13,5 до приблизно 14,5 еквівалентів біс(1,5-циклооктадієн)родію(I) тетрафлуороборату.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули XX використовують від приблизно 12 до приблизно 13 еквівалентів (R)-(-)-1-[(S)-2-[біс(4-трифлуорометилфеніл)фосфін]фероценіл]етил-ди-трет-бутилфосфін.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення сполуки формули XX у контакт з газоподібним воднем здійснюють при приблизно кімнатній температурі.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення сполуки формули XX у контакт з газоподібним воднем здійснюють у компоненті розчинника, що містить метанол.

У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб додатково включає отримання сполуки формули XX за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули XIX:



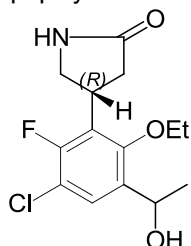
XIX

з трет-бутилкарбазатом.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення сполуки формули XIX у контакт з трет-бутилкарбазатом здійснюють при температурі від приблизно 60 °C до приблизно 70 °C.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення сполуки формули XIX у контакт з трет-бутилкарбазатом здійснюють у компоненті розчинника, що містить метанол.

У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб додатково включає отримання сполуки формули XIX за допомогою способу, що включає окиснення сполуки формули XIII-a:



XIII-a

у присутності окиснючого агента.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний окиснючий агент являє собою періодинан Десса-Мартіна.

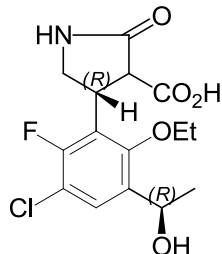
У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули XIII-a

використовують від приблизно 1,2 до приблизно 1,7 еквівалента вказаного окиснючого агента.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане окиснення сполуки формули XIII-а здійснюють при приблизно кімнатній температурі.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане окиснення сполуки формули XIII-а здійснюють у компоненті розчинника, що містить дихлорометан.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказану сполуку формули XIII отримують за допомогою способу, що включає нагрівання сполуки формули XII:



XII

у присутності компонента розчинника.

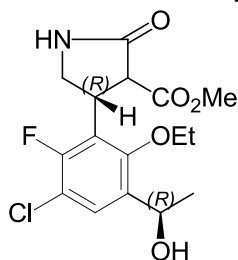
У деяких варіантах реалізації винаходу вказане нагрівання здійснюють при температурі від приблизно 95 °C до приблизно 105 °C.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний компонент розчинника містить 1,4-діоксан.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний компонент розчинника містить толуен.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний компонент розчинника містить 1,4-діоксан і толуен.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказану сполуку формули XII отримують за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули XI:



XI

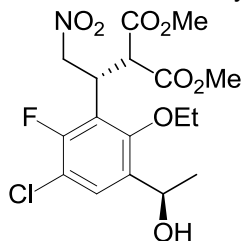
у присутності сильної основи.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказана сильна основа являє собою гідроксид натрію.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказана сильна основа являє собою 1 М водний розчин гідроксиду натрію.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення у контакт здійснюють при приблизно кімнатній температурі.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказану сполуку формули XI отримують за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули X:

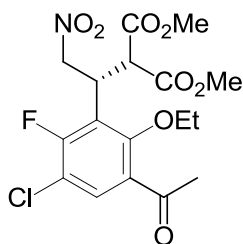


X

з газоподібним воднем у присутності нікелю Ренея.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення у контакт здійснюють при температурі від приблизно 50 °C до приблизно 70 °C.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказану сполуку формули X отримують за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули IX:



IX

у присутності етерату трифлуориду бору, каталізатора (3aS)-1-метил-3,3-дифенілтетрагідро-3H-піроло[1,2-с][1,3,2]оксазаборолу ((S)-MeCBS) і комплексу борану.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули IX використовують від приблизно 0,03 до приблизно 0,07 еквівалента етерату трифлуориду бору.

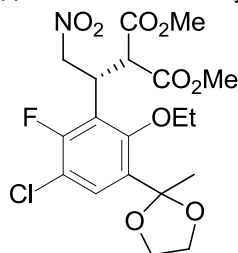
У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули IX використовують від приблизно 0,05 до приблизно 0,15 еквівалента каталізатора (3aS)-1-метил-3,3-дифенілтетрагідро-3H-піроло[1,2-с][1,3,2]оксазаборолу ((S)-MeCBS).

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний комплекс борану являє собою 1,0 М комплекс боран-ТГФ у ТГФ.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули IX використовують від приблизно 0,9 до приблизно 1,1 еквівалента комплексу борану.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення у контакт здійснюють при приблизно кімнатній температурі.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказану сполуку формули IX отримують за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули VIII:



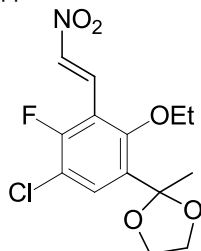
VIII

з йодом у присутності компонента розчинника.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний компонент розчинника містить ацетон.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули VIII використовують від приблизно 0,75 до приблизно 1,25 еквівалента йоду.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказану сполуку формули VIII отримують за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули VII:



VII

з диметилмалонатом у присутності каталізатора.

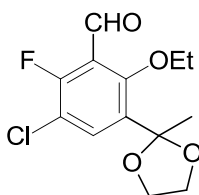
У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний каталізатор являє собою (1S, 2S)-N, N'-добензилциклогексан-1,2-діамінодибромонікель (каталізатор Еванса).

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули VII використовують від приблизно 1,1 до приблизно 1,3 еквівалента диметилмалонату.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули VII використовують від приблизно 0,02 до приблизно 0,03 еквівалента каталізатора, що містить перехідний метал.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказану сполуку формули VII отримують за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули VI:





VI

з нітрометаном у присутності органічної кислоти для отримання першої суміші.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказана органічна кислота являє собою льодяну оцтову кислоту.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули VI використовують від приблизно 9,5 до приблизно 10,5 еквівалентів нітрометану.

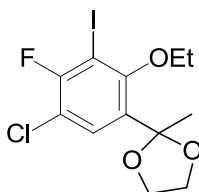
У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення у контакт додатково включає додавання аміної основи до вказаної першої суміші з утворенням другої суміші.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказана амінна основа являє собою бензиламін.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули VI використовують від приблизно 0,2 до приблизно 0,3 еквівалента аміної основи.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказану другу суміш нагрівають при від приблизно 55 °C до приблизно 65 °C.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказану сполуку формули VI отримують за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули V:



V

з комплексом (C<sub>1-4</sub> алкіл)магнійгалогеніду з утворенням першої суміші.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний комплекс (C<sub>1-4</sub> алкіл)магнійгалогеніду являє собою комплекс ізопропілмагнійхлориду і хлориду літію з концентрацією 1,3 М.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули V використовують від приблизно 1,1 до приблизно 1,3 еквівалента вказаного комплексу.(C<sub>1-4</sub> алкіл)магнійгалогеніду.

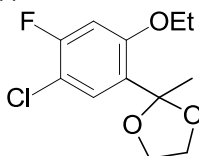
У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення у контакт додатково включає додавання N-формілморфоліну до вказаної першої суміші з утворенням другої суміші.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули V використовують від приблизно 1,8 до приблизно 2,2 еквіваленти N-формілморфоліну.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення у контакт здійснюють при температурі від приблизно -5 °C до приблизно 10 °C.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказану сполуку формули V отримують відповідно до методик, описаних у публікації США № 2013-0059835A1.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказану сполуку формули VI отримують за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули V-a:



V-a

з N, N-диметилформамідом у присутності діізопропіламіду літію.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний діізопропіламід літію отримують шляхом приведення у контакт N, N-діізопропіламіну у присутності н-бутиллітію.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний діізопропіламід літію отримують при температурі від приблизно -75 °C до приблизно 5 °C.

У деяких варіантах реалізації винаходу:

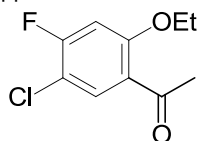
(ii) вказану сполуку формули V-a приводять у контакт з діізопропіламідом літію з утворенням першої суміші; і

(ii) до вказаної першої суміші додають N, N-диметилформамід з утворенням другої суміші.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули V-a використовують від приблизно 1,2 до приблизно 1,3 еквівалента аміної основи.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули V-a використовують від приблизно 1,4 до приблизно 1,6 еквівалента N, N-диметилформаміду.

5 У деяких варіантах реалізації винаходу вказану сполуку формули V-a отримують за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули IV-a:



IV-a

з 1,2-етандіолом у присутності п-толуенсульфонової кислоти.

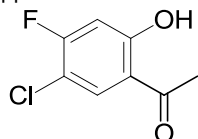
10 У деяких варіантах реалізації винаходу вказана п-толуенсульфонова кислота являє собою моногідрат п-толуенсульфонової кислоти.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули IV-a використовують від приблизно 2,2 до приблизно 2,7 еквіваленти 1,2-етандіолу.

15 У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули IV-a використовують від приблизно 0,05 до приблизно 0,1 еквівалента п-толуенсульфонової кислоти.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення у контакт здійснюють при кип'ятінні зі зворотним холодильником.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказану сполуку формули IV-a отримують за допомогою способу, що включає приведення у контакт сполуки формули II:



20

II

з  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-X}^1$  у присутності основи карбонату лужного металу, де:

$\text{X}^1$  являє собою галогенід.

У деяких варіантах реалізації винаходу  $\text{X}^1$  являє собою йодид.

25 У деяких варіантах реалізації винаходу вказана основа карбонат лужного металу являє собою карбонат калію.

У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули II використовують від приблизно 1,1 до приблизно 1,3 еквівалента  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-X}^1$ .

30 У деяких варіантах реалізації винаходу на 1 еквівалент сполуки формули II використовують від приблизно 1,8 до приблизно 2,2 еквіваленти основи карбонату лужного металу.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане приведення у контакт здійснюють при температурі від приблизно 55 °C до приблизно 65 °C.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказану сполуку формули II отримують відповідно до методик, описаних у публікації США № 2013-0059835A1.

35 Зрозуміло, що деякі ознаки винаходу, які для ясності описані в різних варіантах реалізації винаходу, також можуть бути об'єднані в один варіант реалізації винаходу (хоча припускається, що варіанти реалізації об'єднані, як якщо б вони були записані у багатозалежній формі). З іншої сторони, різні ознаки винаходу, які для стислості описані в одному варіанті реалізації винаходу, також можуть бути подані окремо або у будь-якій придатній підкомбінації.

40 Солі і сполуки, описані у цьому документі, можуть бути асиметричними (наприклад такими, що мають один або більше стереоцентрів). Якщо стереохімія не вказана, то передбачаються усі стереоізомери, такі як енантіомери і діастереомери, якщо структурою або назвою не вказано інше. Солі і сполуки за цією заявкою, які містять асиметрично заміщені атоми Карбону, можуть бути виділені в оптично активних або рацемічних формах. Способи отримання оптично активних форм із оптично неактивних вихідних речовин відомі у цій галузі техніки, як, наприклад, розділення рацемічних сумішей або за допомогою стереоселективного синтезу. Також у солях і сполуках, описаних у цьому документі, можуть бути присутні різні геометричні ізомери олефінів, подвійних зв'язків  $\text{C}=\text{N}$  і такого іншого, і усі такі стабільні ізомери передбачені у цій заявці. Описані цис і транс геометричні ізомери солей і сполук за цією заявкою, і вони

50 можуть бути виділені у вигляді суміші ізомерів або у вигляді окремих ізомерних форм.

Розділення рацемічних сумішей солей і сполук може бути здійснено будь-яким з численних способів, відомих у цій галузі техніки. Ілюстративний спосіб включає фракційну перекристалізацію з використанням хіральної розділюючої кислоти, яка є оптично активною

органічною кислотою, що може утворювати солі. Придатні розділяючі агенти для способів фракційної перекристалізації являють собою, 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 камфорсульфокислот, таких як

5  $\beta$ -камфорсульфокислота. Інші розділяючі агенти, придатні для способів фракційної перекристалізації, включають стереоізомерно чисті форми  $\alpha$ -метилбензиламіну (наприклад, S- і R-форми або діастереомерно чисті форми), 2-фенілгліцинол, норефедрін, ефедрін, N-метилефедрін, циклогексилетиламін, 1,2-діаміноциклогексан і таке інше.

10 Розділення рацемічних сумішей також можна проводити елююванням на колонці, що містить оптично активний розділяючий агент (наприклад, динітробензоїлфенілгліцин). Фахівець у цій галузі техніки може визначити придатний склад розчинників для елюювання.

Солі і сполуки за цим винаходом можуть також містити усі ізотопи атомів, які зустрічаються в проміжних або кінцевих солях або сполуках. Ізотопи включають ті атоми, які мають однаковий атомний номер, але різні масові числа. Наприклад, ізотопи Гідрогену включають Тритій і

15 Дейтерій. У деяких варіантах реалізації винаходу сполуки або солі можуть знаходитися разом з іншими речовинами, такими як вода і розчинники (наприклад, гідрати і сольвати), або можуть бути виділені.

У деяких варіантах реалізації винаходу сполуки, описані у цьому документі, або їх солі

20 (наприклад, гідрохлоридна сіль сполуки формули I), значною мірою виділені. Під "виділені значною мірою" розуміють, що сполука щонайменше частково або значною мірою відділена від середовища, у якому вона була отримана чи виявлена. Часткове відділення може включати, наприклад, композицію, збагачену сполуками за цим винаходом. Відділення значною мірою може включати композиції, що містять щонайменше приблизно 50 %, щонайменше приблизно

25 60 %, щонайменше приблизно 70 %, щонайменше приблизно 80 %, щонайменше приблизно 90 %, щонайменше приблизно 95 %, щонайменше приблизно 97 % або щонайменше приблизно 99 % за масою сполук за цим винаходом або їх солей. Способи виділення сполук і їх солей відомі у цій галузі техніки.

Фразу "фармацевтично прийнятний" використовують у цьому документі для позначення таких сполук, речовин, композицій і/або лікарських форм, які за результатами ретельної

30 медичної оцінки придатні для використання у контакті з тканинами людини і тварин без надмірної токсичності, подразнення, алергічної реакції або інших проблем чи ускладнень, відповідно до прийнятного відношення користь/ризик.

Необхідно розуміти, що сполуки, наведені у цьому документі, включаючи їх солі, можуть

35 бути отримані з використанням відомих методик органічного синтезу і можуть бути синтезовані відповідно до будь-якого з різноманітних можливих синтетичних підходів. Способи, описані у цьому документі, можна контролювати відповідно до будь-якого придатного способу, відомого у цій галузі техніки. Наприклад, за утворенням продукту можна спостерігати за допомогою спектроскопії, такої як спектроскопія ядерного магнітного резонансу (наприклад,  $^1\text{H}$  або  $^{13}\text{C}$ ),

40 інфрачервона спектроскопія або спектрофотометрія (наприклад, УФ і видимого діапазону); або за допомогою хроматографії, такої як високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) або тонкошарова хроматографія (ТШХ), або за допомогою інших споріднених методів.

При використанні у цьому документі, термін "приведення у контакт" використовують так, як це відомо у цій галузі техніки і зазвичай стосується об'єднання хімічних реагентів таким чином,

45 що забезпечується можливість їх взаємодії на молекулярному рівні для досягнення хімічного або фізичного перетворення. У деяких варіантах реалізації винаходу приведення у контакт включає два реагенти, причому використовують один або більше еквівалентів другого реагенту у порівнянні з першим реагентом. Стадії реакцій способів, описаних у цьому документі, можуть бути здійснені протягом часу та в умовах, придатних для отримання вказаного продукту.

50 Реакції способів, описаних у цьому документі, можуть бути здійснені у придатних розчинниках, які легко можуть бути підібрані фахівцем у галузі органічного синтезу. Придатними розчинниками можуть бути розчинники, які практично не реагують з вихідними речовинами (реагентами), проміжними сполуками або продуктами при температурах проведення реакцій, наприклад, при температурах, які можуть змінюватися від температури замерзання розчинника

55 до температури кипіння розчинника. Конкретну реакцію можна проводити в одному розчиннику або в суміші більш ніж одного розчинника. В залежності від конкретної стадії реакції можуть бути підібрані придатні розчинники для конкретної стадії реакції.

Придатні розчинники можуть включати галогеновані розчинники, такі як тетрахлорид карбону, бромодихлорометан, дибромохлорометан, бромформ, хлороформ,

60 бромохлорометан, дибромометан, бутилхлорид, дихлорометан, тетрахлоретилен,

трихлоретилен, 1,1,1-трихлоретан, 1,1,2-трихлоретан, 1,1-дихлоретан, 2-хлоропропан, 1,2-дихлоретан, 1,2-диброметан, гексафлуоробензен, 1,2,4-трихлоробензен, 1,2-дихлоробензен, хлоробензен, флуоробензен, їх суміші і таке інше.

Придатні етерні розчинники включають: диметоксиметан, тетрагідрофуран, 1,3-діоксан, 1,4-діоксан, фуран, діетиловий етер, диметиловий етер етиленгліколю, діетиловий етер етиленгліколю, диметиловий етер діетиленгліколю, діетиловий етер діетиленгліколю, диметиловий етер триетиленгліколю, анізол, метил-трет-бутиловий етер, їх суміші і таке інше.

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

Придатні апротонні розчинники можуть включати, як приклад і без обмеження, тетрагідрофуран (ТГФ), N, N-диметилформамід (ДМФА), N, N-диметилацетамід (ДМА), 1,3-диметил-3,4,5,6-тетрагідро-2(1H)-піримідинон (DMPU), 1,3-диметил-2-імідазолідинон (DMI), N-метилпіролідінон (NMP), формамід, N-метилацетамід, N-метилформамід, ацетонітрил, диметилсульфоксид, пропіонітрил, етилформіат, метилацетат, гексахлорацетон, ацетон, метилетилкетон, етилацетат, сульфолан, N, N-диметилпропіонамід, тетраметилсечовину, нітрометан, ніробензен або гексаметилфосфорамід.

Придатні вуглеводневі розчинники включають бензен, циклогексан, пентан, гексан, толуен, циклогептан, метилциклогексан, гептан, етилбензен, м-, о- або п-ксилен, октан, індан, нонан або нафтален.

Реакції способів, описаних у цьому документі, можуть бути здійснені при придатних температурах, які легко можуть бути підібрані фахівцем у цій галузі техніки. Температури реакції залежать, наприклад, від температур плавлення і кипіння реагентів і розчинника, якщо він є; термодинаміки реакції (наприклад, для проведення бурхливих екзотермічних реакцій можуть бути необхідні знижені температури); і кінетики реакції (наприклад, при високому активаційному енергетичному бар'єрі можуть бути необхідні підвищені температури).

Вирази "температура навколишнього середовища" і "кімнатна температура", при використанні у цьому документі, зрозумілі у цій галузі і стосуються зазвичай температури, наприклад температури реакції, яка приблизно дорівнює температурі в кімнаті, у якій проводять реакцію, наприклад температури від приблизно 20 °C до приблизно 30 °C.

Реакції способів, описаних у цьому документі, можуть бути здійснені на повітрі або в інертній атмосфері. Зазвичай реакції, що включають реагенти або продукти, які значною мірою взаємодіють з повітрям, можуть бути здійснені з використанням чутливих до повітря синтетичних прийомів, добре відомих фахівцям у цій галузі техніки.

#### Способи застосування

Солі і сполуки за цим винаходом можуть модулювати активність однієї або більше різних кіназ, зокрема, наприклад, фосфоінозитид-3-кіназ (PI3K). Термін "модулювати" стосується здатності підвищувати або зменшувати активність однієї або більше членів родини PI3K. Отже, солі і сполуки за цим винаходом можна використовувати у способах модулювання PI3K шляхом приведення PI3K у контакт з однією або більше солями, сполуками або композиціями, описаними у цьому документі. У деяких варіантах реалізації винаходу солі і сполуки за цією заявкою можуть діяти як інгібітори однієї або більше PI3K. У додаткових варіантах реалізації винаходу солі і сполуки за цим винаходом можна використовувати для модулювання активності PI3K у індивіда, якому необхідне модулювання рецептора, шляхом введення модулюючої кількості сполуки за цим винаходом або її фармацевтично прийнятної солі. У деяких варіантах реалізації винаходу модулювання являє собою інгібування.

У зв'язку з тим, що на ріст і виживаність клітин раку впливають численні сигнальні шляхи, цей винахід підходить для лікування хворобливих станів, які характеризуються мутантами кіназ, стійкими до лікарських засобів. Додатково, різні інгібітори кіназ, які модулюють активність різних кіназ, можна використовувати в комбінації. Цей підхід може виявитися високоефективним при лікуванні хворобливих станів шляхом впливу на декілька сигнальних шляхів, зменшувати імовірність виникнення стійкості до лікарських засобів у клітині і зменшувати токсичність лікування захворювання.

Кінази, з якими зв'язуються і/або модулюються (наприклад, інгібують) солі і сполуки за цим винаходом, включають будь-якого члена родини PI3K. У деяких варіантах реалізації винаходу PI3K являє собою PI3K $\alpha$ , PI3K $\beta$ , PI3K $\delta$  або PI3K $\gamma$ . У деяких варіантах реалізації винаходу PI3K являє собою PI3K $\delta$  або PI3K $\gamma$ . У деяких варіантах реалізації винаходу PI3K являє собою PI3K $\delta$ .

У деяких варіантах реалізації винаходу P13K являє собою P13K $\gamma$ . У деяких варіантах реалізації винаходу P13K містить мутацію. Мутація може являти собою заміну однієї амінокислоти на іншу або видалення однієї або більше амінокислот. У таких варіантах реалізації винаходу мутація може бути присутня у кіназному домені P13K.

5 У деяких варіантах реалізації винаходу більш ніж одну сіль або сполуку за цим винаходом використовують для інгібування активності однієї кінази (наприклад, P13K $\delta$  або P13K $\gamma$ ).

У деяких варіантах реалізації винаходу більш ніж одну сіль або сполуку за цим винаходом використовують для інгібування більш ніж однієї кінази, як, наприклад, щонайменше двох кіназ (наприклад, P13K $\delta$  і P13K $\gamma$ ).

10 У деяких варіантах реалізації винаходу одну або більше солей або сполук використовують в комбінації з іншим інгібітором кінази для інгібування активності однієї кінази (наприклад, P13K $\delta$  або P13K $\gamma$ ).

У деяких варіантах реалізації винаходу одну або більше солей або сполук використовують в комбінації з іншим інгібітором кінази для інгібування активності більш ніж однієї кінази (наприклад, P13K $\delta$  або P13K $\gamma$ ), як, наприклад, щонайменше двох кіназ.

15 Солі і сполуки за цим винаходом можуть бути селективними. "Селективний" означає, що сполука зв'язується з або інгібує кіназу з більшою афінністю або ефективністю, відповідно, у порівнянні з щонайменше однією відмінною кіназою. У деяких варіантах реалізації винаходу солі і сполуки за цим винаходом являють собою селективні інгібітори P13K $\delta$  або P13K $\gamma$  у порівнянні з P13K $\alpha$  і/або P13K $\beta$ . У деяких варіантах реалізації винаходу солі і сполуки за цим винаходом являють собою селективні інгібітори P13K $\delta$  (наприклад, у порівнянні з P13K $\alpha$ , P13K $\beta$  і P13K $\gamma$ ). У деяких варіантах реалізації винаходу солі і сполуки за цим винаходом являють собою селективні інгібітори P13K $\delta$  (наприклад, у порівнянні з P13K $\alpha$ , P13K $\beta$  і P13K $\gamma$ ). У деяких варіантах реалізації винаходу селективність може являти собою відмінність щонайменше в приблизно 2 рази, 5 разів, 10 разів, щонайменше в приблизно 20 разів, щонайменше в приблизно 50 разів, щонайменше в приблизно 100 разів, щонайменше в приблизно 200 разів, щонайменше в приблизно 500 разів або щонайменше в приблизно 1000 разів. Селективність може бути виміряна способами, відомими у цій галузі техніки. У деяких варіантах реалізації винаходу селективність може бути досліджена при концентрації  $K_m$  АТФ для кожного ферменту. У деяких варіантах реалізації винаходу селективність солей і сполук за цим винаходом можна визначити з використанням клітинних аналізів, зв'язаних з активністю конкретної кінази P13K.

Інший аспект цієї заявки стосується способів лікування захворювання або розладу, пов'язаного з кіназою (такою як P13K), у індивіда (наприклад, пацієнта) шляхом введення індивіду, якому необхідне таке лікування, терапевтично ефективною кількістю або дози однієї або 35 більше солей або сполук за цією заявкою або фармацевтичної композиції на їх основі. Захворювання, пов'язане з P13K, може включати будь-яке захворювання, розлад або патологічний стан, який прямо або непрямо пов'язаний з експресією або активністю P13K, включаючи надекспресію і/або аномальну активність. У деяких варіантах реалізації винаходу захворювання може бути пов'язане з Akt (протеїнкіназа B), мішенню рапаміцину у клітинах ссавців (mTOR) або фосфоінозитид-залежною кіназою 1 (PDK1). У деяких варіантах реалізації винаходу захворювання, пов'язане з mTOR, може являти собою запалення, атеросклероз, псоріаз, рестеноз, доброякісну гіпертрофію передміхурової залози, ураження кісток, панкреатит, ангіогенез, діабетичну ретинопатію, атеросклероз, артрит, імунологічні розлади, захворювання нирок або рак. Захворювання, пов'язане з P13K, може також включати будь-яке захворювання, розлад або патологічний стан, який можна попередити, ослабити або вилікувати модулюванням активності P13K. У деяких варіантах реалізації винаходу захворювання характеризується аномальною активністю P13K. У деяких варіантах реалізації винаходу захворювання характеризується мутантною P13K. У таких варіантах реалізації винаходу мутація може бути присутня у кіназному домені P13K.

50 Приклади захворювань, пов'язаних з P13K, включають імунні захворювання, зокрема системні, включаючи, наприклад, ревматоїдний артрит, алергію, астму, гломерулонефрит, вовчак або запалення, пов'язане з будь-яким захворюванням з вищенаведених.

Додаткові приклади захворювань, пов'язаних з P13K, включають рак, такий як рак молочної залози, передміхурової залози, товстої кишки, ендометрію, мозку, сечового міхура, шкіри, 55 матки, яєчника, легень, підшлункової залози, нирок, шлунку або гемобластоз.

Додаткові приклади захворювань, пов'язаних з P13K, включають захворювання легень, такі як гостре ушкодження легень (ГУЛ) і гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС) у дорослих.

Додаткові приклади P13K-зв'язаних захворювань включають остеоартрит, рестеноз, 60 атеросклероз, ураження кісток, артрит, діабетичну ретинопатію, псоріаз, доброякісну

гіпертрофію передміхурової залози, запалення, ангіогенез, панкреатит, захворювання нирок, запальне захворювання кишечника, міастенію гравіс, розсіяний склероз або синдром Шегрена і таке інше.

Додаткові приклади захворювань, пов'язаних з РІЗК, включають ідіопатичну  
5 тромбоцитопенічну пурпуру (ІТП), аутоімунну гемолітичну анемію (АГА), васкуліт, системний червоний вовчак, вовчаковий нефрит, пемфігус, мембранозну нефропатію, хронічний лімфоцитарний лейкоз (ХЛЛ), неходжкінську лімфому (НХЛ), волосатоклітинний лейкоз, лімфому з клітин мантийної зони, лімфому Беркитта, дрібноклітинну лімфоцитарну лімфому, фолікулярну лімфому, лімфоплазмоцитарну лімфому, екстранодальну лімфому з клітин маргінальної зони, дифузну В-крупноклітинну лімфому з клітин, подібних активованим В-клітинам (АВК), або дифузну В-крупноклітинну лімфому з В-клітин зародкового центру (ЗЦВ).

У деяких варіантах реалізації винаходу захворювання вибрано з ідіопатичної  
10 тромбоцитопенічної пурпури (ІТП), аутоімунної гемолітичної анемії, васкуліту, системного червоного вовчаку, вовчакового нефриту, пемфігусу, аутоімунної гемолітичної анемії (АГА), мембранозної нефропатії, хронічного лімфоцитарного лейкозу (ХЛЛ), неходжкінської лімфому (НХЛ), волосатоклітинного лейкозу, лімфому з клітин мантийної зони, лімфому Беркитта, дрібноклітинної лімфоцитарної лімфому, фолікулярної лімфому, лімфоплазмоцитарної лімфому, екстранодальної лімфому з клітин маргінальної зони, лімфому Ходжкіна, макроглобулінемії Вальденстрема, пролімфоцитарного лейкозу, гострого лімфобластного  
20 лейкозу, мієлофіброзу, лімфому, що виникає з лімфоїдної тканини, асоційованої зі слизовими оболонками (MALT), В-клітинної лімфому, медіастинальної (тимічної) В-крупноклітинної лімфому, лімфогранулематозу, лімфому з клітин маргінальної зони селезінки, первинної випотної лімфому, внутрішньосудинної В-крупноклітинної лімфому, плазмоклітинного лейкозу, екстремедулярної плазмцитоми, тліючої мієломи (яку також називають безсимптомною  
25 мієломою), моноклональної гамопатії невизначеного значення (МГНЗ) і В-клітинної лімфому.

У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб являє собою спосіб лікування ідіопатичної тромбоцитопенічної пурпури (ІТП), вибраної з рецидивуючої ІТП і рефрактерної ІТП.

У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб являє собою спосіб лікування васкуліту, вибраного з хвороби Бехчета, синдрому Когана, гігантоклітинного артеріїту, ревматичної  
30 поліміалгії (РП), артеріїту Такаюсу, хвороби Бюргера (облітеруючого тромбангіїту), васкуліту центральної нервової системи, хвороби Кавасакі, нодозного поліартеріїту, синдрому Чарга-Стросса, змішаного кріоглобулінемічного васкуліту (есенціального або викликаного вірусом гепатиту С (ВГС)), пурпури Шенлейна-Геноха (ПШГ), лейкоцитокластичного васкуліту, мікроскопічного поліангіїту, гранулематозу Вегенера і асоційованого з антинейтрофільними  
35 цитоплазматичними антитілами (АНЦА) системного васкуліту (ААСВ).

У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб являє собою спосіб лікування неходжкінської лімфому (НХЛ), вибраної з рецидивуючої НХЛ, рефрактерної НХЛ і вторинної фолікулярної НХЛ.

У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб являє собою спосіб лікування В-клітинної лімфому, причому вказана В-клітинна лімфома являє собою дифузну В-крупноклітинну лімфому (ДВККЛ).

У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб являє собою спосіб лікування В-клітинної лімфому, причому вказана В-клітинна лімфома являє собою дифузну В-крупноклітинну лімфому з клітин, подібних активованим В-клітинам (АВК), або дифузну В-крупноклітинну лімфому з В-клітин зародкового центру (ЗЦВ).

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане захворювання являє собою остеоартрит, рестеноз, атеросклероз, ураження кісток, артрит, діабетичну ретинопатію, псоріаз, доброякісну гіпертрофію передміхурової залози, запалення, ангіогенез, панкреатит, захворювання нирок, запальне захворювання кишечника, міастенію гравіс, розсіяний склероз або синдром Шегрена.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане захворювання являє собою ревматоїдний артрит, алергію, астму, гломерулонефрит, вовчак або запалення, пов'язане з будь-яким захворюванням з вищенаведених.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний вовчак являє собою системний червоний вовчак або вовчаковий нефрит.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане захворювання являє собою рак молочної залози, рак передміхурової залози, рак товстої кишки, рак ендометрію, рак мозку, рак сечового міхура, рак шкіри, рак матки, рак яєчника, рак легень, рак підшлункової залози, рак нирки, рак шлунку або гемобластоз.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний гемобластоз являє собою гострий  
60 мієлобластний лейкоз або хронічний мієлоїдний лейкоз.

У деяких варіантах реалізації винаходу вказаний гемобластоз являє собою В-клітинні лімфолейкози, зокрема індолентну / агресивну В-клітинну неходжкінську лімфому (НХЛ) і лімфому Ходжкіна (ХЛ).

У деяких варіантах реалізації винаходу вказане захворювання являє собою гостре ушкодження легень (ГУЛ) або гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС) у дорослих.

При використанні у цьому документі, термін "приведення у контакт" стосується об'єднання вказаних фрагментів у системі *in vitro* або у системі *in vivo*. Наприклад, "приведення у контакт" РІЗК зі сполукою за цим винаходом включає введення сполуки за цією заявкою індивіду або пацієнту, такому як людина, який має РІЗК, а також, наприклад, введення сполуки за цим винаходом у зразок, що містить клітинний або очищений препарат, який містить РІЗК.

При використанні у цьому документі, терміни "індивід" або "пацієнт", які використовуються взаємозамінно, стосуються будь-якої тварини, включаючи ссавців, переважно мишей, пацюків, інших гризунів, кроликів, собак, котів, свиней, великої рогатої худоби, овець, коней або приматів і головним чином людей.

При використанні у цьому документі, фраза "терапевтично ефективна кількість" стосується кількості активної сполуки або фармацевтичного агента, яка викликає біологічний або медичний відгук у тканині, системі, тварині, індивіді або людині, необхідний досліднику, ветеринару, лікарю або іншому клініцисту. У деяких варіантах реалізації винаходу дозування сполуки або її фармацевтично прийнятної солі, яке вводять пацієнту або індивіду, становить від приблизно 1 мг до приблизно 2 г, від приблизно 1 мг до приблизно 1000 мг, від приблизно 1 мг до приблизно 500 мг, від приблизно 1 мг до приблизно 100 мг, від приблизно 1 мг до 50 мг або від приблизно 50 мг до приблизно 500 мг.

При використанні у цьому документі, термін "лікувати" або "лікування" стосується одного або більше з: (1) попередження захворювання; наприклад, попередження захворювання, патологічного стану або розладу у індивіда, який може бути схильний до захворювання, патологічного стану або розладу, але ще не відчуває або не демонструє патології або симптоматології захворювання; (2) інгібування захворювання; наприклад, інгібування захворювання, патологічного стану або розладу у індивіду, який відчуває або демонструє патологію або симптоматологію захворювання, патологічного стану або розладу (тобто зупинка подальшого розвитку патології і/або симптоматології); і (3) ослаблення захворювання; наприклад, ослаблення захворювання, патологічного стану або розладу у індивіда, який відчуває або демонструє патологію або симптоматологію захворювання, патологічного стану або розладу (тобто реверсія патології і/або симптоматології), такого як зменшення тяжкості захворювання.

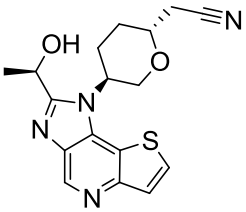
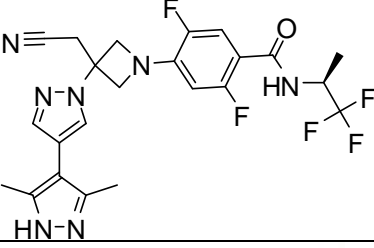
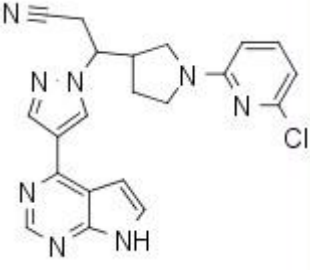
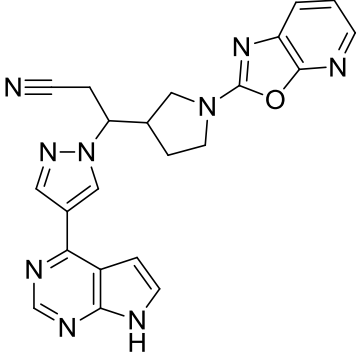
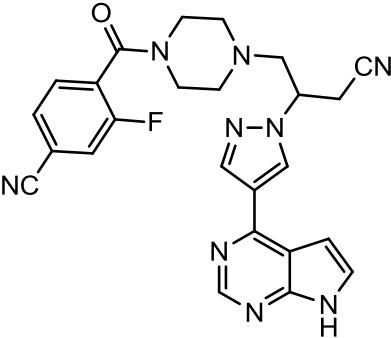
Комбінована терапія

Для лікування захворювань, розладів або патологічних станів, зв'язаних з РІЗК, у комбінації з солями або сполуками за цією заявкою можна використовувати один або більше додаткових фармацевтичних агентів, таких як, наприклад, хімотерапевтичні агенти, протизапальні агенти, стероїди, імунодепресанти, а також інгібітори кіназ Bcr-Abl, Flt-3, EGFR, HER2, JAK (наприклад, JAK1 або JAK2), c-MET, VEGFR, PDGFR, cKit, IGF-1R, RAF, FAK, Akt mTOR, PIM і AKT (наприклад, AKT1, AKT2 або AKT3), такі як, наприклад, описані у WO 2006/056399, або інші агенти, такі як терапевтичні антитіла. Один або більше додаткових фармацевтичних агентів можна вводити пацієнту одночасно або послідовно.

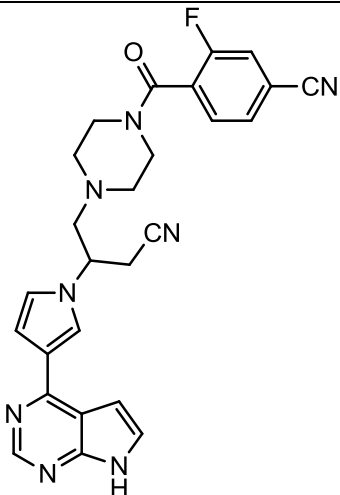
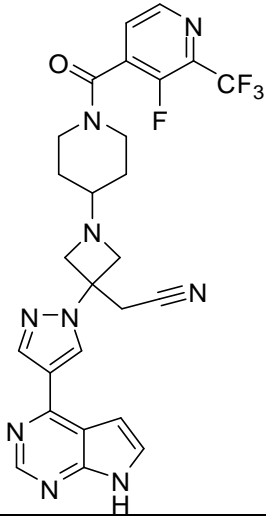
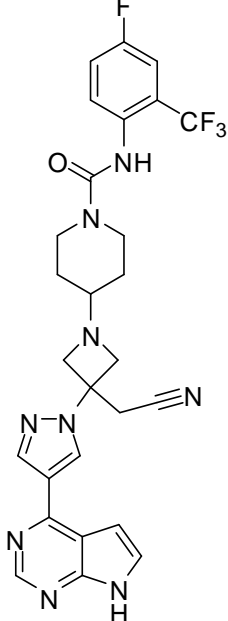
У деяких варіантах реалізації винаходу додатковий фармацевтичний агент являє собою інгібітор JAK1 і/або JAK2. У деяких варіантах реалізації винаходу у цій заявці запропоновано спосіб лікування захворювання, описаного у цьому документі (наприклад, В-клітинного злоякісного новоутворення, такого як дифузна В-клітинна лімфома), у пацієнта, що включає введення пацієнту сполуки, описаної у цьому документі, або її фармацевтично прийнятної солі і інгібітора JAK1 і/або JAK2. В-клітинні злоякісні новоутворення можуть включати ті, що описані у цьому документі і в публікації США № 61/976815, яка подана 8 квітня 2014 р.

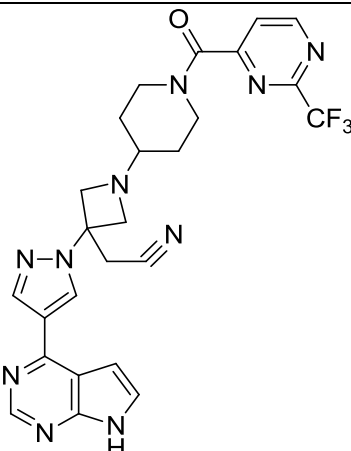
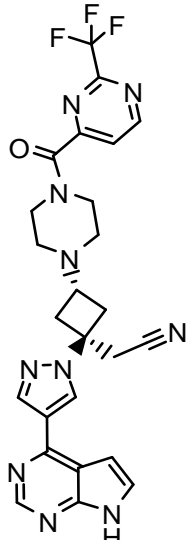
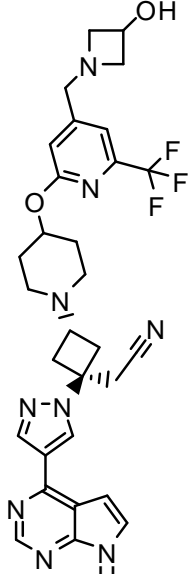
У деяких варіантах реалізації винаходу інгібітор JAK1 і/або JAK2 являє собою сполуку з Таблиці 1 або її фармацевтично прийнятну сіль. Сполуки у Таблиці 1 являють собою селективні інгібітори JAK1 (селективні у порівнянні з JAK2, JAK3 і TYK2). У Таблиці 1 наведені значення IC<sub>50</sub>, отримані способом, наведеним у Аналізі А, при 1 мМ АТФ.

Таблиця 1

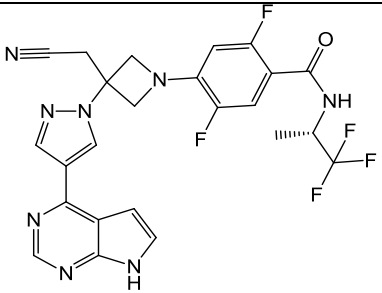
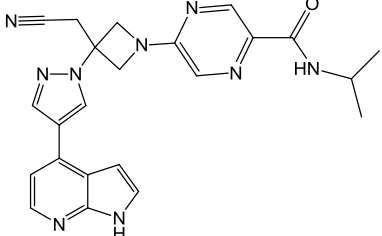
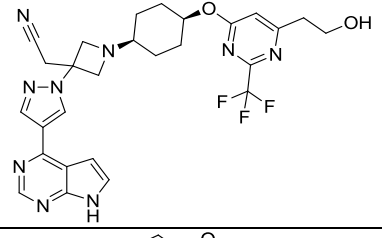
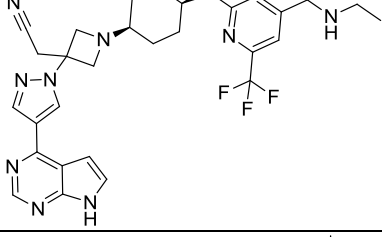
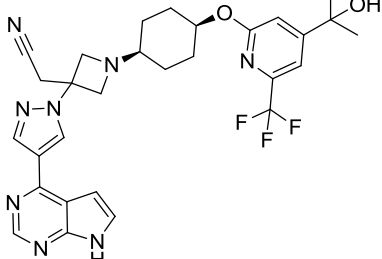
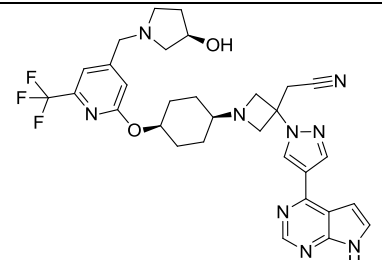
#	Отрим.	Назва	Структура	JAK1 IC <sub>50</sub> (нМ)	JAK2 / JAK1
1	US 2014/0121 198 (приклад 20)	((2R, 5S)-5-{2-[(1R)-1-гідроксиетил]-1H-імідазо[4,5-d]тієно[3,2-b]піридин-1-іл}тетрагідро-2H-піран-2-іл)ацетонітрил		++	>10
2	US 2014/0343 030 (приклад 7)	4-[3-(ціанометил)-3-(3',5'-диметил-1H, 1'H-4,4'-біпіразол-1-іл)азетидин-1-іл]-2,5-дифлуоро-N-[(1S)-2,2,2-трифлуоро-1-метилетил]бензамід		+++	>10
3	US 2010/ 0298334 (приклад 2) <sup>a</sup>	3-[1-(6-хлоропіридин-2-іл)піролідин-3-іл]-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]пропаннітрил		+	>10
4	US 2010/ 0298334 (приклад 13с)	3-(1-[1,3]оксазоло[5,4-b]піридин-2-ілпіролідин-3-іл)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]пропаннітрил		+	>10
5	US 2011/ 0059951 (приклад 12)	4-[(4-{3-ціано-2-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]пропіл}піперазин-1-іл)карбоніл]-3-флуоробензонітрил		+	>10

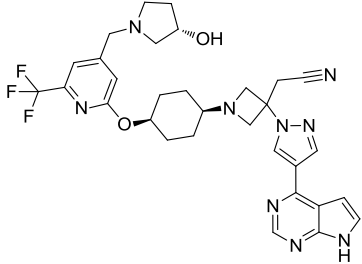
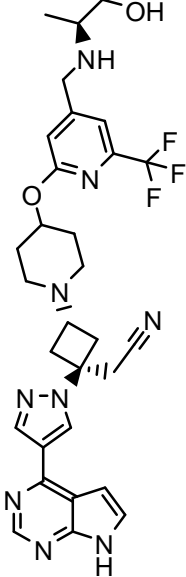
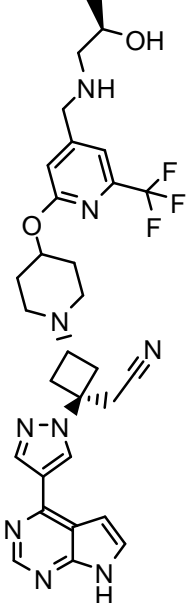


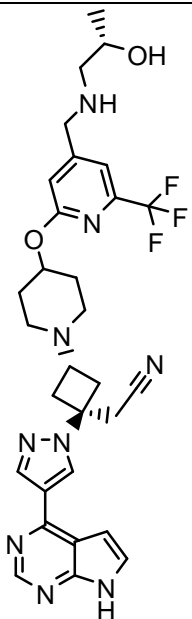
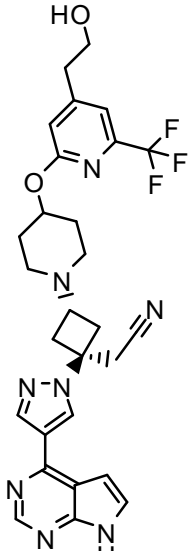
#	Отрим.	Назва	Структура	JAK1 IC <sub>50</sub> (нМ)	JAK2 / JAK1
6	US 2011/ 0059951 (приклад 13)	4-[4-{3-ціано-2-[3-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-пірол-1-іл]пропіл]піперазин-1-іл]карбоніл]-3-флуоробензонітрил		+	>10
7	US 2011/ 0224190 (приклад 1)	{1-[1-[3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиноїл]піперидин-4-іл]-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-3-іл]ацетонітрил		+	>10
8	US 2011/ 0224190 (приклад 154)	4-{3-(ціанометил)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-1-іл]-N-[4-флуоро-2-(трифлуорометил)феніл]піперидин-1-карбоксамід		+	>10

#	Отрим.	Назва	Структура	JAK1 IC <sub>50</sub> (нМ)	JAK2 / JAK1
9	US 2011/ 0224190 (приклад 85)	[3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]-1-(1-{[2-(трифлуорометил)піримідин-4-іл]карбоніл}піперидин-4-іл)азетидин-3-іл]ацетонітрил		+	>10
10	US 2012/ 0149681 (приклад 7b)	[транс-1-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]-3-(4-{[2-(трифлуорометил)піримідин-4-іл]карбоніл}піперазин-1-іл)циклобутил]ацетонітрил		+	>10
11	US 2012/ 0149681 (приклад 157)	{транс-3-(4-{[4-[(3-гідроксiazетидин-1-іл)метил]-6-(трифлуорометил)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.	Назва	Структура	JAK1 IC <sub>50</sub> (нМ)	JAK2 / JAK1
12	US 2012/ 0149681 (приклад 161)	{транс-3-(4-{[4-[(2S)-2-(гідроксиметил)піролідин-1-іл]метил}-6-(трифлуорометил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил		+	>10
13	US 2012/ 0149681 (приклад 162)	{транс-3-(4-{[4-[(2R)-2-(гідроксиметил)піролідин-1-іл]метил}-6-(трифлуорометил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил		+	>10
14	US 2012/ 0149682 (приклад 20) <sup>b</sup>	4-(4-{3-[(диметиламіно)метил]-5-флуорофенокси}піперидин-1-іл)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]бутаннітрил		+	>10
15	US 2013/ 0018034 (приклад 18)	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

#	Отрим.	Назва	Структура	JAK1 IC <sub>50</sub> (нМ)	JAK2 / JAK1
16	US 2013/ 0018034 (приклад 28)	4-{3-(ціанометил)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-2,5-дифлуоро-N-[(1S)-2,2,2-трифлуоро-1-метилетил]бензамід		+	>10
17	US 2013/ 0018034 (приклад 34)	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
18	US 2013/ 0045963 (приклад 45)	{1-(цис-4-{[6-(2-гідроксиетил)-2-(трифлуорометил)піримідин-4-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил		+	>10
19	US 2013/ 0045963 (приклад 65)	{1-(цис-4-{[4-[(етиламіно)метил]-6-(трифлуорометил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил		+	>10
20	US 2013/ 0045963 (приклад 69)	{1-(цис-4-{[4-(1-гідрокси-1-метилетил)-6-(трифлуорометил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил		+	>10
21	US 2013/ 0045963 (приклад 95)	{1-(цис-4-{[4-{[(3R)-3-гідроксипіролідин-1-іл]метил}-6-(трифлуорометил)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.	Назва	Структура	JAK1 IC <sub>50</sub> (нМ)	JAK2 / JAK1
22	US 2013/ 0045963 (приклад 95)	{1-(цис-4-{[4-{[(3S)-3-гідроксипіролідін-1-іл]метил}-6-(трифлуорометил)піридин-2-іл]окси}циклогексил)-3-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил		+	>10
23	US 2014/ 0005166 (приклад 1)	{транс-3-(4-{[4-{[(1S)-2-гідрокси-1-метилетил]аміно}метил]-6-(трифлуорометил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7H-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1H-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил		+	>10
24	US 2014/ 0005166 (приклад 14)	{транс-3-(4-{[4-{[(2R)-2-гідроксипропіл]аміно}метил]-6-(трифлуорометил)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.	Назва	Структура	JAK1 IC <sub>50</sub> (нМ)	JAK2 / JAK1
25	US 2014/ 0005166 (приклад 15)	{транс-3-(4-{[4-({[(2S)-2-гідроксипропіл]аміно}метил)-6-(трифлуорометил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил		+	>10
26	US 2014/ 0005166 (приклад 20)	{транс-3-(4-{[4-(2-гідроксиетил)-6-(трифлуорометил)піридин-2-іл]окси}піперидин-1-іл)-1-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]циклобутил}ацетонітрил		+	>10

+ позначає <10 нМ

++ позначає ≤ 100 нМ

+++ позначає ≤ 300 нМ

<sup>a</sup>Дані для енантіомеру 1

<sup>b</sup>Дані для енантіомеру 2

У деяких варіантах реалізації винаходу інгібітор JAK1 і/або JAK2 являє собою {1-{1-[3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиноіл]піперидин-4-іл}-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрил або його фармацевтично прийнятну сіль.

У деяких варіантах реалізації винаходу інгібітор JAK1 і/або JAK2 являє собою сіль адипінової кислоти {1-{1-[3-флуоро-2-(трифлуорометил)ізонікотиноіл]піперидин-4-іл}-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-3-іл}ацетонітрилу.

У деяких варіантах реалізації винаходу інгібітор JAK1 і/або JAK2 являє собою 4-{3-(ціанометил)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]азетидин-1-іл}-2,5-дифлуоро-N-[(1S)-2,2,2-трифлуоро-1-метилетил]бензамід або його фармацевтично прийнятну сіль.

У деяких варіантах реалізації винаходу інгібітор JAK1 і/або JAK2 вибраний з: (R)-3-[1-(6-

хлоропіридин-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-іл)піролідин-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-флуоробензонітрилу, (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-флуоробензонітрилу, або (R)-4-(4-{3-[(диметиламіно)метил]-5-флуорофенокси}піперидин-1-іл)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]бутаннітрилу, (S)-3-[1-(6-хлоропіридин-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-іл)піролідин-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-флуоробензонітрилу, (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-флуоробензонітрилу, (S)-4-(4-{3-[(диметиламіно)метил]-5-флуорофенокси}піперидин-1-іл)-3-[4-(7Н-піроло[2,3-*d*]піримідин-4-іл)-1Н-піразол-1-іл]бутаннітрилу; і фармацевтично прийнятних солей будь-якої з вищенаведених сполук.

У деяких варіантах реалізації винаходу інгібітор JAK1 і/або JAK2 вибраний зі сполук, наведених в публікації патенту США № 2010/0298334, яка подана 21 травня 2010 р., публікації патенту США № 2011/0059951, яка подана 31 серпня 2010 р., публікації патенту США № 2011/0224190, яка подана 9 березня 2011 р., публікації патенту США № 2012/0149681, яка подана 18 листопада 2011 р., публікації патенту США № 2012/0149682, яка подана 18 листопада 2011 р., публікації патенту США 2013/0018034, яка подана 19 червня 2012 р., публікації патенту США № 2013/0045963, яка подана 17 серпня 2012 р. і публікації патенту США № 2014/0005166, яка подана 17 травня 2013 р., кожна з яких включена до цього документу у повному обсязі шляхом посилання.

Приклади антитіл для застосування у комбінованій терапії включають, але не обмежуючись ними, трастузумаб (наприклад, анти-HER2), ранібізумаб (наприклад, анти-VEGF-A), бевацизумаб (Avastin™, наприклад, анти-VEGF), панітумумаб (наприклад, анти-EGFR), цетуксимаб (наприклад, анти-EGFR), ритуксимаб (Rituxan™, анти-CD20) і антитіла, спрямовані на с-MET.

Один або більше з наступних агентів, які можна використовувати у комбінації з солями або сполуками за цією заявкою, подані у вигляді необмежуючого переліку: цитостатичний агент, цисплатин, доксорубіцин, таксотер, таксол, етопозид, іринотекан, камптостар, топотекан, паклітаксел, доцетаксел, епотилони, тамоксифен, 5-флуорурацил, метотрексат, темозоломід, циклофосфамід, SCH 66336, R115777, L778123, BMS 214662, іресса, тарцева, антитіла проти EGFR, Gleevec™, інтрон, ага-С, адриаміцин, цитоксан, гемцитабін, урамустин, хлорометин, іфосфамід, мелфалан, хлорамбуцил, піпоброман, триетиленмеламін, триетиленіофосфорамін, бусульфтан, кармустин, ломустин, стрептозоцин, дакарбазин, флоксурин, цитарабін, 6-меркаптопурин, 6-тіогуанін, флударабін фосфат, оксалиплатин, лейковірин, ELOXATIN™, пентостатин, вінбластин, вінкрисдин, віндезин, блеомицин, дактиноміцин, даунорубіцин, доксорубіцин, епірубіцин, ідарубіцин, мітраміцин, дезоксикоформіцин, мітоміцин-С, L-аспарагіназа, теніпозид, 17α-етинілестрадіол, діетилстилбестрол, тестостерон, преднізон, флуоксиместерон, дромостанолону пропіонат, тестолактон, мегестролу ацетат, метилпреднізолон, метилтестостерон, преднізолон, триамцинолон, хлоротрианізен, гідроксипрогестерон, аміноглютетимід, естрамустин, медроксипрогестерону ацетат, лейпролід, флутамід, тореміфен, гозерелін, цисплатин, карбоплатин, гідроксисечовина, амсакрин, прокарбазин, мітотан, мітоксантрон, левамизол, навелбен, анастразол, летразол, капецитабін, релоксафін, дролоксафін, гексаметилмеламін, авастин, герцептин, бексар, велкейд, зевалін, трисенокс, кселода, вінорелбін, порфімер, ербітукс, ліпосомальний препарат, тіотепа, алтретамін, мелфалан, трастузумаб, лерозол, фулвестрант, ексеместан, фулвестрант, іфосфамід, ритуксимаб, C225, кампат, клофарабін, кладрибін, афідиколін, ритуксан, сунітиніб, дазатиніб, тезацитабін, Sml1, флударабін, пентостатин, триапін, дидокс, тримідокс, амідокс, 3-AP, MDL-101731, бендамустин (треанда), офатумумаб і GS-1101 (також відомий як CAL-101).

Приклади хіміотерапевтичних агентів включають інгібітори протеасоми (наприклад, бортезоміб), талідомід, ревлімід і ДНК-пошкоджуючі агенти, такі як мелфалан, доксорубіцин, циклофосфамід, вінкрисдин, етопозид, кармустин і таке інше.

Приклади стероїдів включають кортикостероїди, такі як дексаметазон або преднізон.

Приклади інгібіторів Bcr-Abl включають сполуки і їх фармацевтично прийнятні солі типу і виду, наведених у патенті США № 5521184, WO 04/005281 і публікації США № 60/578491.

Приклади придатних інгібіторів Flt-3 включають сполуки і їх фармацевтично прийнятні солі, описані у WO 03/037347, WO 03/099771 і WO 04/046120.

Приклади придатних інгібіторів RAF включають сполуки і їх фармацевтично прийнятні солі, описані у WO 00/09495 і WO 05/028444.

Приклади придатних інгібіторів FAK включають сполуки і їх фармацевтично прийнятні солі, описані у WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595 і WO 01/014402.

Приклади придатних інгібіторів mTOR включають сполуки і їх фармацевтично прийнятні солі, описані у WO 2011/025889.

У деяких варіантах реалізації винаходу солі і сполуки за цим винаходом можна використовувати у комбінації з одним або більше іншими інгібіторами кінази, включаючи імаїніб, особливо для лікування пацієнтів, стійких до імаїнібу або інших інгібіторів кінази.

У деяких варіантах реалізації винаходу солі і сполуки за цим винаходом можна використовувати у комбінації з хіміотерапевтичним агентом при лікуванні раку, такого як множинна мієлома, і вони можуть покращувати відповідь на терапію у порівнянні з відповіддю на хіміотерапевтичний агент окремо, не підсилюючи його токсичну дію. Приклади додаткових фармацевтичних агентів, які використовують при лікуванні множинної мієломи, можуть включати, наприклад і без обмеження, мелфалан, мелфалан і преднізон [МП], доксорубіцин, дексаметазон і велкейд (бортезоміб). Додаткові агенти, які використовують при лікуванні множинної мієломи, включають інгібітори кіназ Bcr-Abl, Flt-3, RAF і FAK. Адитивні або синергетичні ефекти є бажаними результатами об'єднання інгібітора PI3K за цією заявкою з додатковим агентом. Крім того, стійкість клітин множинної мієломи до таких агентів, як дексаметазон, може бути оборотною при лікуванні інгібітором PI3K за цією заявкою. Агенти можна об'єднати зі сполукою за цим винаходом у разову або пролонговану лікарську форму, або агенти можна вводити одночасно або послідовно у вигляді окремих лікарських форм.

У деяких варіантах реалізації винаходу пацієнту вводять кортикостероїд, такий як дексаметазон, у комбінації з солями і сполуками за цим винаходом, при цьому дексаметазон вводять періодично на відміну від неперервного введення.

У деяких додаткових варіантах реалізації винаходу комбінації солей і сполук за цим винаходом з іншими терапевтичними агентами можна вводити пацієнту до, під час і/або після трансплантації кісткового мозку або трансплантації стовбурових клітин.

Фармацевтичні препарати і лікарські форми

Коли сполуки і солі за цим винаходом використовуються як фармацевтичні препарати, їх можна вводити у формі фармацевтичних композицій. Ці композиції можна отримати за допомогою способів, добре відомих в галузі фармації, і їх можна вводити різними способами, в залежності від того, потрібне місцеве або системне лікування, і від ділянки, яку піддають лікуванню. Введення може бути місцевим (в тому числі трансдермальним, епідермальним, через око і в слизові оболонки, включаючи інтраназальну, вагінальну і ректальну доставку), пульмональним (наприклад, шляхом інгаляції або інсуфляції порошків або аерозолей, зокрема за допомогою розпилювача; інтратрахеальним або інтраназальним), пероральним або парентеральним. Парентеральне введення включає внутрішньовенну, внутрішньоартеріальну, підшкірну, внутрішньочеревну, внутрішньом'язову ін'єкцію або інфузію; або інтракраніальне, наприклад інтратекальне або інтравентрикулярне, введення. Парентеральне введення можна здійснювати у формі одиничної болюсної дози або, наприклад, неперервно за допомогою перфузійного насосу. Фармацевтичні композиції і препарати для місцевого введення можуть включати трансдермальні пластирі, мазі, лосьйони, креми, гелі, краплі, супозиторії, спреї, рідини і порошки. Необхідними або бажаними можуть бути традиційні фармацевтичні носії, водні, порошкові або масляні основи, загусники і таке інше.

Цей винахід також включає фармацевтичні композиції, які містять як активний інгредієнт сполуку або сіль за цим винаходом (наприклад, гідрохлоридну сіль сполуки формули I) у комбінації з одним або більше фармацевтично прийнятними носіями (допоміжними речовинами). У деяких варіантах реалізації винаходу композиція придатна для місцевого введення. Для приготування композицій за цим винаходом активний інгредієнт зазвичай змішують з допоміжною речовиною, розбавляють допоміжною речовиною або включають у носій у формі, наприклад, капсули, саше, паперового пакета або іншого контейнера. Коли допоміжна речовина слугує розріджувачем, вона може бути твердою, напівтвердою або рідкою речовиною, яка слугує наповнювачем, носієм або середовищем для активного інгредієнта. Отже, композиції можуть бути у формі таблеток, драже, порошків, пастилок, саше, крохмальних капсул, настоїв, суспензій, емульсій, розчинів, сиропів, аерозолів (твердих або у рідкому середовищі), мазей, що містять, наприклад, до 10 % мас. активної сполуки, м'яких і твердих желатинових капсул, супозиторіїв, стерильних ін'єкційних розчинів і стерильних упакованих порошків.



Для отримання препарату активну сполуку або сіль можна розмелювати, щоб забезпечити потрібний розмір частинок, до об'єднання з іншими інгредієнтами. Якщо активна сполука або сіль практично нерозчинні, їх можна розмелювати до отримання частинок розміром менше 200 меш. Якщо активна сполука або сіль добре розчиняються у воді, розмір частинок можна

регулювати розмелюванням, щоб забезпечити практично однорідний розподіл у препараті, наприклад, приблизно 40 меш.

Сполуки і солі за цим винаходом можна розмелювати, використовуючи відомі способи помелу, такі як мокрий помел, для отримання частинок з розміром, який підходить для формування таблеток і для препаратів іншого типу. Дрібно подрібнені (у формі наночастинок)

препарати солей і сполук за цим винаходом можна отримувати з використанням способів, відомих у цій галузі техніки, див., наприклад, міжнародну заявку № WO 2002/000196.

Деякі приклади придатних допоміжних речовин включають лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбіт, маніт, крохмалі, гуміарабік, фосфат кальцію, альгірати, трагакант, желатин, силікат кальцію, мікрокристалічну целюлозу, полівінілпіролідон, целюлозу, воду, патоку і метилцелюлозу. Препарати також можуть додатково містити: мастильні агенти, такі як тальк, стеарат магнію і мінеральне масло; змочувальні агенти; емульгуючі і суспензуючі агенти; консерванти, такі як метил- і пропілгідроксибензоат; підсолоджувачі; і ароматизатори. Композиції за цим винаходом можуть бути розроблені так, що будуть забезпечувати швидке, сповільнене або відстрочене вивільнення активного інгредієнта після введення пацієнту з використанням способів, відомих у цій галузі техніки.

Композиції можуть бути розроблені у вигляді одиничної лікарської форми, причому кожна доза містить від приблизно 5 до приблизно 1000 мг (1 г), звичайно від приблизно 100 мг до приблизно 500 мг активного інгредієнта. Термін "одиничні лікарські форми" стосується фізично дискретних об'єктів, придатних як разові дозування для людей та інших ссавців, причому кожна одинична доза містить заздалегідь задану кількість активної речовини, розраховану так, щоб вона викликала бажаний терапевтичний ефект, в поєднанні з придатною фармацевтичною допоміжною речовиною.

У деяких варіантах реалізації винаходу композиції за цим винаходом містять від приблизно 5 до приблизно 50 мг активного інгредієнта. Фахівець у цій галузі техніки повинен розуміти, що це охоплює композиції, які містять від приблизно 5 до приблизно 10, від приблизно 10 до приблизно 15, від приблизно 15 до приблизно 20, від приблизно 20 до приблизно 25, від приблизно 25 до приблизно 30, від приблизно 30 до приблизно 35, від приблизно 35 до приблизно 40, від приблизно 40 до приблизно 45 або від приблизно 45 до приблизно 50 мг активного інгредієнта.

У деяких варіантах реалізації винаходу композиції за цим винаходом містять приблизно 2,5, приблизно 5, приблизно 7,5, приблизно 10, приблизно 12,5, приблизно 15, приблизно 17,5, приблизно 20, приблизно 22,5 або приблизно 25 мг активного інгредієнта. У деяких варіантах реалізації винаходу композиції за цим винаходом містять приблизно 5 мг активного інгредієнта. У деяких варіантах реалізації винаходу композиції за цим винаходом містять приблизно 10 мг активного інгредієнта.

Аналогічні дозування можна використовувати для сполук і солей, описаних у цьому документі, у способах і варіантах застосування винаходу.

Активна сполука або сіль може бути ефективною у широкому інтервалі дозувань, і її зазвичай вводять у фармацевтично ефективній кількості. Проте зрозуміло, що кількість сполуки або солі, яка фактично вводиться, звичайно визначається лікарем відповідно до існуючих обставин, в тому числі патологічного стану, яке піддають лікуванню, вибраного шляху введення, конкретної сполуки або солі, яку вводять, віку, ваги і відгуку конкретного пацієнта, тяжкості симптомів пацієнта і такого іншого.

Для отримання твердих композицій, таких як таблетки, головний активний інгредієнт змішують з фармацевтичною допоміжною речовиною, щоб отримати тверду композицію попереднього препарату, яка містить гомогенну суміш сполуки або солі за цією заявкою. Коли вказують, що ці композиції попередніх препаратів гомогенні, то розуміють, що активний інгредієнт зазвичай диспергований рівномірно по всій композиції, так що її легко можна розділити на рівноефективні одиничні лікарські форми, такі як таблетки, драже і капсули. Цей твердий попередній препарат потім розділяють на одиничні лікарські форми наведених вище типів, які містять від, наприклад, приблизно 0,1 до приблизно 1000 мг активного інгредієнта за цією заявкою.

Таблетки або драже за цією заявкою можуть бути покриті або модифіковані іншим способом для отримання лікарської форми, що має перевагу пролонгованої дії. Наприклад, таблетка або драже може містити внутрішній компонент дозування і зовнішній компонент дозування, причому

останній у вигляді оболонки для першого. Два компоненти можуть бути розділені ентросолюбільним шаром, який перешкоджає розкладу у шлунку і дозволяє внутрішньому компоненту в незмінному вигляді попасти до дванадцятипалої кишки або вивільнюватися відстрочено. Для таких ентросолюбільних шарів або покриттів можна використовувати

різноманітні речовини, такі речовини включають ряд полімерних кислот і сумішей полімерних кислот з такими речовинами, як шелак, цетиловий спирт або ацетилцелюлоза.

Рідкі форми, до складу яких можуть бути включені сполуки, солі і композиції за цією заявкою, для перорального введення або введення шляхом ін'єкції включають водні розчини, необхідним чином ароматизовані сиропи, водні або масляні суспензії і ароматизовані емульсії з харчовими оліями, такими як бавовняна олія, сезамова олія, кокосова олія або арахісова олія, а також настої і подібні фармацевтичні носії.

Композиції для інгаляції або інсуфляції включають розчини і суспензії у фармацевтично прийнятних водних або органічних розчинниках або їх сумішах і порошки. Рідкі або тверді композиції можуть містити придатні фармацевтично прийнятні допоміжні речовини, описані вище. У деяких варіантах реалізації винаходу композиції вводять перорально або в дихальні шляхи через ніс для місцевого або системного ефекту. Композиції можна розпилювати, використовуючи інертні гази. Розпилені розчини можна вдихати безпосередньо з пристрою для розпилення, або пристрій для розпилення можна під'єднати до маски для лица, кисневої палатки або дихального апарату з переміжним додатним тиском. Розчини, суспензії або порошкові композиції можна вводити перорально або через ніс, використовуючи пристрої, які доставляють препарат відповідним чином.

Препарати для місцевого застосування можуть містити один або більше традиційних носіїв. У деяких варіантах реалізації винаходу мазі можуть містити воду і один або більше гідрофобних носіїв, обраних з, наприклад, рідкого парафіну, алкілового етеру поліоксietenу, пропіленгліколю, білого вазеліну тощо. Носії для композицій кремів можуть бути на основі води в поєднанні з гліцерином і одним або більше іншими компонентами, наприклад гліцерилмоностеаратом, ПЕГ-гліцерилмоностеаратом і цетилстеариловим спиртом. Гелі можна приготувати, використовуючи ізопропіловий спирт і воду, у комбінації з іншими придатними компонентами, такими як, наприклад, гліцерин, гідроксиетилцелюлоза і таке інше. У деяких варіантах реалізації винаходу препарати для місцевого застосування містять щонайменше приблизно 0,1, щонайменше приблизно 0,25, щонайменше приблизно 0,5, щонайменше приблизно 1, щонайменше приблизно 2 або щонайменше приблизно 5 % мас. сполуки або солі за цим винаходом. Препарати для місцевого застосування можуть бути упаковані у придатні тубики місткістю, наприклад, 100 г, які необов'язково можуть містити інструкцію для лікування вибраного симптому, наприклад псоріазу або іншого патологічного стану шкіри.

Кількість сполуки, солі або композиції, яку вводять пацієнту, буде змінюватися в залежності від того, що вводиться, мети введення, як, наприклад, профілактика або терапія, стану пацієнта, способу введення і такого іншого. Для терапевтичних цілей композиції можна вводити пацієнту, який вже страждає від захворювання, у кількості, достатній для лікування або щонайменше часткового ослаблення симптомів захворювання чи його ускладнень. Ефективні дози будуть залежати від патологічного стану, який піддають лікуванню, а також від висновку лікаря, виходячи з таких факторів, як тяжкість захворювання, вік, вага і загальний стан пацієнта і таке інше.

Композиції, які вводять пацієнту, можуть бути у формі фармацевтичних композицій, описаних вище. Ці композиції можна стерилізувати, використовуючи традиційні способи стерилізації або використовуючи стерилізувальне фільтрування. Водні розчини можна упаковувати для застосування у незмінному вигляді або ліофілізувати, причому ліофілізований препарат об'єднують зі стерильним водним носієм до введення. Значення рН препаратів зі сполуками зазвичай повинні становити від 3 до 11, краще від 5 до 9 і найкраще від 7 до 8. Зрозуміло, що використання деяких з вищезгаданих допоміжних речовин, носіїв або стабілізаторів буде спричиняти утворення фармацевтично прийнятних солей.

Терапевтичне дозування сполуки або солі за цією заявкою може змінюватися, наприклад, згідно з конкретною метою, для якої здійснюється лікування, способом введення сполуки або солі, станом здоров'я і патологічним станом пацієнта і висновком лікаря. Доля або концентрація сполуки або солі за цим винаходом у фармацевтичній композиції може змінюватися в залежності від ряду факторів, зокрема дозування, хімічних характеристик (наприклад, гідрофобності) і способу введення. Наприклад, сполуки і солі за цим винаходом можуть знаходитися у водному фізіологічному буферному розчині, який містить від приблизно 0,1 до приблизно 10 % (маса до об'єму) сполуки, для парентерального введення. Деякі типові дози знаходяться в інтервалах від приблизно 1 мкг/кг до приблизно 1 г/кг маси тіла на добу. У деяких

варіантах реалізації винаходу доза знаходиться в інтервалі від приблизно 0,01 мг/кг до приблизно 100 мг/кг маси тіла на добу. Дозування може залежати від таких факторів, як тип і ступінь прогресування хвороби або розладу, загальний стан здоров'я конкретного пацієнта, відносна біологічна ефективність вибраної сполуки, склад допоміжних речовин і спосіб введення. Ефективні дози можна екстраполювати з кривих залежності "доза-відповідь", отриманих *in vitro*, або із тестових модельних систем на тваринах.

Композиції за цим винаходом можуть додатково містити один або більше додаткових фармацевтичних агентів, таких як хіміотерапевтичний агент, стероїд, протизапальна сполука або імунодепресант, приклади яких наведені у цьому документі.

#### Набори

Ця заявка також включає фармацевтичні набори, ефективні, наприклад, при лікуванні або профілактиці захворювань або розладів, зв'язаних з РІЗК, таких як рак, які включають один або більше контейнерів, що містять фармацевтичну композицію з терапевтично ефективною кількістю сполуки за цим винаходом. Такі набори можуть додатково містити, якщо необхідно, один або більше різноманітних традиційних компонентів для фармацевтичних наборів, таких як, наприклад, контейнери з одним або більше фармацевтично прийнятними носіями, додаткові контейнери тощо, що очевидно для фахівців у цій галузі техніки. Також у набір можна включати інструкції, або у вигляді вкладишу, або у вигляді етикетки, з зазначенням кількостей компонентів, які необхідно прийняти, вказівками щодо прийому і/або вказівками щодо змішування компонентів.

Винахід буде більш детально описано на конкретних прикладах. Наступні приклади слугують для ілюстративних цілей і жодним чином не призначені для обмеження цього винаходу. Фахівці у цій галузі техніки легко знайдуть велику кількість некритичних параметрів, які можна змінити або модифікувати, щоб отримати такі ж самі результати. Встановлено, що гідрохлоридна сіль сполуки формули I і сполуки формули I є інгібіторами РІЗК відповідно до щонайменше одного аналізу, описаного у цьому документі.

#### ПРИКЛАДИ

Винахід буде більш детально описано на конкретних прикладах. Наступні приклади слугують для ілюстративних цілей і жодним чином не призначені для обмеження цього винаходу. Сполуки прикладів або їх солі, що містять один або більше хіральних центрів, були отримані у рацемічній формі або у вигляді сумішей ізомерів, якщо не вказано інше.

#### Загальні методики

Очищення деяких отриманих сполук за допомогою препаративної РХ/МС виконували на системах фракціонування Waters з мас-спектрометричним детектором. Основне обладнання, протоколи та керуюче програмне забезпечення для експлуатації цих систем докладно описані в літературі. Див., наприклад, Blom, "Two-Pump At Column Dilution Configuration for Preparative LC-MS", K. Blom, J. Combi. Chem., 4, 295 (2002); "Optimizing Preparative LC-MS Configurations and Methods for Parallel Synthesis Purification", K. Blom, R. Sparks, J. Doughty, G. Everlof, T. Haque, A. Combs, J. Combi. Chem., 5, 670 (2003); і "Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Combi. Chem., 6, 874-883 (2004). Виділені сполуки зазвичай піддавали аналізу з використанням аналітичної рідинної хроматографії з мас-спектрометричним детектором (РХ/МС) для визначення чистоти при наступних умовах: прилад Agilent серії 1100, РХ/МСД, колонка: Waters Sunfire™ C<sub>18</sub> 5 мкм, 2,1 × 50 мм, буферні розчини: рухома фаза А: 0,025 % ТФО у воді, і рухома фаза В: ацетонітрил; градієнт від 2 % до 80 % В за 3 хвилини зі швидкістю потоку 2,0 мл/хвилина.

Деякі отримані сполуки також розділяли у препаративному масштабі за допомогою обернено-фазової вискоефективної рідинної хроматографії (ОФ-ВЕРХ) з мас-спектрометричним детектором або флеш-хроматографії (силікагель), як вказано у Прикладах. Типові умови препаративної колонкової обернено-фазової вискоефективної рідинної хроматографії (ОФ-ВЕРХ) наведені нижче.

Очищення при рН=2: колонка Waters Sunfire™ C<sub>18</sub> 5 мкм, 19 × 100 мм, елюювання рухомою фазою А: 0,1 % ТФО (трифлуороцтової кислоти) у воді, і рухомою фазою В: ацетонітрил; швидкість потоку становила 30 мл/хвилина, розділяючий градієнт оптимізували для кожної сполуки з використанням протоколу оптимізації методики, специфічної до сполуки, як описано в літературі [див. "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Comb. Chem., 6, 874-883 (2004)]. Зазвичай швидкість потоку, яку використовували для колонки 30 × 100 мм, становила 60 мл/хвилина.

Очищення при рН=10: колонка Waters XBridge C<sub>18</sub> 5 мкм, 19 × 100 мм, елюювання рухомою фазою А: 0,15 % NH<sub>4</sub>OH у воді, і рухомою фазою В: ацетонітрил; швидкість потоку становила 30 мл/хвилина, розділяючий градієнт оптимізували для кожної сполуки з використанням протоколу

оптимізації методики, специфічної до сполуки, як описано в літературі [див. "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Comb. Chem., 6, 874-883 (2004)]. Зазвичай швидкість потоку, яку використовували для колонки 30 × 100 мм, становила 60 мл/хвилину.

Деякі з отриманих сполук також аналізували за допомогою диференційної сканувальної калориметрії (ДСК). Типові параметри обладнання для ДСК є наступними:

прилад для диференційної сканувальної калориметрії TA Instrument, модель Q200 з автоматичним пробовідбирачем: 30-350 °C при 10 °C/хв.; алюмінієвий тигель для зразків з кришкою Т-зери; потік газоподібного азоту зі швидкістю 50 мл/хв.

Прилад для диференційної сканувальної калориметрії (ДСК) 822 виробництва Mettler Toledo: 40 – 340 °C зі швидкістю нагріву 10 °C/хв.

Деякі з отриманих сполук також аналізували за допомогою термогравіметричного аналізу (ТГА). Типові параметри обладнання для ТГА є наступними:

термогравіметричний аналізатор TA Instrument, модель Pyris: діапазон температур від 25 °C до 300 °C при 10 °C/хв.; потік газоподібного азоту для продувки зі швидкістю 60 мл/хв.; керамічний тигель для зразків для ТГА.

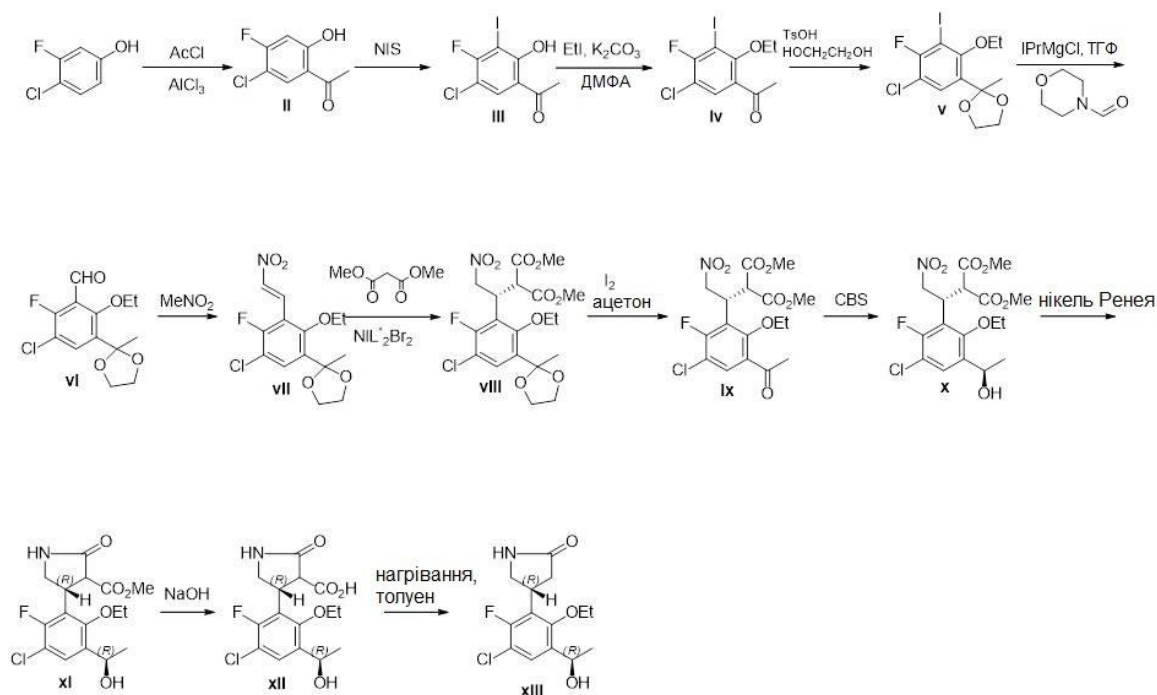
Прилад TA Instruments Q500: діапазон температур від 20 °C до 300 °C при 10 °C/хв.

Деякі з отриманих сполук також аналізували за допомогою порошкової рентгенівської дифракції, ПРД (XRPD). Типові параметри обладнання для ПРД (XRPD) є наступними:

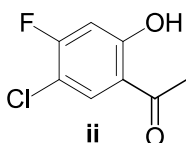
порошковий рентгенівський дифрактометр Bruker D2 PHASER: довжина хвилі рентгенівського випромінювання: 1,05406 Å CuKAl; потужність рентгенівського випромінювання: 30 кВ, 10 мА; порошкоподібний зразок: диспергований у тримачі для зразка з нульовим фоном; загальні умови вимірювань: початковий кут – 5 градусів, граничний кут – 60 градусів, крок – 0,015 градуса, швидкість сканування – 2 градуси/хв.

Порошковий дифрактометр Rigaku Miniflex: Cu при 1,054056 Å з Кβ-фільтром; загальні умови вимірювань: початковий кут – 3 градуси, граничний кут – 45 градусів, крок – 0,02 градуса, швидкість сканування – 2 градуси/хв.

Приклад 1. Синтез (R)-4-(3-хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-((R)-1-гідроксиетил)феніл)піролідин-2-ону

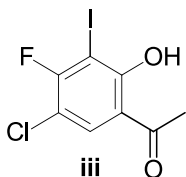


Стадія 1. 1-(5-Хлоро-4-флуоро-2-гідроксифеніл)етанон (ii)



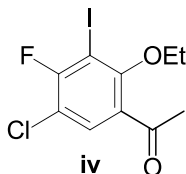
У колбу місткістю 5 л при кімнатній температурі поміщали 4-хлоро-3-флуорофенол (i, 166 г, 1,11 моль) і ацетилхлорид (107 мл, 1,50 моль). Реакційну суміш перемішували, і вона перетворювалася у прозорий розчин у той час, як було зареєстровано, що температура суміші зменшилася до 6 °С. Потім реакційну суміш нагрівали до 60 °С протягом 2 год. До реакційної суміші додавали нітробензен (187,5 мл, 1,82 моль), а потім охолоджували до кімнатної температури. Потім до суміші додавали хлорид алюмінію (160 г, 1,2 ммоль) трьома порціями (50 г, 50 г і 60 г з інтервалами 5 хв.). Після припинення додавання температура суміші збільшилася до 78 °С. Потім реакційну суміш нагрівали при 100-120 °С протягом 3 год., у цей момент ВЕРХ-аналіз показав, що реакція завершена. Потім реакційну суміш охолоджували до 0 °С і додавали суміш ізомерів гексану (0,45 л), етилацетат (0,55 л), а потім повільно при кімнатній температурі додавали 1,0 н. водний розчин хлоридної кислоти (1,0 л). Додавання водного розчину хлоридної кислоти було екзотермічним, і температура суміші збільшилася з 26 °С до 60 °С. Отриману суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 20 хвилин. Шари розділяли і органічний шар послідовно промивали 1,0 н. водним розчином хлоридної кислоти (2 × 600 мл) і водою (400 мл). Потім органічний шар екстрагували 1,0 н. водним розчином гідроксиду натрію (2 × 1,4 л). Об'єднаний основний розчин підкислювали до рН 2 шляхом додавання 12 н. водного розчину хлоридної кислоти доти, поки не переставав утворюватися осад. Отриману тверду речовину відділяли фільтруванням, промивали водою і сушили на фільтр-лійці під вакуумом, що давало сполуку ii у вигляді жовтої твердої речовини (187,4 г, 89,5 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 12,44 (д, J=1,4 Гц, 1H), 7,78 (д, J=8,1 Гц, 1H), 6,77 (д, J=10,2 Гц, 1H), 2,61 (с, 3H).

Стадія 2. 1-(5-Хлоро-4-флуоро-2-гідрокси-3-йодофеніл)етанон (iii)



1-(5-Хлоро-4-флуоро-2-гідроксифеніл)етанон (ii, 100,0 г, 530,3 ммоль) розчиняли в оцтовій кислоті (302 мл) і до розчину додавали N-йодосукцинімід (179,2 г, 796,5 ммоль). Реакційну суміш перемішували при від приблизно 61 °С до приблизно 71 °С протягом 2 год., у цей час ВЕРХ-аналіз показав, що реакція завершена. Потім реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, додавали воду (613 мл) і отриману суспензію перемішували при кімнатній температурі протягом 30 хв. Продукт збирали за допомогою фільтрування і промивали водою, щоб отримати коричневу тверду речовину. Вологий продукт розчиняли в оцтовій кислоті (400 мл) при 60 °С. До розчину додавали (протягом 15 хв.) воду (800 мл) для осадження чистого продукту. Продукт збирали за допомогою фільтрування і промивали водою (100 мл). Продукт сушили на фільтр-лійці під вакуумом протягом 18 год., що давало сполуку iii у вигляді коричневої твердої речовини (164,8 г, вихід 95,0 %). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 13,34 (с, 1H), 8,26 (д, J=8,4 Гц, 1H), 2,68 (с, 3H).

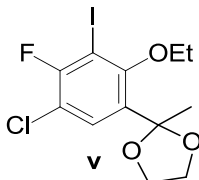
Стадія 3. 1-(5-Хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-йодофеніл)етанон (iv)



У тригорлій круглодонній колбі місткістю 5 л, яка оснащена холодильником і термометром, 1-(5-хлоро-4-флуоро-2-гідрокси-3-йодофеніл)етанон (iii, 280 г, 840 ммоль) розчиняли у N, N-диметилформаміді (600 мл). У процесі розчинення внутрішня температура впала з 19,3 °С до 17,0 °С. До отриманої суміші додавали йодетан (81,2 мл, 1020 ммоль). Потім до реакційної суміші додавали карбонат калію (234 г, 1690 ммоль) протягом 2 хв., у температурі суміші не спостерігали жодних змін. Реакційну суміш нагрівали до 60 °С протягом 3 год., у цей час ВЕРХ-аналіз показав, що реакція завершена. Реакційній суміші давали охолонути до кімнатної температури і продукт збирали за допомогою фільтрування. Тверді речовини розчиняли у

суміші ДХМ (1,0 л), гексану (500 мл) і води (2,1 л). Двофазну систему перемішували при 20 °С протягом 20 хв. Шари розділяли і водний шар екстрагували ДХМ (1,0 л). Об'єднаний органічний шар промивали водою (2 × 250 мл) і насиченим водним розчином хлориду натрію (60 мл). Органічну фазу відділяли, сушили над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували й упарювали у вакуумі досуха, що давало сполуку iv у вигляді жовтої твердої речовини (292 г, вихід 94 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 7,69 (д, J=8,4 Гц, 1H), 3,95 (к, J=7,0 Гц, 2H), 2,62 (с, 3H), 1,49 (т, J=7,0 Гц, 3H). РХ/МС для C<sub>10</sub>H<sub>10</sub>ClFIO<sub>2</sub> (M+H)<sup>+</sup>: m/z=342,9.

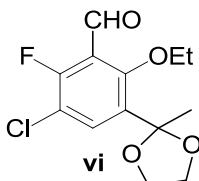
Стадія 4. 2-(5-Хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-йодофеніл)-2-метил-1,3-діоксолан (v)



Розчин 1-(5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-йодофеніл)етанону (iv, 250,0 г, 693,4 ммоль) і 1,2-етандіолу (58,0 мл, 1040 ммоль) у толуені (1,5 л) обробляли моногідратом п-толуенсульфонові кислоти (10,6 г, 55,5 ммоль). На реакційну колбу встановлювали пастку Діна-Старка і суміш нагрівали зі зворотним холодильником протягом 7 год. РХ/МС-аналіз показав, що реакційна суміш містила 8,3 % вихідної речовини і 91,7 % продукту. Реакційну суміш охолоджували до 106 °С і за допомогою шприца додавали додаткову кількість 1,2-етандіолу (11,6 мл, 208 ммоль). Потім реакційну суміш нагрівали зі зворотним холодильником протягом ще 8 год. РХ/МС-аналіз показав, що реакційна суміш містила 3,6 % вихідної речовини і 96,4 % продукту. Реакційну суміш охолоджували до 106 °С і за допомогою шприца додавали додаткову кількість 1,2-етандіолу (7,73 мл, 139 ммоль). Реакційну суміш нагрівали зі зворотним холодильником протягом ще 15,5 год. РХ/МС-аналіз показав, що реакційна суміш містила 2,2 % вихідної речовини і 97,8 % продукту.

Потім реакційну суміш охолоджували до 0 °С і додавали воду (200 мл) і водний насичений розчин NaHCO<sub>3</sub> (300 мл), щоб довести рН суміші до 9. Додавали ДХМ (200 мл) і суміш перемішували протягом 10 хв. Шари розділяли і водний шар екстрагували толуеном (300 мл). Об'єднаний органічний шар послідовно промивали сумішшю води (200 мл) і насиченого водного розчину NaHCO<sub>3</sub> (200 мл), водою (300 мл), насиченим водним розчином хлориду натрію (300 мл), сушили над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували й упарювали у вакуумі досуха, щоб отримати неочищену сполуку v у вигляді світло-коричневої твердої речовини (268 г, вихід 100 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,59 (д, J=8,6 Гц, 1H), 4,26-3,96 (м, 4H), 3,92-3,72 (м, 2H), 1,74 (с, 3H), 1,50 (т, J=7,0 Гц, 3H). РХ/МС для C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>ClFIO<sub>3</sub> (M+H)<sup>+</sup>: m/z=387,0.

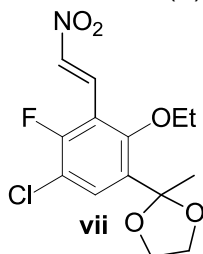
Стадія 5. 3-Хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-(2-метил-1,3-діоксолан-2-іл)бензальдегід (vi)



До розчину 2-(5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-йодофеніл)-2-метил-1,3-діоксолану (v, 135,0 г, 349,2 ммоль) (чистота, визначена за допомогою ВЕРХ, 86,8 % з 5,5 % кетону) у безводному тетрагідрофурани (300 мл) при від приблизно 0 °С до приблизно 3 °С при перемішуванні повільно додавали комплекс ізопропілмагнійхлориду і хлориду літію у ТГФ з концентрацією 1,3 М (322,3 мл, 419,0 ммоль) протягом 1 год. Реакційну суміш перемішували при від приблизно 0 °С до приблизно 5 °С протягом 30 хв., у цей час ВЕРХ-аналіз показав, що реакція заміщення йоду на магній завершена. Потім до реакційної суміші додавали N-формілморфолін (71,1 мл, 700 ммоль) протягом 1 год. при від приблизно 0 °С до приблизно 8 °С. Реакційну суміш перемішували при від приблизно 0 °С до приблизно 8 °С протягом ще 1 год., у цей момент РХ/МС- і ВЕРХ-аналіз показали, що вихідна сполука була витрачена, і спостерігалася значна кількість побічного продукту дейодування, 2-(5-хлоро-2-етокси-4-флуорофеніл)-2-метил-1,3-діоксолану. Реакцію гасили водним розчином лимонної кислоти (120,8 г, 628,6 ммоль) у воді (1,20 л) при 0 °С. Погашену реакційну суміш потім екстрагували EtOAc (2 × 600 мл). Фази легко розділяли. Об'єднаний органічний шар послідовно промивали водою (300 мл) і насиченим водним розчином хлориду натрію (500 мл), сушили над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували й упарювали у вакуумі. Залишок очищали за допомогою колонкової флеш-хроматографії на силікагелі з використанням 0-10 % EtOAc/гексан, що давало неочищений продукт vi у вигляді блідо-жовтої твердої речовини, яка являла собою суміш, що містить необхідний продукт, 3-

хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-(2-метил-1,3-діоксолан-2-іл)бензальдегід (vi, 80 г, 80 %), і 36 мол. % побічного продукту дейодування, 2-(5-хлоро-2-етокси-4-флуорофеніл)-2-метил-1,3-діоксолану, що встановлено за допомогою ЯМР-аналізу. Неочищений продукт vi додатково очищали шляхом утворення відповідного адукту з гідросульфідом натрію.

- 5 Гідросульфід натрію (36,91 г, 354,7 ммоль) розчиняли у воді (74,3 мл, 4121 ммоль). До розчину неочищеного 3-хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-(2-метил-1,3-діоксолан-2-іл)бензальдегіду (vi, 80,00 г, 177,3 ммоль) в етилацетаті (256,0 мл) при перемішуванні однією порцією додавали свіжоприготований розчин гідросульфиду натрію. Розчин перемішували протягом приблизно 10 хв. і спостерігали утворення осаду. Суспензію потім перемішували протягом ще 1 год. Адукт альдегіду з гідросульфідом збирали за допомогою фільтрування, промивали EtOAc і сушили під вакуумом і в атмосфері азоту протягом 20 год., що давало білу тверду речовину (58,2 г, вихід 83,6 %). До адукту альдегіду з гідросульфідом (58,2 г, 148 ммоль), який перемішували в 1,0 М водному розчині гідроксиду натрію (296 мл, 296 ммоль), додавали метил-трет-бутиловий етер (600 мл) (МТБЕ). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 6 хв., що давало прозору двофазну суміш, і перемішування продовжували протягом ще 5 хв. Органічну фазу збирали, а водний шар екстрагували МТБЕ (2 × 300 мл). Об'єднані органічні шари промивали насиченим водним розчином хлориду натрію (300 мл), сушили над безводним Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фільтрували й упарювали у вакуумі досуха, що давало чисту сполуку vi у вигляді білої кристалічної речовини (31,4 г, вихід 73,4 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 10,27 (с, 1H), 7,78 (д, J=8,5 Гц, 1H), 4,10-3,96 (м, 4H), 3,87-3,76 (м, 2H), 1,72 (с, 3H), 1,44 (т, J=7,0 Гц, 3 H). РХ/МС для C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>ClFO<sub>4</sub> (M+H)<sup>+</sup>: m/z=289,0.
- 15 Стадія 6. (E)-2-(5-Хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-(2-нітровініл)феніл)-2-метил-1,3-діоксолан (vii)
- 20



- У 4-горлу круглодонну колбу місткістю 5 л, яка оснащена верхньопривідною мішалкою, мембраною, термopарою, отвором для підведення азоту і холодильником, поміщали 3-хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-(2-метил-1,3-діоксолан-2-іл)бензальдегід (vi, 566,2 г, 1961 ммоль), нітрометан (1060 мл, 19600 ммоль) і льодяну оцтову кислоту (1120 мл). Потім до реакційної суміші додавали бензиламін (53,6 мл, 490 ммоль) і отриману суміш нагрівали до 60 °С, за реакцією слідували за допомогою РХ/МС протягом 5,5 год. Початковий аналіз вихідного рівня виконували при t=0. Реакцію контролювали через 2 год. і 5 год. Через 2 год. залишилось приблизно 20 % вихідного альдегіду, який не прореагував. Через 5 год. профіль реакції був наступним: вихідна сполука vi (< 2 %), проміжний імін (< 4 %), одержана сполука vii (> 93 %) і адукт Міхаеля бензиламіну (не виявлений). Через 5,5 год. реакцію вважали завершеною. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і розбавляли етилацетатом (3,0 л).
- 30 Для обробки суміш розділяли навпіл внаслідок великого об'єму, що був задіяний.
- 35

- Кожну половину обробляли відповідно до наступної методики. Спочатку реакційну суміш промивали 1,5 М розчином NaCl у воді (2 × 1500 мл; після кожного промивання вихідний об'єм водного розчину збільшувався у порівнянні з введеним, що вказувало на видалення оцтової кислоти і/або нітрометану). Потім суміш охолоджували до приблизно 15 °С і промивали 4 М водним розчином NaOH (4 × 300 мл) доти, поки водний екстракт не досяг рН 8-9. При початкових промиваннях водний шар залишався кислотним, але у процесі того, як водний шар ставав трохи основним при наступних промиваннях, суміш нагрівалась і екстракт ставав темним. Шари розділяли. Потім органічний шар після коректування рН промивали 1,5 М розчином хлориду натрію у воді (1000 мл) і водою (500 мл). У процесі цих кінцевих промивань спостерігали утворення емульсії і повільне розділення. Органічну фазу сушили над безводним MgSO<sub>4</sub>, фільтрували і випаровували при зниженому тиску. Отриману янтарну в'язку рідину поміщали під високий вакуум на ніч. В'язка рідина тверднула, було отримано 740 г неочищеного продукту.
- 40
- 45

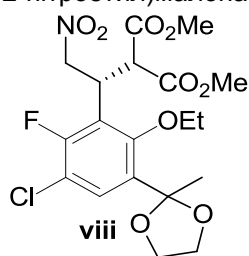
- До неочищеного продукту додавали гептан (1,3 л), отримуючи суспензію, яку нагрівали на водяній бані з температурою 60 °С, поки не розчинились усі тверді речовини. Отриманий розчин фільтрували на дрібнопористому фільтрі у чисту 4-горлу круглодонну колбу місткістю 3 л, яка оснащена верхньопривідною мішалкою і отвором для підведення азоту. Фільтр промивали гептаном (40 мл). Відфільтрований розчин охолоджували до кімнатної температури і
- 50

перемішували протягом 5 год. Спостерігали утворення осаду і суспензію охолоджували до 0 °С на льодяній бані протягом 1 год. Продукт збирали за допомогою фільтрування і отриманий вологий осад на фільтрі промивали 500 мл льодяного гептану. Продукт частково сушили на фільтрі під вакуумом і додатково сушили під високим вакуумом протягом ночі. Фільтрат і промивний розчин упарювали при зниженому тиску і отриманий залишок піддавали очищенню на колонці.

Тверді речовини, отримані при кристалізації у гептані, розчиняли у невеликому об'ємі ДХМ і 20 % EtOAc/гексан і вводили у колонку, яка містила приблизно 1 кг силікагелю. Колонку елюювали сумішшю 20 % EtOAc/гексан. Необхідні фракції об'єднували й упарювали при зниженому тиску, що давало жовту тверду речовину. Тверду речовину сушили під високим вакуумом протягом ночі, що давало 497 г продукту vii у вигляді блідо-жовтої кристалічної речовини.

Концентрований фільтрат і промивну рідину від кристалізації у гептані вводили у ту ж колонку з використанням 20 % EtOAc/гексан. Колонку елюювали з використанням тієї ж системи розчинників для видалення вихідних домішок і залишкової оцтової кислоти. Необхідні фракції об'єднували й упарювали при зниженому тиску, що давало червонувато-янтаре масло. Масло поміщали під високий вакуум і отримували приблизно 220 г неочищеного продукту. Цей неочищений продукт розчиняли у гептані (500 мл) і затравлювали невеликою кількістю першої порції твердого продукту. Суспензію перемішували при кімнатній температурі протягом 16 год., а потім охолоджували на льодяній бані протягом 3 год. Другу порцію продукту збирали за допомогою фільтрування. Продукт сушили під високим вакуумом і отримували 110 г продукту у вигляді жовтої твердої речовини. Загальна кількість продукту vii становила 607 г (вихід 93,3 %).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  7,94 (с, 2H), 7,68 (д,  $J=8,9$  Гц, 1H), 4,07-3,95 (м, 4H), 3,82-3,73 (м, 2H), 1,65 (с, 3H), 1,39 (т,  $J=7,0$  Гц, 3H). РХ/МС для  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{ClFNO}_5$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ :  $m/z=332,0$ .

Стадія 7. (R)-Диметил-2-(1-(3-хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-(2-метил-1,3-діоксолан-2-іл)феніл)-2-нітроетил)малонат (viii)



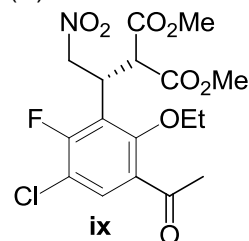
У круглодонну колбу місткістю 2 л з магнітною мішалкою і отвором для підведення азоту, яка містить (E)-2-(5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-(2-нітровініл)феніл)-2-метил-1,3-діоксолан (vii, 352,8 г, 1064 ммоль), додавали безводний тетрагідрофуран (1,06 л) і диметилмалонат (146 мл, 1280 ммоль). До реакційної суміші додавали (1S, 2S)-N, N'-добензилциклогексан-1,2-діамінодибромонікель (каталізатор Еванса, 21,4 г, 26,6 ммоль). Реакційна суміш ставала коричневого кольору і спостерігалось утворення гомогенного розчину. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18,5 годин. Через 18,5 год. реакційну суміш аналізували за допомогою ВЕРХ. Вихідна речовина, яка не прореагувала, сполука vii, була присутня у кількості 2 %. Реакційну суміш упарювали при зниженому тиску для видалення ТГФ і отриманий залишок очищали за допомогою флеш-хроматографії (для введення використовували ДХМ/суміш ізомерів гексану, для цієї колонки використовували 1422 г силікагелю, і колонку елюювали сумішшю 10 %-20 % EtOAc/гексан; за фракціями з колонки спостерігали за допомогою ТШХ, використовуючи 30 % EtOAc/гексан як елюент, і візуалізували за допомогою УФ). Необхідні фракції об'єднували й упарювали при зниженому тиску. Залишок сушили під високим вакуумом. З часом в'язка рідина перетворювалась на світло-жовті тверді речовини (503,3 г), відбирали зразок для хірального ВЕРХ-аналізу. Хіральна чистота становила 95,7 % потрібного (R)-енантіомеру і 4,3 % небажаного (S)-енантіомеру. До твердих речовин додавали етанол (1,0 л) і суміш нагрівали на водяній бані з температурою 60 °С, поки не розчинились усі тверді речовини. Розчин фільтрували на дрібнопористому фільтрі з використанням фільтрувального паперу № 1 Whatman у чисту 4-горлу круглодонну колбу місткістю 3 л. Відфільтрований розчин охолоджували до кімнатної температури при перемішуванні. Після 30 хв. перемішування спостерігали утворення кристалів і суспензію перемішували при кімнатній температурі протягом 16 год. Суспензію охолоджували на льодяній бані протягом 1 год. Продукт збирали за допомогою фільтрування і отриманий осад на фільтрі промивали льодяним етанолом (500 мл) і частково сушили на фільтрі. Тверді речовини сушили під високим вакуумом, що давало потрібний продукт viii (377,5 г) у вигляді білих кристалічних



речовин. Хіральна чистота, визначена за допомогою хіральної ВЕРХ, становила 100 % потрібного (R)-енантіомеру і 0 % небажаного (S)-енантіомеру.

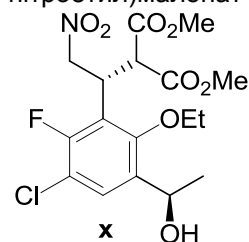
Фільтрат і промивну рідину об'єднували й упарювали при зниженому тиску, отримуючи масло (118,9 г). Масло розчиняли в етанолі (475,0 мл) (4 мл/г) і затравлювали першою порцією кристалів. Отриману суспензію перемішували при кімнатній температурі протягом 16 год., а потім охолоджували на льодяній бані протягом 5,5 год. Другу порцію продукту виділяли за допомогою фільтрування і частково сушили на фільтрі. Її сушили під високим вакуумом, що давало другу порцію продукту (31,0 г). Хіральна чистота, визначена за допомогою хіральної ВЕРХ, становила 98,3 % потрібного (R)-енантіомеру і 1,7 % небажаного (S)-енантіомеру. Об'єднаний вихід першої і другої порцій продукту становив 408,5 г (вихід 82,8 %).  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  7,51 (д,  $J=9,0$  Гц, 1H), 5,20-4,81 (м, 2H), 4,62 (м, 1H), 4,14-4,03 (м, 2H), 4,03-3,97 (м, 2H), 3,95-3,88 (м, 1H), 3,84-3,72 (м, 2H), 3,70 (с, 3H), 3,38 (с, 3H), 1,61 (с, 3H), 1,39 (т,  $J=6,9$  Гц, 3H). РХ/МС для  $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{ClFO}_9$  ( $M+H$ ) $^+$ :  $m/z=463,9$ .

Стадія 8. (R)-Диметил-2-(1-(3-ацетил-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)-2-нітроетил)малонат



До розчину (R)-диметил-2-(1-(3-хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-(2-метил-1,3-діоксолан-2-іл)феніл)-2-нітроетил)малонату (viii, 244,0 г, 526,0 ммоль) в ацетоні (1,2 л) у тригорлій круглодонній колбі місткістю 5 л, яка оснащена механічною мішалкою, при перемішуванні додавали йод (13,4 г, 52,6 ммоль) при кімнатній температурі. Отриманий коричневий розчин нагрівали при 50 °С на водяній бані протягом 30 хв. у цей момент РХ/МС-аналіз показав завершення реакції. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, а потім гасили розчином тіосульфату натрію (17,0 г, 108 ммоль) у воді (160 мл), що давало блідо-жовтий прозорий розчин. У цей момент у погашений розчин додавали додаткову кількість води (1,2 л) і отриману білу суспензію перемішували при кімнатній температурі протягом 1 год. Потім тверду речовину збирали за допомогою фільтрування і повторно розчиняли у ацетоні (1,4 л) при 40 °С. Розчин охолоджували до кімнатної температури, а потім додавали додаткову кількість води (1,4 л). Отриману білу суспензію перемішували при кімнатній температурі протягом 1 год. Тверду речовину збирали за допомогою фільтрування і промивали водою (3 × 100 мл). Твердий продукт сушили на фільтр-лійці під вакуумом у потоці азоту протягом 46 год., що давало сполуку ix у вигляді білої твердої речовини (212 г, вихід 96 %).  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,54 (д,  $J=8,6$  Гц, 1H), 5,09-4,67 (м, 3H), 4,10-3,83 (м, 3H), 3,90 (с, 3H), 3,57 (с, 3H), 2,57 (с, 3H), 1,46 (т,  $J=7,0$  Гц, 3H). РХ/МС для  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{ClFNO}_8$  ( $M+H$ ) $^+$ :  $m/z=420,1$ .

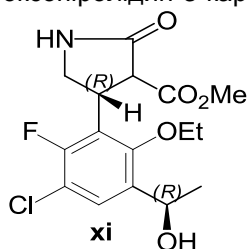
Стадія 9. Диметил-2-((R)-1-(3-хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-((R)-1-гідроксиетил)феніл)-2-нітроетил)малонат (x)



До розчину (3aS)-1-метил-3,3-дифенілтетрагідро-3H-піроло[1,2-c][1,3,2]оксазаборолу, ((S)-MeCBS, 16,39 г, 59,12 ммоль, 0,1 екв.) у безводному ТГФ (100 мл) у круглодонній колбі місткістю 5 л при перемішуванні при кімнатній температурі додавали 1,0 М розчин комплексу боран-ТГФ у ТГФ (591 мл, 591 ммоль, 1 екв.), а потім етерат трифлуориду бору (3,75 мл, 29,6 ммоль, 0,05 екв.). Отриманий розчин перемішували при кімнатній температурі протягом 30 хв. Потім по краплях за допомогою крапельної лійки протягом 60 хв. додавали розчин диметил-[(1R)-1-(3-ацетил-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)-2-нітроетил]малонату (ix, 253,0 г, 591,2 ммоль) у безводному ТГФ (1,7 л). Колбу, яка містила кетон ix, промивали безводним ТГФ (135 мл) і розчин по краплях додавали за допомогою крапельної лійки до реакційної суміші. Отриманий розчин перемішували при кімнатній температурі протягом ще 10 хв., у цей момент РХ/МС-аналіз

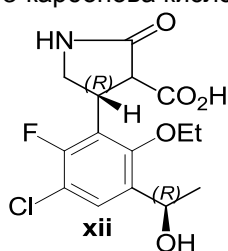
показав повне перетворення кетону у спирт. Реакційну суміш гасили шляхом додавання по краплях метанолу (71,8 мл, 1770 ммоль) при 0 °С. Погашену реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 15 хв. до того, як її упарювали під вакуумом, що давало неочищений продукт. Неочищені продукти з цієї порції й аналогічної порції (з використанням 200 г вихідної речовини) об'єднували й очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелю з використанням 0-5 % MeOH/ДХМ як елюенту, що давало сполуку х у вигляді білої твердої речовини (437 г, вихід 97,9 %). <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,50 (д, J=8,8 Гц, 1H), 5,13 (к, J=6,3 Гц, 1H), 5,01-4,65 (м, 3H), 4,14-3,89 (м, 3H), 3,79 (с, 3H), 3,57 (с, 3H), 1,57-1,42 (м, 6H). РХ/МС для C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>ClFNO<sub>8</sub> (M+Na)<sup>+</sup>: m/z=444,0.

Стадія 10. (4R)-Метил-4-(3-хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-((R)-1-гідроксиетил)феніл)-2-оксопіролідин-3-карбоксилат (xi)



3-горлу круглодонну колбу Мортон, яка містила диметил-((1R)-1-{3-хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-[(1R)-1-гідроксиетил]феніл}-2-нітроетил)малонат (х, 100,0 г, 237,1 ммоль) у тетрагідрофурані (800,0 мл) і нікель Ренея (120 г після видалення води за допомогою піпетки), оснащували холодильником, механічною мішалкою (скляний стрижень для перемішування і тефлонова опора) і двома кулями, заповненими газоподібним воднем (продування після вакуумування). Колбу поміщали на масляну баню при 65 °С. Суміш енергійно перемішували протягом 16 год., а кулі періодично знімали і знову наповнювали воднем. Відбирали зразок і аналізували за допомогою ВЕРХ. Продукт, сполука xi, був присутній у кількості 83 %. У реакційній суміші було 7,8 % не замкненого у цикл аміну і 5,5 % гідроксиламіну як побічні продукти. Каталізатор відфільтровували (необхідно слідкувати за тим, щоб нікель Ренея не висихав і не зазнавав впливу повітря). Фільтрат випаровували досуха, що давало 91 г неочищеного продукту у вигляді білої піни. Неочищений продукт (91 г, чистота 82,6 % за площею) об'єднували з такою ж порцією неочищеного продукту (93 г, чистота 72,8 %) для очищення. Об'єднаний неочищений продукт (184 г) очищали за допомогою колонкової хроматографії на силікагелі (EtOAc/гексан як елюент), що давало сполуку xi (101,1 г, чистота, визначена за допомогою ВЕРХ, 93 %, вихід неочищеного продукту 59,3 %). Неочищену речовину використовували на наступній стадії без додаткового очищення. РХ/МС для C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>ClFNO<sub>5</sub> (M+H)<sup>+</sup>: m/z=360,0.

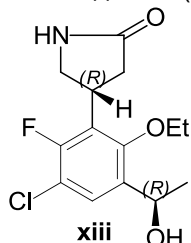
Стадія 11. (4R)-4-(3-Хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-((R)-1-гідроксиетил)феніл)-2-оксопіролідин-3-карбонова кислота (xii)



У 4-горлу круглодонну колбу місткістю 5 л, оснащену верхньопривідною мішалкою і отвором для підведення азоту, поміщали розчин (4R)-метил-4-(3-хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-((R)-1-гідроксиетил)феніл)-2-оксопіролідин-3-карбоксилату (xi, 268 г, 581 ммоль) у тетрагідрофурані (2150 мл, 26500 ммоль). До розчину додавали 1,0 М розчин гідроксиду натрію у воді (1420 мл, 1420 ммоль). Отриманий каламутний розчин ставав прозорим протягом 1 хв. Реакційну суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі. Реакційну суміш аналізували за допомогою РХ/МС через 15 год., і реакцію вважали завершеною, оскільки не спостерігалось вихідної речовини. Реакційну суміш охолоджували на льодяній бані до внутрішньої температури 9,5 °С і суміш підкислювали до рН 1-2 шляхом додавання 6,0 М водного розчину хлоридної кислоти (237,0 мл, 1422 ммоль) за допомогою крапельної лійки протягом 30 хв. Реакційну суміш розділяли навпіл і кожну половину екстрагували етилацетатом (2 × 1 л). Об'єднані водні шари додатково екстрагували етилацетатом (500 мл). Два органічні шари промивали насиченим водним розчином хлориду натрію (20 % мас. NaCl/ вода, 2 × 1000 мл), сушили над безводним

MgSO<sub>4</sub>, фільтрували й упарювали, що давало неочищену проміжну кислоту xii у вигляді жовтуватої піни, яку використовували безпосередньо на наступній стадії реакції. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12,68 (ш. с., 1H), 8,26 (с, 1H), 7,52 (д, J=8,0 Гц, 1H), 5,27 (ш. с., 1H), 4,90 (к, J=6,3 Гц, 1H), 4,28 (к, J=8,8 Гц, 1H), 3,92-3,81 (м, 1H), 3,76-3,65 (м, 1H), 3,57 (т, J=9,6 Гц, 1H), 3,46 (д, J=9,4 Гц, 1H), 3,23 (к, J=9,5 Гц, 1H), 1,33 (т, J=6,9 Гц, 3H), 1,28 (д, J=6,4 Гц, 3H). РХ/МС для C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>ClFNNaO<sub>5</sub> (M+Na)<sup>+</sup>: m/z=368,0.

Стадія 12. (R)-4-(3-Хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-((R)-1-гідроксиетил)феніл)піролідин-2-он (xiii)

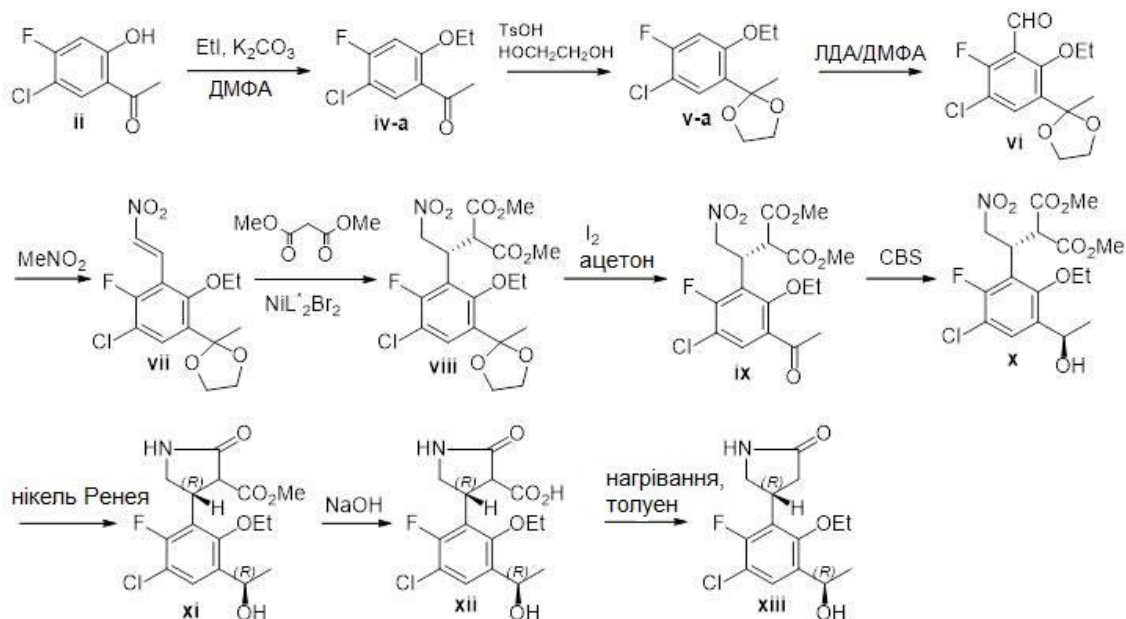


Неочищену сполуку xii розчиняли у 1,4-діоксані (976 мл) і толуені (976 мл) і отриманий жовтий розчин нагрівали при 100 °С. У процесі реакції колір розчину ставав коричневим. Зразки відбирали в моменти часу: 1 год., 2 год. і 2,5 год. ВЕРХ-аналіз показав, що кислота, сполука 12, була присутня у кількості 0,38 %, а необхідний продукт, сполука xiii, у кількості 78,8 %. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і фільтрували на дрібнопористому фільтрі у чисту круглодонну колбу місткістю 3 л. Потім розчин упарювали при зниженому тиску і отриманий залишок поміщали під високий вакуум, що давало коричневу піну (254 г).

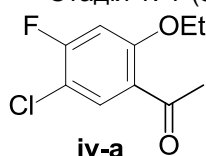
До коричневої в'язкої рідини додавали ацетонітрил (350 мл) і нагрівали на водяній бані при 65 °С до розчинення. Розчин охолоджували до кімнатної температури і перемішували протягом 16 год. Тверді речовини відділяли від розчину. Отриману суспензію охолоджували на льодяній бані протягом 1 год. Продукт збирали за допомогою фільтрування і отриманий осад на фільтрі промивали 400 мл льодяного ацетонітрилу. Тверді речовини, певно, гігроскопічні. Тверду речовину розчиняли у ДХМ (2,0 л) й упарювали до в'язкої рідини, яку поміщали під високий вакуум, що давало сполуку xiii у вигляді білої піни (106,4 г).

Фільтрат упарювали до темної в'язкої рідини (приблизно 120 г), яку очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонки з силікагелю 4 × 330 г, вводили з використанням ДХМ, елюювали сумішшю від 50 % до 100 % EtOAc/гексан, контролювали за допомогою ТШХ з використанням 100 % EtOAc як елюенту). Фракції, отримані при хроматографуванні, упарювали при зниженому тиску і поміщали під високий вакуум, що давало світло-коричневу піну (54,4 г). До піни додавали МТБЕ (400 мл) і MeOH (10 мл) і нагрівали на водяній бані при 56 °С протягом 15 хвилин, залишилися деяка кількість твердих речовин. Суспензію охолоджували до кімнатної температури при перемішуванні. Суспензію фільтрували для видалення нерозчинних речовин. Фільтрат упарювали до в'язкої рідини і поміщали під високий вакуум, що давало піну. До піни додавали ацетонітрил (72 мл, 1,5 мл/г) і нагрівали на водяній бані при 60 °С протягом 15 хвилин, поки розчин не ставав гомогенним. Розчин охолоджували до кімнатної температури при перемішуванні, тверді речовини осаджувалися з розчину, і він ставав дуже густим. Додавали додаткову кількість ацетонітрилу (24 мл) так, щоб розведення становило 2 мл/г. Суспензію перемішували при кімнатній температурі протягом 16 год., а потім охолоджували на льодяній бані протягом 1 години. Продукт збирали за допомогою фільтрування і промивали ацетонітрилом. Сполуку xiii (25 г) отримували у вигляді другої порції. Усього було отримано 131,4 г сполуки xiii з виходом 74,9 % зі сполуки xi. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,83 (с, 1H), 7,47 (д, J=8,7 Гц, 1H), 5,24 (д, J=4,5 Гц, 1H), 4,96-4,85 (м, 1H), 4,08-3,92 (м, 1H), 3,80 (кт, J=6,9, 3,5 Гц, 2H), 3,61-3,51 (м, 1H), 3,25 (т, J=9,1 Гц, 1H), 2,61-2,50 (м, 1H), 2,35-2,26 (м, 1H), 1,33 (т, J=7,0 Гц, 3H), 1,27 (д, J=6,4 Гц, 3H). РХ/МС для C<sub>14</sub>H<sub>18</sub>ClFNO<sub>3</sub> (M+H)<sup>+</sup>: m/z=302,0.

Приклад 2. Альтернативний синтез (R)-4-(3-хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-((R)-1-гідроксиетил)феніл)піролідин-2-ону

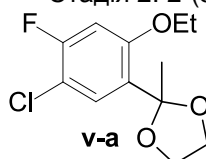


Стадія 1. 1-(5-Хлоро-2-етокси-4-флуорофеніл)етанон (iv-a)



- 5 1-(5-Хлоро-4-флуоро-2-гідроксифеніл)етанон (сполука ii з прикладу 1, стадія 1, 1350 г, 7160 ммоль), N, N-диметилформамід (3,32 л), йодетан (1340 г, 8590 ммоль) і карбонат калію (1980 г, 14300 ммоль) змішували разом і перемішували при кімнатній температурі протягом 45 хв. Температура суміші підвищилася з 22 °С до 55 °С. Реакційну суміш нагрівали до 60 °С протягом 1 год. (температура суміші досягла 67 °С через 30 хв., а потім впала до 60 °С). ВЕРХ-аналіз показав, що була використана уся вихідна речовина. Однією порцією додавали воду (10 л) (збовтування припиниться, якщо воду додавати порціями). Отриману суспензію перемішували при кімнатній температурі протягом 30 хв. Продукт збирали за допомогою фільтрування і промивали водою (3 л). Продукт сушили на фільтрі під вакуумом протягом 5 днів, що давало сполуку **iv-a** у вигляді жовтуватого-коричневої твердої речовини (1418 г).  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  7,69 (д,  $J=8,9$  Гц, 1H), 7,30 (д,  $J=11,6$  Гц, 1H), 4,15 (к,  $J=7,0$  Гц, 2H), 2,51 (с, 3H), 1,37 (т,  $J=7,0$  Гц, 3H).

Стадія 2. 2-(5-Хлоро-2-етокси-4-флуорофеніл)-2-метил-1,3-діоксолан (v-a)



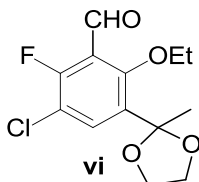
- 20 Розчин 1-(5-хлоро-2-етокси-4-флуорофеніл)етанону (**iv-a**, 1481,0 г, 6836,3 ммоль) розчиняли у толуені (6 л). До розчину додавали 1,2-етандіол (953 мл, 17100 ммоль) і моногідрат п-толуенсульфонові кислоти (104 г, 547 ммоль). Реакційну суміш нагрівали зі зворотним холодильником при 104-110 °С протягом 17,4 год. з використанням пастки Діна-Старка для видалення води. ВЕРХ-аналіз показав, що залишилося 37 % вихідної речовини, що не прореагувала. Відганяли приблизно 600 мл дистиляту і реакційну суміш нагрівали зі зворотним холодильником протягом ще 5 год. (усього 22 год.). ВЕРХ-аналіз показав, що реакція більше не протікала.

- 30 Припустили, що залишкова кількість  $\text{K}_2\text{CO}_3$  у вихідній сполуці **iv-a** може зупиняти реакцію. Тому реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і промивали 1 н. водним розчином хлоридної кислоти (3  $\times$  6,66 л). Після промивання водним розчином кислоти органічний шар переносили назад у реакційну посудину. Додавали 1,2-етандіол (381 мл, 6840 ммоль) і моногідрат п-толуенсульфонові кислоти (104 г, 547 ммоль) і реакційну суміш

нагрівали зі зворотним холодильником протягом 16 год. ВЕРХ-аналіз показав, що залишилося приблизно 20 % вихідної речовини, що не прореагувала. Відганяли приблизно 100 мл дистиляту. Додавали 1,2-етандіол (380 мл, 6800 ммоль) і кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 6 год. (усього 22 год.). ВЕРХ показала, що залишилося 7 % вихідної речовини, що не прореагувала. Відганяли приблизно 125 мл дистиляту. Реакційну суміш нагрівали зі зворотним холодильником протягом 6 год. (усього 28 год.). ВЕРХ показала, що залишилося 5,4 % вихідної речовини, що не прореагувала. Відганяли приблизно 125 мл дистиляту. Реакційну суміш нагрівали зі зворотним холодильником протягом ще 7 год. ВЕРХ-аналіз показав, що залишилося 3,5 % вихідної речовини, що не прореагувала. Відганяли приблизно 80 мл дистиляту. У цей момент реакцію вважали завершеною.

Реакційну суміш промивали 1 н. водним розчином хлориду натрію (2 × 5,5 л). Перший основний промивний розчин екстрагували толуеном (2,1 л). Об'єднаний толуеновий розчин промивали водою (7 л) й упарювали, що давало 2153 г темного масла. ВЕРХ-аналіз показав, що чистота продукту становила 93,8 % з 1,90 % вихідної речовини і 0,79 % продукту дейодування. <sup>1</sup>H ЯМР-аналіз показав, що в продукті залишилося приблизно 0,5 еквівалента толуену (приблизно 256 г). Скоректований вихід сполуки v-а становив 88,0 %. <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 7,51 (д, J=8,8 Гц, 1H), 6,70 (д, J=11,0 Гц, 1H), 4,17-3,92 (м, 4H), 3,91-3,80 (м, 2H), 1,75 (с, 3H), 1,46 (т, J=7,0 Гц, 3H).

Стадія 3. 3-Хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-(2-метил-1,3-діоксолан-2-іл)бензальдегід (vi)



У висушену в печі 4-горлу круглодонну колбу місткістю 3 л, яка оснащена верхньопривідною мішалкою, крапельною лійкою місткістю 500 мл, отвором для підведення азоту, мембраною і термopарою, поміщали N, N-діізопропіламін (87,8 мл, 626 ммоль) і безводний тетрагідрофуран (1090 мл, 13500 ммоль). Цей розчин охолоджували до -72 °C і до нього додавали 2,5 М н-бутиллітію у суміші ізомерів гексану (261 мл, 652 ммоль). Розчин н-бутиллітію додавали протягом 18 хв. Максимальна внутрішня температура у процесі додавання становила -65 °C. Баню, яка містила сухий лід і ацетон, заміняли на баню, яка містила лід та воду, і реакційну суміш нагрівали до від приблизно -5 °C до приблизно 0 °C і витримували протягом 15 хв. Потім реакційну суміш охолоджували до -74,5 °C.

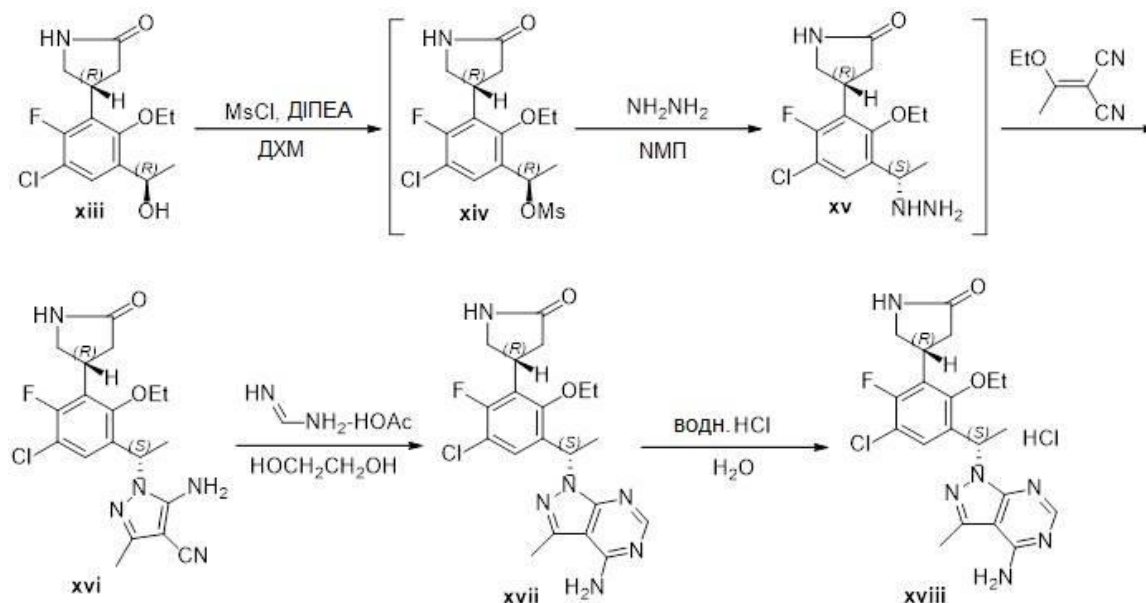
В окрему круглодонну колбу місткістю 1 л, яка містить 2-(5-хлоро-2-етокси-4-флуорофеніл)-2-метил-1,3-діоксолан (v-а, 136,1 г, 522,1 ммоль), додавали безводний тетрагідрофуран (456 мл) для розчинення твердих речовин. Отриманий розчин охолоджували на льодяній бані до приблизно 0 °C. Розчин, який містить сполуку v-а, переносили у розчин ЛДА протягом 40 хвилин за допомогою голки, при цьому підтримуючи температуру реакції між -70 °C і -72,5 °C. Реакційна суміш ставала жовтою суспензією, і її перемішували протягом 37 хв. при -74 °C. Однією порцією за допомогою шприца додавали N, N-диметилформамід (60,6 мл, 783 ммоль), це додавання спричиняло виділення тепла і підвищення температури від -74,5 °C до -66,5 °C. Реакцію контролювали за допомогою ВЕРХ через 90 хв. після додавання. Вихідна речовина була присутня у кількості 2,9 %. Охолоджувальну баню забирали і реакційну суміш нагрівали до температури навколишнього середовища. Через 3 год. відбирали зразок реакційної суміші і його аналізували, вихідна речовина, що не прореагувала, була присутня у кількості 1,5 %. Реакцію вважали завершеною, і гасили шляхом додавання реакційного розчину у льодяну воду (1,4 л), і розбавляли етилацетатом (1,5 л). Водний шар екстрагували етилацетатом (1,5 л), а органічні шари об'єднували, і промивали насиченим розчином хлориду натрію (20 % мас. водн. NaCl, 2 × 600 мл), і сушили над безводним MgSO<sub>4</sub>. MgSO<sub>4</sub> видаляли фільтруванням і фільтрат упарювали до масла, в якому була деяка кількість твердих речовин. Залишок розчиняли у метиленхлориді і вносили у шар силікагелю (586 г). Шар силікагелю елюювали сумішшю 2 % EtOAc/ДХМ (слідкували за допомогою ТШХ з використанням 100 % ДХМ як елюенту). Необхідні фракції об'єднували й упарювали при зниженому тиску, що давало світло-жовте масло. Масло поміщали під високий вакуум, що давало сполуку vi у вигляді жовтої твердої речовини (146,5 г, вихід 95,1 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 10,27 (с, 1H), 7,78 (д, J=8,5 Гц, 1H), 4,10-3,96 (м, 4H), 3,87-3,76 (м, 2H), 1,72 (с, 3H), 1,44 (т, J=7,0 Гц, 3H). PX/МС для C<sub>13</sub>H<sub>15</sub>ClFO<sub>4</sub> (M+H)<sup>+</sup>: m/z=289,1.

Стадії 4-10. (R)-4-(3-Хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-((R)-1-гідроксиетил)феніл)піролідин-2-он (xiii)

Цільову сполуку отримували з використанням методик, аналогічних описаним у Прикладі 1,

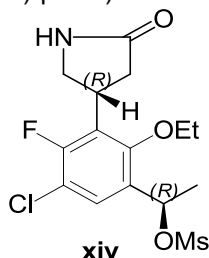
стадії 6-12.

Приклад 3. (R)-4-(3-((S)-1-(4-Аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідін-2-ону гідрохлорид



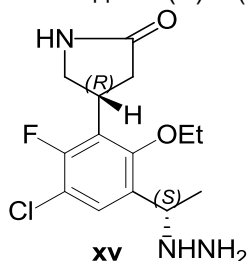
5

Стадія 1. (R)-1-(5-Хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-((R)-5-оксопіролідін-3-іл)феніл)етилметансульфонат (xiv)



10 (R)-4-(3-Хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-((R)-1-гідроксиетил)феніл)піролідін-2-он (xiii, 172,0 г, 570,0 ммоль) (складається з 147 г, 99,83 %: хіральна чистота 0,09 %, хімічна чистота 99,33 %; і 25 г, 87,46 %: хіральна чистота 12,54 %, хімічна чистота 86,74 %) розчиняли у метиленхлориді (860 мл). До розчину додавали N, N-діізопропілетиламін (149 мл, 855 ммоль) при температурі від приблизно -7 °С до приблизно 2 °С. До реакційної суміші протягом 25 хв. по краплях додавали метансульфонілхлорид (57,4 мл, 741 ммоль). Суспензія перетворювалася у прозорий розчин. Через 30 хв. протікання реакції ВЕРХ показала завершення реакції. Реакційну суміш, яка містила сполуку xiv, використовували безпосередньо на наступній стадії.

Стадія 2. (R)-4-(3-Хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-((S)-1-гідразинілетил)феніл)піролідін-2-он (xv)

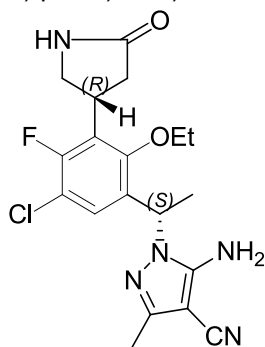


20 При 0 °С однією порцією додавали гідразин (178,9 мл, 5,7 моль), а потім N-метилпіролідинон (860 мл) до реакційної суміші, що містила сполуку xiv із стадії 1. Реакційна суміш ставала каламутною, і утворювалася деяка кількість осаду. Суміш нагрівали до 40-57 °С в атмосфері азоту протягом 90 хв. ВЕРХ показала, що весь мезилат був витрачений.

25 Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і додавали насичений розчин гідрокарбонату натрію (28,3 г) у воді (300 мл). Суміш перемішували протягом 20 хв., після чого додавали дихлорометан (300 мл). Органічний шар відділяли і перемішували з розчином

гідрокарбонату натрію (14,2 г) у воді (150 мл). Водний шар екстрагували дихлорометаном (200 мл х 2). Об'єднані органічні шари промивали насиченим водним розчином хлориду натрію (80 мл), сушили над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (311 г), упарювали і переганяли у вигляді азеотропної суміші з толуеном (250 мл), що давало безбарвний розчин, який містить сполуку xv у N-метилпіролідіноні, який використовували безпосередньо для наступної реакції. Зразок очищали для ЯМР-аналізу.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ ),  $\delta$  7,88 (с, 1H), 7,66 (д,  $J=8,5$  Гц, 1H), 4,42 (к,  $J=6,7$  Гц, 1H), 4,06-3,88 (м, 2H), 3,79-3,66 (м, 1H), 3,65-3,51 (м, 1H), 3,24 (т,  $J=8,8$  Гц, 1H), 2,60-2,46 (м, 1H), 2,36-2,25 (м, 1H), 1,37 (т,  $J=6,9$  Гц, 3H), 1,26 (д,  $J=6,8$  Гц, 3H). РХ/МС для  $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{ClFN}_3\text{O}_2$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ :  $m/z=316,1$ .

Стадія 3. 5-Аміно-1-((S)-1-(5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-((R)-5-оксопіролідин-3-іл)феніл)етил)-3-метил-1H-піразол-4-карбонітрил (xvi)



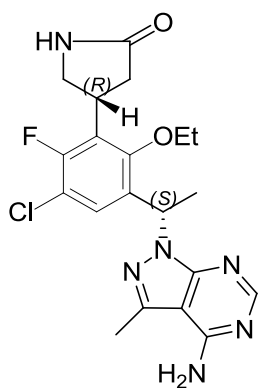
xvi

При перемішуванні до розчину сполуки xv із стадії 2 у N-метилпіролідіноні порціями додавали (1-етоксиетиліден)малононітрил (101 г, 741 ммоль) і суміш перемішували при кімнатній температурі в атмосфері азоту. Через 15 хв. ВЕРХ-аналіз показав 11 % вихідного гідразину, сполуки xv, відносно продукту, сполуки xvi. Додавали N, N-діізопропілетиламін (15 мл, 86 ммоль) і реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 15 год. ВЕРХ-аналіз показав, що залишилося 5,6 % вихідної речовини, що не прореагувала. Додавали N, N-діізопропілетиламін (5 мл, 30 ммоль) і реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 5 год. ВЕРХ показала, що залишилося 5,6 % вихідної речовини. Реакційну суміш перемішували протягом 2,5 днів, і об'єднували з двома подібними порціями, і обробляли разом.

Об'єднували реакційні суміші трьох порцій сполуки xvi. Додавали 0,5 М водний розчин гідроксиду натрію (3,8 л) при 10-20 °C і перемішували протягом 5 хв. ВЕРХ показала, що була витрачена уся вихідна речовина, (1-етоксиетиліден)малононітрил. Додавали етилацетат (4,0 л) і суміш перемішували протягом 15 хв. Шари розділяли. Органічний шар промивали 0,5 М розчином гідроксиду натрію у воді (2,38 л). Шари розділяли. Об'єднаний органічний шар екстрагували етилацетатом (2 х 2 л). Об'єднані органічні шари промивали 1,0 М водним розчином хлоридної кислоти (3,56 л), і значення рН отриманого водного шару становило 2-3. Органічний шар промивали насиченим водним розчином хлориду натрію (5 л), сушили над безводним  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , упарювали і сушили під високим вакуумом протягом 40 год., що давало сполуку xvi у вигляді світло-коричневої твердої речовини, що піниться (702,7 г).  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  7,78 (с, 1H), 7,44 (д,  $J=8,4$  Гц, 1H), 6,53 (с, 2H), 5,64 (к,  $J=6,7$  Гц, 1H), 3,96 (м, 1H), 3,74 (м, 1H), 3,34 (м, 1H), 3,58 (м, 2H), 2,59-2,50 (м, 1H), 2,29 (м, 1H), 2,04 (с, 3H), 1,57 (д,  $J=6,8$  Гц, 3H), 1,37 (т,  $J=6,9$  Гц, 3H). РХ/МС для  $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{ClFN}_5\text{O}_2$  ( $\text{M}+\text{H}$ ) $^+$ :  $m/z=406,1$ .

Розраховано, що загальний вихід сполуки xvi за три стадії (мезилювання, гідразиноліз і утворення піразолу), становив 72,8 % від загальної введеної кількості сполуки xiii. Чистота, визначена за допомогою ВЕРХ, становила приблизно 80 %. ВЕРХ-аналіз вказав на продукт, що знаходився у основному водному шарі, який послідовно екстрагували  $\text{EtOAc}$  (2 л), промивали 1,0 М водним розчином хлоридної кислоти і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили над безводним сульфатом натрію, упарювали і сушили за допомогою високовакуумного насоса протягом 40 год., щоб отримати сполуку xvi у вигляді коричневого масла (134 г, 13,9 %).

Стадія 4. (R)-4-(3-((S)-1-(4-Аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідин-2-он (xvii)

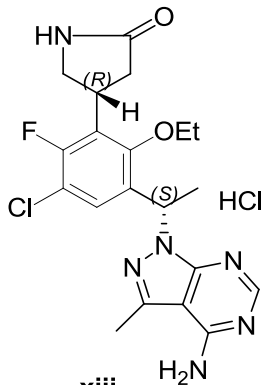


xvii

У реакційну посудину з формамідину ацетатом (1802 г, 17,31 моль) і 1,2-етандіолом (3,51 л) додавали 5-аміно-1-((S)-1-(5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-((R)-5-окспіролідін-3-іл)феніл)етил)-3-метил-1H-піразол-4-карбонітрил (xvi, 702,7 г, 1731 ммоль). Реакційну суміш нагрівали при 102-103 °C при перемішуванні протягом 18 год. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, і додавали етилацетат (7 л) і воду (6 л), і двофазну суміш перемішували протягом 15 хв. Органічний шар відділяли, і водний шар розбавляли додатковою кількістю води (4,5 л) і етилацетату (3 л), і перемішували протягом 10 хв. Органічний шар відділяли. Водний шар додатково екстрагували етилацетатом (2 л). Органічні шари об'єднували і змішували з водою (4,5 л). Водний шар відділяли і органічний шар фільтрували через шар целіту (приблизно 1 кг). Органічний шар екстрагували 1,0 М водним розчином хлоридної кислоти (7 л) шляхом перемішування суміші протягом 10 хв. Водний шар відділяли. Прозорий коричневий органічний шар перемішували з додатковою кількістю 1,0 М водного розчину хлоридної кислоти (3 л) протягом 10 хв. Водний шар відділяли. Водні кислі шари об'єднували і промивали толуеном (500 мл). Водний кислий розчин охолоджували на бані з льодом і водою і додавали метиленхлорид (4 л). Повільно додавали розчин гідроксиду натрію (530 г) у воді (530 мл) (50 %-й розчин NaOH) при 5-15 °C, поки значення рН розчину не становило 11-12. Спостерігалось утворення осаду. Додавали додаткову кількість метиленхлориду (3,5 л) і метанолу (300 мл) і суміш перемішували протягом 10-15 хв. Твердий продукт збирали фільтруванням і сушили на фільтрі під вакуумом протягом 16 год., що давало сполуку xvii (289,7 г) у вигляді коричневої твердої речовини. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,11 (с, 1H), 7,82 (с, 1H), 7,52 (д, J=8,5 Гц, 1H), 7,30 (ш. с., 2H), 6,23 (к, J=7,0 Гц, 1H), 3,97 (п, J=9,2 Гц, 1H), 3,90-3,73 (м, 2H), 3,57 (т, J=9,9 Гц, 1H), 3,25 (дд, J=9,2, 8,7 Гц, 1H), 2,48 (с, 3H), 2,60-2,50 (м, 1H), 2,36-2,20 (м, 1H), 1,69 (д, J=7,1 Гц, 3H), 1,39 (т, J=6,9 Гц, 3H). PX/MS для C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>ClFN<sub>6</sub>O<sub>2</sub> (M+H)<sup>+</sup>: m/z=433,3.

Фільтрат переносили у ділильну лійку і органічний шар відділяли. Водний шар перемішували з метиленхлоридом (5 л) і метанолом (200 мл). Об'єднаний органічний шар сушили над безводним сульфатом натрію, упарювали, сушили з використанням високовакуумного насоса протягом 16 год., що давало додаткову кількість 259,3 г у вигляді коричневої твердої речовини. Загальний вихід xvii становив 548,3 г (вихід 73,2 %).

Стадія 5. (R)-4-(3-((S)-1-(4-Аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідін-2-ону гідрохлорид (xviii)



xviii

1,0 М водний розчин хлоридної кислоти (HCl, 5,0 л, 5,0 моль) додавали до (R)-4-(3-((S)-1-(4-аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідін-2-ону (xvii, 609,8 г, 1,409 моль) при кімнатній температурі. Потім



отриману густу суспензію нагрівали до 50 °С, щоб отримати прозорий розчин. До прозорого розчину при 50 °С додатково додавали 1,82 л 1,0 М водного розчину хлоридної кислоти (HCl, 1,82 л, 1,82 моль; усього 6,82 л, 6,82 моль, 4,84 екв.), а потім розчин фільтрували через дрібнопористий фільтр при приблизно 50 °С. Відфільтровану на дрібнопористому фільтрі реакційну суміш поступово охолоджували до кімнатної температури протягом 2 год., перш ніж її додатково охолоджували до 0-5 °С. Реакційну суміш перемішували при 0-5 °С протягом щонайменше 20 хв. для ініціювання утворення осаду. Отримані тверді речовини збирали фільтруванням, промивали порцією холодного маточного розчину, потім 1,0 М водним розчином хлоридної кислоти (HCl, 200 мл) і сушили на фільтр-лійці при кімнатній температурі під вакуумом до постійної маси (протягом приблизно 39 год.), щоб отримати гідрохлоридну сіль сполуки формули I: (R)-4-(3-((S)-1-(4-аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідін-2-ону гідрохлорид (xviii, 348,7 г, теоретично 661,2 г, 52,7 %) у вигляді білого кристалічного порошку. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9,39 (ш. с., 1H), 9,05 (ш. с., 1H), 8,50 (с, 1H), 7,84 (с, 1H), 7,59 (д, J=8,4 Гц, 1H), 6,28 (к, J=6,9 Гц, 1H), 3,95 (м, 1H), 3,79 (м, 2H), 3,55 (м, 1H), 3,22 (м, 1H), 2,59 (с, 3H), 2,55 (ддд, J=16,8, 10,3, 2,3 Гц, 1H), 2,28 (ддд, J=16,8, 8,6, 1,5 Гц, 1H), 1,73 (д, J=7,0 Гц, 3H), 1,38 (т, J=6,9 Гц, 3H) м. ч. <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 175,3, 156,4 (J<sub>CF</sub>=249,8 Гц), 153,8 (J<sub>CF</sub>=7,0 Гц), 152,4, 150,8, 147,3, 144,3, 131,4 (J<sub>CF</sub>=3,5 Гц), 127,3, 126,4 (J<sub>CF</sub>=12,6 Гц), 116,1 (J<sub>CF</sub>=18,4 Гц), 98,0, 72,1, 49,1, 46,6, 36,0, 29,4, 21,0, 15,4, 14,6 м. ч. <sup>19</sup>F ЯМР (376 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ – 113,6 (д, J<sub>FH</sub>=7,7 Гц) м. ч. C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>Cl<sub>2</sub>FN<sub>6</sub>O<sub>2</sub> (мол. маса 469,34); PX/МС (EI) m/e 433,2 (M<sup>+</sup> + H; точна маса xvii: 432,15). Вміст води за методом КФ: 3,63 % за масою; вміст хлоридів (Cl<sup>-</sup>), визначений за допомогою титрування: 7,56 % за масою (теоретичний 7,56 %).

Інтервал плавлення/розкладання кристалічної форми солі (R)-4-(3-((S)-1-(4-аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідін-2-ону гідрохлориду визначали за допомогою ДСК від вихідної температури 30 °С до кінцевої температури 350 °С, використовуючи швидкість нагріву 10 °С/хв. На термограмі ДСК спостерігався один ендотермічний процес з початком при 194,37 °С і піком при 206,55 °С, як показано на фіг. 1.

Термограма ТГА показала загальну втрату маси, яка становила 4,3 % до 210 °С. Вище 210 °С сіль починає розкладатися, як показано на фіг. 2.

Типова дифрактограма, отримана за допомогою порошкової рентгенівської дифракції, ПРД (XRPD), показана на фіг. 3, а Таблиця 2 демонструє відповідні піки і інтенсивності.

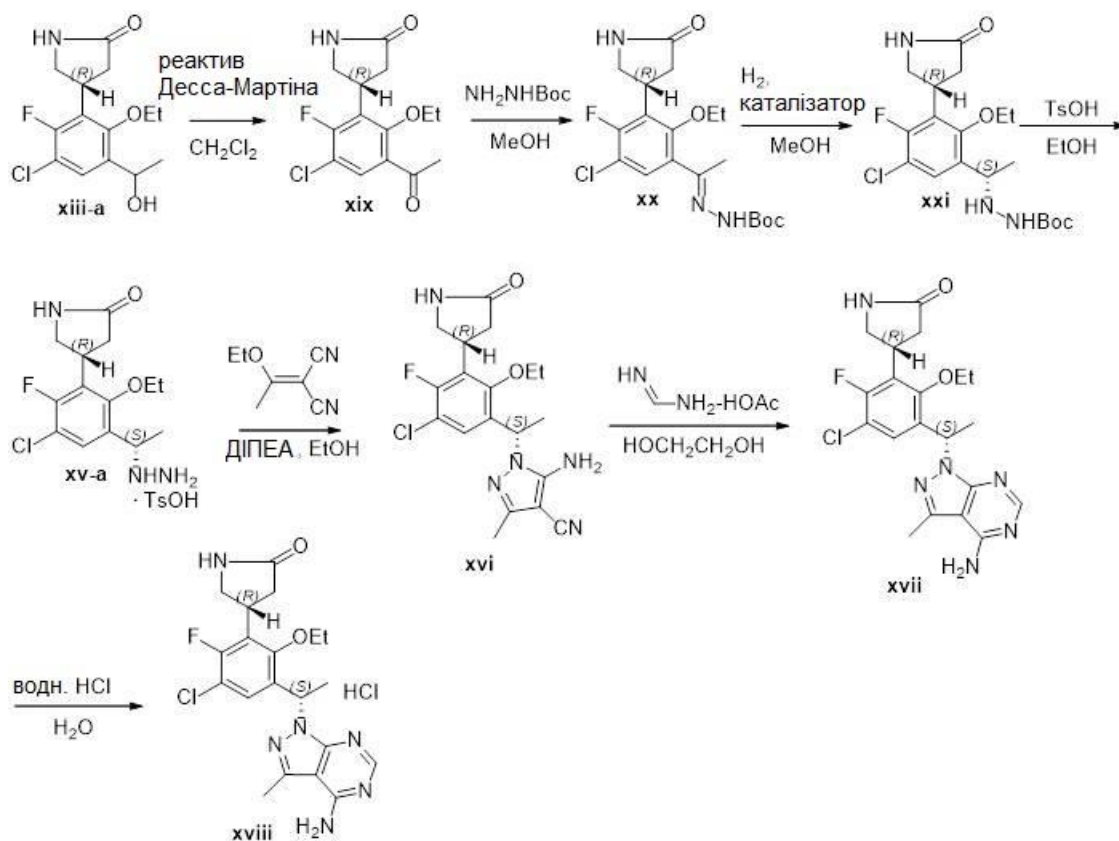
Таблиця 2

2-тета	Відносна інтенсивність	2-тета	Відносна інтенсивність	2-тета	Відносна інтенсивність
5,739	2,20 %	25,098	2,20 %	42,916	2,40 %
7,133	1,20 %	25,66	7,00 %	43,373	0,50 %
7,736	0,10 %	25,895	4,00 %	44,148	0,40 %
10,225	2,30 %	27,168	3,10 %	45,29	0,30 %
11,283	99,00 %	27,792	8,50 %	46,089	1,40 %
11,303	94,10 %	28,1	10,00 %	47,572	0,40 %
13,666	2,90 %	28,464	5,50 %	48,897	0,70 %
14,166	0,90 %	30,134	3,20 %	49,647	0,50 %
14,833	0,10 %	31,239	13,70 %	50,589	0,30 %
15,364	3,80 %	31,918	1,30 %	51,042	0,10 %
16,354	9,70 %	32,827	9,50 %	51,687	0,40 %
17,136	0,50 %	33,818	0,70 %	52,624	0,40 %
16,866	2,70 %	34,198	2,80 %	53,287	0,50 %
17,435	5,50 %	35,033	2,10 %	54,104	0,20 %
17,635	3,30 %	35,423	2,10 %	54,127	0,10 %
18,811	5,10 %	36,226	0,30 %	54,159	0,20 %
18,898	6,60 %	36,676	0,90 %	55,42	0,30 %
19,603	1,50 %	37,47	0,90 %	56,821	0,10 %
20,157	1,80 %	37,951	0,50 %		
20,593	0,50 %	38,457	1,70 %		
21,039	11,10 %	39,055	0,20 %		
21,308	3,80 %	39,968	0,20 %		

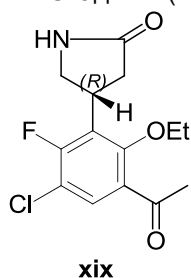
2-тета	Відносна інтенсивність		2-тета	Відносна інтенсивність		2-тета	Відносна інтенсивність
22,169	7,50 %		40,184	0,30 %			
23,002	11,50 %		40,962	0,20 %			
24,628	6,60 %		42	1,30 %			

Приклад 4. Альтернативний синтез (R)-4-(3-((S)-1-(4-аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідин-2-ону гідрохлориду

5



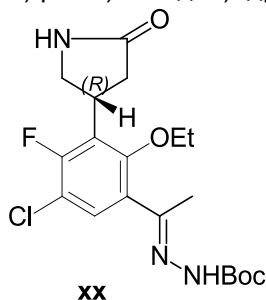
Стадія 1. (R)-4-(3-Ацетил-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідин-2-он (xix)



- 10 (4R)-4-[3-Хлоро-6-етокси-2-флуоро-5-(1-гідроксиетил)феніл]піролідин-2-он (у вигляді суміші двох діастереомерів з R-конфігурацією на піролідиноні і R- або S-конфігураціями на вторинному спирті) (xiii, 16,7 г, 55,3 ммоль) розчиняли у дихлорометані (167 мл). Розчин охолоджували на бані з льодом і водою і невеликими порціями додавали перйодинан Десса-Мартіна (35,2 г, 83,0 ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год., у цей час
- 15 ВЕРХ-аналіз показав, що реакція завершена. До реакційної суміші додавали розчин сульфату натрію (28 г, 220 ммоль) у воді (70 мл) і суміш перемішували протягом 20 хв. До суміші додавали 1,0 М розчин гідроксиду натрію і перемішували протягом 10 хв. Шарам давали відстоятися і органічний шар відділяли і послідовно промивали 1 М водним розчином гідроксиду натрію (66 мл) і водою (60 мл). Органічний шар сушили над безводним сульфатом натрію.
- 20 Осушувач видаляли фільтруванням і фільтрат упарювали, що давало (R)-4-[3-ацетил-5-хлоро-

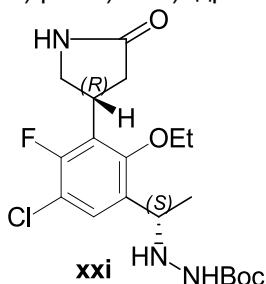
2-етокси-6-флуорофеніл]піролідин-2-он у вигляді масла, яке використовували для наступної реакції без додаткового очищення.

Стадія 2. (R, E)-трет-Бутил-2-(1-(5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-(5-оксопіролідин-3-іл)феніл)етиліден)гідазинкарбоксилат (xx)



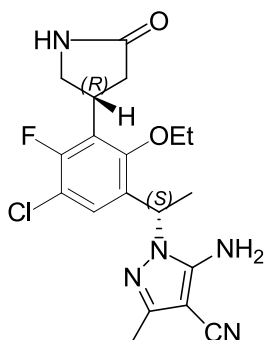
Неочищений (R)-4-[3-ацетил-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл]піролідин-2-он (сполука xix із стадії 1) розчиняли у метанолі (60 мл) і до розчину додавали трет-бутилкарбазат (8,04 г, 60,8 ммоль). Реакційну суміш перемішували при 65 °C протягом 3,5 днів, у цей момент ВЕРХ-аналіз показав, що реакція завершена. Суміш упарювали при зниженому тиску і залишок очищали за допомогою хроматографії на силікагелі елюванням сумішшю 0 – 5 % метанолу в етилацетаті, що давало (R, E)-трет-бутил-2-(1-(5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-(5-оксопіролідин-3-іл)феніл)етиліден)гідазинкарбоксилат (xx, 19,5 г, 85 %). <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 9,83 (с, 1H), 7,78 (с, 1H), 7,36 (д, J=8,6 Гц, 1H), 4,07 (п, J=9,1 Гц, 1H), 3,84-3,69 (м, 2H), 3,59 (т, J=9,5 Гц, 1H), 3,28 (т, J=9,5 Гц, 1H), 2,54 (м, 1H), 2,33 (м, 1H), 2,14 (с, 3H), 1,46 (с, 9H), 1,25 (т, J=7,0 Гц, 3H). РХ/МС для C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>ClFN<sub>3</sub>NaO<sub>4</sub> (M+Na)<sup>+</sup>: m/z=436,1.

Стадія 3. трет-Бутил-2-((S)-1-(5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-((R)-5-оксопіролідин-3-іл)феніл)етил)гідазинкарбоксилат (xxi)



(R, E)-трет-Бутил-2-(1-(5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-(5-оксопіролідин-3-іл)феніл)етиліден)гідазинкарбоксилат (xx, 0,5 г, 1,2 ммоль) розчиняли у метанолі (25 мл) і через розчин барботували газоподібний азот протягом 5 хв. До розчину додавали біс(1,5-циклооктадієн)родію(І) тетрафлуороборат (35 мг, 0,086 ммоль) і (R)-(-)-1-((S)-2-[біс(4-трифлуорометилфеніл)фосфін]фероценіл)етил-ди-трет-бутилфосфін (64 мг, 0,094 ммоль) і через отриману реакційну суміш барботували газоподібний азот протягом 30 хв. Потім реакційну суміш струшували під тиском водню (56 фунтів на квадратний дюйм) протягом 2,5 днів. Реакційну суміш упарювали при зниженому тиску і отриманий залишок очищали за допомогою хроматографії на колонці з силікагелем елюванням сумішшю метанолу (0-10 %) в етилацетаті. Потрібні фракції упарювали, що давало трет-бутил-2-((S)-1-(5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-((R)-5-оксопіролідин-3-іл)феніл)етил)гідазинкарбоксилат (xxi, 428 мг, вихід 85 %). <sup>1</sup>H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 8,18 (с, 1H), 7,78 (с, 1H), 7,53 (д, J=8,2 Гц, 1H), 4,73 (с, 1H), 4,41 (ш. с., 1H), 3,98 (м, 1H), 3,75 (м, 2H), 3,61 (м, 1H), 3,26 (м, 1H), 2,53 (м, 1H), 2,29 (дд, J=17,6, 8,6 Гц, 1H), 1,32 (с, 12H), 1,10 (д, J=6,5 Гц, 1H). РХ/МС для C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>ClFN<sub>3</sub>NaO<sub>4</sub> (M+Na)<sup>+</sup>: m/z=437,9. Хіральний ВЕРХ-аналіз показав, що продукт містив потрібний діастереомер трет-бутил-2-((S)-1-(5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-((R)-5-оксопіролідин-3-іл)феніл)етил)гідазинкарбоксилат (xxi) у кількості 85,6 % і небажаний діастереомер трет-бутил-2-((R)-1-(5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-((R)-5-оксопіролідин-3-іл)феніл)етил)гідазинкарбоксилат у кількості 14,3 %.

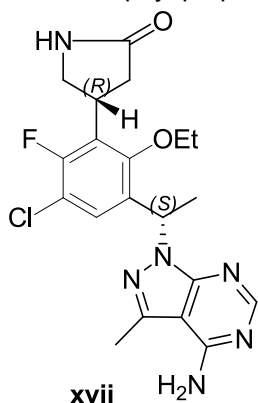
Стадія 4. 5-Аміно-1-((S)-1-(5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-((R)-5-оксопіролідин-3-іл)феніл)етил)-3-метил-1H-піразол-4-карбонітрил (xvi)



xvi

трет-Бутил-2-((S)-1-(5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-((R)-5-оксопіролідін-3-іл)феніл)етил)гідразинкарбоксилат (xxi, 130 мг, 0,31 ммоль) і моногідрат п-толуенсульфонової кислоти (86 мг, 0,45 ммоль) додавали до етанолу (3 мл) і реакційну суміш нагрівали при 50 °С протягом 20 год. ВЕРХ-аналіз показав, що залишилося приблизно 88 % вихідної речовини, що не прореагувала. Додавали додаткову кількість п-толуенсульфонової кислоти (86 мг, 0,45 ммоль) і реакційну суміш нагрівали до 60 °С протягом 24 год. ВЕРХ-аналіз показав повне зняття Вос-захисту. До цієї реакційної суміші додавали (1-етоксиетиліден)малононітрил (61 мг, 0,45 ммоль) і N, N-діізопропілетиламін (260 мкл, 1,5 ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год. ВЕРХ показала завершення утворення піразольного кільця. До реакційної суміші додавали 1,0 М водний розчин гідроксиду натрію і перемішували протягом 20 хв. До суміші додавали етилацетат (20 мл) і перемішували. Двофазній суміші давали відстоятися. Етилацетатний шар збирали і водний шар екстрагували етилацетатом (10 мл). В об'єднаний етилацетатний розчин додавали 1 М водний розчин хлоридної кислоти (5 мл) і перемішували протягом 15 хв. Двофазній суміші давали відстоятися і органічний шар збирали і сушили над безводним сульфатом натрію. Сульфат натрію видаляли фільтруванням і фільтрат упарювали, що давало 5-аміно-1-((S)-1-(5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-((R)-5-оксопіролідін-3-іл)феніл)етил)-3-метил-1H-піразол-4-карбонітрил (xvi, 126 мг, кількісний вихід неочищеного продукту), який використовували на наступній стадії без додаткового очищення.

Стадія 5. (R)-4-(3-((S)-1-(4-Аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідін-2-он (xvii)



xvii

До 5-аміно-1-((1S)-1-[5-хлоро-2-етокси-4-флуоро-3-(5-оксопіролідін-3-іл)феніл]етил)-3-метил-1H-піразол-4-карбонітрилу (xvi, 126 мг, 0,31 ммоль) додавали формамідину ацетат (323 мг, 3,1 ммоль) і 1,2-етандіол (2 мл). Реакційну суміш нагрівали при 104-105 °С при перемішуванні. Через 18 год. ВЕРХ-аналіз показав, що залишилося приблизно 44 % вихідної сполуки xvi. Реакційну суміш нагрівали до 115 °С протягом 24 год. ВЕРХ-аналіз показав, що реакція завершена. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і додавали етилацетат (10 мл) і воду (5 мл). Двофазну суміш перемішували. Шарам дозволяли розділитися. Органічний шар збирали, а водний шар екстрагували етилацетатом (5 мл). Об'єднаний етилацетатний розчин промивали водою (5 мл), сушили над безводним сульфатом натрію. Сульфат натрію видаляли фільтруванням і фільтрат упарювали и до залишку. Залишок очищали за допомогою хроматографії на силікагелі. Колонку елюювали сумішшю метанолу (0-5 %) у метиленхлориді. Потрібні фракції об'єднували і випаровували, що давало (R)-4-(3-((S)-1-(4-аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідін-2-он (xvii, 94 мг, вихід 69,9 %). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,11 (с,

1H), 7,82 (с, 1H), 7,52 (д, J=8,5 Гц, 1H), 7,30 (ш. с., 2H), 6,23 (к, J=7,0 Гц, 1H), 3,97 (п, J=9,2 Гц, 1H), 3,90-3,73 (м, 2H), 3,57 (т, J=9,9 Гц, 1H), 3,25 (дд, J=9,2, 8,7 Гц, 1H), 2,48 (с, 3H), 2,60-2,50 (м, 1H), 2,36-2,20 (м, 1H), 1,69 (д, J=7,1 Гц, 3 H), 1,39 (т, J=6,9 Гц, 3H). PX/MC для C<sub>20</sub>H<sub>23</sub>ClFN<sub>6</sub>O<sub>2</sub> (M+H)<sup>+</sup>: m/z=433,3.

5 Хіральний ВЕРХ-аналіз продукту показав, що він містив потрібний діастереомер (R)-4-(3-((S)-1-(4-аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідин-2-он (xvii) у кількості 87 % і небажаний діастереомер (R)-4-(3-((R)-1-(4-аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідин-2-он у кількості 13 %.

10 Стадія 6. (R)-4-(3-((S)-1-(4-Аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідин-2-ону гідрохлорид

Цільовий продукт отримували відповідно до методики, описаної у прикладі 3, стадія 5. Отримана гідрохлоридна сіль добре відповідає речовині, отриманій з використанням способу синтезу, описаного у Прикладі 3, у кожному зіставному аспекті, включаючи хімічну чистоту, 15 хіральну чистоту і характеристики твердого стану.

Приклад A1. Аналіз ферментів PI3K

Набір для люмінесцентного аналізу PI3-кінази, який включає ліпідний субстрат для кінази, D-міофосфатидилінозитол-4,5-біфосфат (PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>), D (+)-sn-1,2-ди-О-октаноїлгліцерил, 3-О-фосфо-зв'язаний (PIP<sub>2</sub>), біотинильований I(1,3,4,5)P<sub>4</sub>, білок для виявлення PI(3,4,5)P<sub>3</sub>, 20 придбаний в Echelon Biosciences (Солт-Лейк-Сіті, Юта). Набір для виявлення GST AlphaScreen™, який включає донорні і акцепторні кульки, придбаний в PerkinElmer Life Sciences (Уолтем, Массачусетс). PI3Kδ (p110δ /p85α) придбана в Millipore (Бедфорд, Массачусетс). АТФ, MgCl<sub>2</sub>, ДТТ, ЕДТК, HEPES і CHAPS придбані в Sigma–Aldrich (Сент-Луїс, Міссурі).

Аналіз AlphaScreen™ для PI3Kδ

25 Реакцію з кіназою проводять у 384-лунковому планшеті REMP виробництва Thermo Fisher Scientific, кінцевий об'єм становить 40 мкл. Інгібітори спочатку послідовно розбавляють ДМСО і додають у лунки планшету до додавання інших компонентів реакції. Кінцева концентрація ДМСО для аналізу становить 2 %. Аналіз PI3K проводять при кімнатній температурі у 50 мМ HEPES, pH 7,4, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 50 мМ NaCl, 5 мМ ДТТ і 0,04 % CHAPS. Реакції ініціюють 30 додаванням АТФ, при цьому кінцеву реакційну суміш, яка складається з 20 мкМ PIP<sub>2</sub>, 20 мкМ АТФ, 1,2 нМ PI3Kδ, інкубують протягом 20 хвилин. 10 мкл реакційної суміші потім переносять до 5 мкл біотинильованого I(1,3,4,5)P<sub>4</sub> з концентрацією 50 нМ у буфері для гасіння: 50 мМ HEPES, pH 7,4, 150 мМ NaCl, 10 мМ ЕДТК, 5 мМ ДТТ, 0,1 % твін-20, потім додають 10 мкл донорних і 35 акцепторних кульок AlphaScreen™, суспендованих у буфері для гасіння, який містить 25 нМ білка для виявлення PI(3,4,5)P<sub>3</sub>. Кінцева концентрація як донорних, так і акцепторних кульок становить 20 мг/мл. Після запечатування планшетів їх інкубують у темному місці при кімнатній температурі протягом 2 годин. Активність продукту визначають на рідері для мікропланшетів Fusion-alpha (Perkin–Elmer). Визначення IC<sub>50</sub> виконують за допомогою апроксимації кривої 40 залежності частки від активності контрольного зразка (у відсотках) від логарифму концентрації інгібітора, використовуючи програмне забезпечення GraphPad Prism 3.0.

Приклад A2. Аналіз ферментів PI3K

Речовини. Ліпідний субстрат для кінази, фосфоінозитол-4,5-біфосфат (PIP<sub>2</sub>), придбаний в Echelon Biosciences (Солт-Лейк-Сіті, Юта). Ізоформи PI3K α, β, δ і γ придбані в Millipore (Бедфорд, Массачусетс). АТФ, MgCl<sub>2</sub>, ДТТ, ЕДТК, MOPS і CHAPS придбані в Sigma–Aldrich (Сент-Луїс, Міссурі). 45

Реакції з кіназою проводять у 96-лунковому планшеті з прозорим дном виробництва Thermo Fisher Scientific, кінцевий об'єм становить 24 мкл. Інгібітори спочатку послідовно розбавляють ДМСО і додають у лунки планшету до додавання інших компонентів реакції. Кінцева концентрація ДМСО для аналізу становить 0,5 %. Аналіз PI3K проводять при кімнатній 50 температурі у 20 мМ MOPS, pH 6,7, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 5 мМ ДТТ і 0,03 % CHAPS. Реакційну суміш готують так, щоб вона містила 50 мкМ PIP<sub>2</sub>, кіназу і різні концентрації інгібіторів. Реакції ініціюють додаванням АТФ, який містить 2,2 мкКі [γ-<sup>33</sup>P]АТФ, так, щоб кінцева концентрація становила 1000 мкМ. Кінцеві концентрації ізоформ PI3K α, β, δ і γ для аналізу становлять 1,3, 9,4, 2,9 і 10,8 нМ, відповідно. Реакційні суміші інкубують протягом 180 хв., і реакції завершують 55 шляхом додавання 100 мкл буферу для гасіння, який містить 1 М фосфату калію, pH 8,0, 30 мМ ЕДТК. Аліквоту 100 мкл реакційного розчину потім переносять у 96-лунковий фільтруючий планшет з ПВДФ з розміром пір 0,45 мкм Millipore MultiScreen IP (фільтруючий планшет попередньо по черзі змочують 200 мкл 100 % етанолу, дистильованої води і 1 М розчину фосфату калію з pH 8,0). Рідину з фільтруючого планшету аспірують під вакуумом з 60 використанням Millipore Manifold і планшет промивають 18 □ 200 мкл промивного буферного

розчину, який містить 1 М фосфату калію з рН 8,0 і 1 мМ АТФ. Після висушування за допомогою аспірації і усмоктування планшет сушать на повітрі в термостаті при 37 °С протягом ночі. Потім до планшету приєднують адаптер Packard TopCount (Millipore) після додавання 120 мкл сцинтиляційного коктейлю Microscint 20 (Perkin Elmer) у кожну лунку. Після запечатування планшету визначають радіоактивність продукту шляхом підрахунку сцинтиляцій на приладі Topcount (Perkin–Elmer). Визначення IC<sub>50</sub> виконують за допомогою апроксимації кривої залежності частки від активності контрольного зразка (у відсотках) від логарифму концентрації інгібітора, використовуючи програмне забезпечення GraphPad Prism 3.0.

В аналізі прикладу А2 досліджували гідрохлоридну сіль (R)-4-(3-((S)-1-(4-аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідін-2-ону, і було встановлено, що вона є селективним інгібітором PI3Kδ.

В аналізі прикладу А2 досліджували гідрохлоридну сіль (R)-4-(3-((S)-1-(4-аміно-3-метил-1H-піразоло[3,4-d]піримідин-1-іл)етил)-5-хлоро-2-етокси-6-флуорофеніл)піролідін-2-ону, і було встановлено, що вона є у 100 раз більш селективним інгібітором PI3Kδ у порівнянні з кожною з PI3Kα, PI3Kβ і PI3Kγ.

Приклад А3. Сцинтиляційний проксимальний аналіз PI3Kδ

Речовини

[γ-<sup>33</sup>P]АТФ (10 мКі/мл) придбаний в Perkin–Elmer (Уолтем, Массачусетс). Ліпідний субстрат для кінази, D-міо-фосфатидилінозитол-4,5-біфосфат (PtdIns(4,5)P<sub>2</sub>), D(+)-sn-1,2-ди-О-октаноїлгліцерил, 3-О-фосфо-зв'язаний (PIP<sub>2</sub>), CAS 204858-53-7, придбаний в Echelon Biosciences (Солт-Лейк-Сіті, Юта). PI3Kδ (p110δ /p85α) придбана в Millipore (Бедфорд, Массачусетс). АТФ, MgCl<sub>2</sub>, ДТТ, ЕДТК, MOPS і CHAPS придбані в Sigma–Aldrich (Сент-Луїс, Міссурі). Сцинтиляційні кульки для SPA-аналізу з імобілізованим аглютиніном зародків пшениці (АЗП) і YSi придбані в GE Healthcare Life Sciences (Піскатавей, Нью-Джерсі).

Реакцію з кіназою проводили у 384-лунковому матричному білому полістирольному планшеті виробництва Thermo Fisher Scientific, кінцевий об'єм становив 25 мкл. Інгібітори спочатку послідовно розбавляли ДМСО і додавали у лунки планшету до додавання інших компонентів реакції. Кінцева концентрація ДМСО для аналізу становила 0,5 %. Аналіз PI3K проводили при кімнатній температурі у 20 мМ MOPS, рН 6,7, 10 мМ MgCl<sub>2</sub>, 5 мМ ДТТ і 0,03 % CHAPS. Реакції ініціювали додаванням АТФ, кінцева реакційна суміш складалася з 20 мкМ PIP<sub>2</sub>, 20 мкМ АТФ, 0,2 мКі [γ-<sup>33</sup>P] АТФ, 4 нМ PI3Kδ. Реакційні суміші інкубували протягом 210 хвилин, і реакції завершували шляхом додавання 40 мкл кульок для SPA-аналізу, суспендованих у буфері для гасіння: 150 мМ фосфату калію, рН 8,0, 20 % гліцерину, 25 мМ ЕДТК, 400 мкМ АТФ. Кінцева концентрація кульок для SPA-аналізу становила 1,0 мг/мл. Після запечатування планшетів їх струшували протягом ночі при кімнатній температурі і центрифугували при 1800 об/хв. протягом 10 хвилин, радіоактивність продукту визначали шляхом підрахунку сцинтиляцій на приладі Topcount (Perkin–Elmer). Визначення IC<sub>50</sub> виконували за допомогою апроксимації кривої залежності частки від активності контрольного зразка (у відсотках) від логарифму концентрації інгібітора, використовуючи програмне забезпечення GraphPad Prism 3.0. Встановлено, що сполука формули I в аналізі прикладу А3 має IC<sub>50</sub>, яка становить ≤ 10 нМ.

Приклад В1. Аналіз проліферації В-клітин

Для отримання В-клітин МКПК людини виділяють з периферичної крові здорових донорів, які не приймають лікарських засобів, за допомогою стандартного центрифугування в градієнті густини на Ficoll-Hypaque (GE Healthcare, Піскатавей, Нью-Джерсі) та інкубують з мікрокульками з імобілізованими анти-CD19 (Miltenyi Biotech, Оберн, Каліфорнія). Потім В-клітини очищають за допомогою позитивного імуносортингу з використанням autoMacs (Miltenyi Biotech) відповідно до інструкції виробника.

Очищені В-клітини (2×10<sup>5</sup>/лунка/200 мкл) культивують у 96-лункових планшетах з наднизьким зв'язуванням (Corning, Корнінг, Нью-Йорк) у середовищі RPMI1640, яке містить 10 % ФБС і козячі F(ab')<sub>2</sub> проти людських IgM (10 мкг/мл) (Invitrogen, Карлсбад, Каліфорнія), у присутності різних кількостей досліджуваних сполук протягом трьох днів. Потім до культур В-клітин ще на 12 годин додають [<sup>3</sup>H]-тимідин (1 мКі/лунка) (PerkinElmer, Бостон, Массачусетс) у ФБС, після чого введену радіоактивність відділяють за допомогою фільтрування з водою через фільтри GF/B (Packard Bioscience, Меріден, Коннектикут) і визначають шляхом підрахунку сцинтиляцій у рідкій фазі з використанням TopCount (Packard Bioscience).

Приклад В2. Аналіз проліферації клітин Pfeiffer

Клітинна лінія Pfeiffer (дифузна В-крупноклітинна лімфома) придбана в ATCC (Манассас, Вірджинія), і її зберігають у рекомендованому живильному середовищі (RPMI і 10 % ФБС). Для вимірювання антипроліферативної активності сполук клітини Pfeiffer висівають у живильному

середовищі ( $2 \times 10^3$  клітин / лунка/ на 200 мкл) в 96-лункові планшети з наднизьким зв'язуванням (Corning, Корнінг, Нью-Йорк) в присутності або за відсутності досліджуваних сполук у різних концентраціях. Через 3-4 дні до культури клітин ще на 12 годин додають [ $^3\text{H}$ ]-тимідин (1 мкКі/лунка) (PerkinElmer, Бостон, Массачусетс) у ФСБ, після чого введену

5 радіоактивність відділяють за допомогою фільтрування з водою через фільтри GF/B (Packard Bioscience, Меріден, Коннектикут) і визначають шляхом підрахунку сцинтиляцій у рідкій фазі з використанням TopCount (Packard Bioscience).

#### Приклад В3. Аналіз проліферації клітин SUDHL-6

10 Клітинна лінія SUDHL-6 (дифузна В-крупноклітинна лімфома) придбана в ATCC (Манассас, Вірджинія), і її зберігали у рекомендованому живильному середовищі (RPMI і 10 % ФСБ). Для вимірювання антипроліферативної активності сполук шляхом кількісного визначення АТФ клітини SUDHL-6 висівали у живильному середовищі (5000 клітин/лунка/ на 200 мкл) у 96-

15 лунковому полістирольному прозорому чорному планшеті, обробленому для культивування тканин (Greiner-bio-one за посередництвом VWR, Нью-Джерсі), у присутності або за відсутності досліджуваних сполук у різних концентраціях. Через 3 дні в кожному лунку на 10 хвилин при

20 кімнатній температурі додавали агент для клітинних культур Cell Titer-GLO (люмінесцентний) (Promega, Мадісон, Вісконсин) для стабілізації люмінесцентного сигналу. Цей аналіз визначає кількість життєздатних клітин у культурі на основі кількісного визначення наявного АТФ, який вказує на наявність метаболічно активних клітин. Люмінесценцію вимірювали за допомогою

#### Приклад С. Аналіз фосфорилування Akt

25 Клітини Ramos (В-лімфоцити, отримані з лімфоми Беркітта) отримані в ATCC (Манассас, Вірджинія), і їх зберігають у середовищі RPMI1640 і 10 % ФСБ. Клітини ( $3 \times 10^7$  клітин /пробірка/3 мл в RPMI) інкубують з різними кількостями досліджуваних сполук протягом 2 год. при 37 °С, а потім стимулюють козячими F(ab')<sub>2</sub> проти IgM людини (5 мкг/мл) (Invitrogen) протягом 17 хвилин на водяній бані з температурою 37 °С. Стимульовані клітини центрифугують при 4 °С і готують цільний клітинний екстракт з використанням 300 мкл буферу для лізису (Cell Signaling Technology, Данверс, Массачусетс). Отримані лізати обробляють ультразвуком і збирають

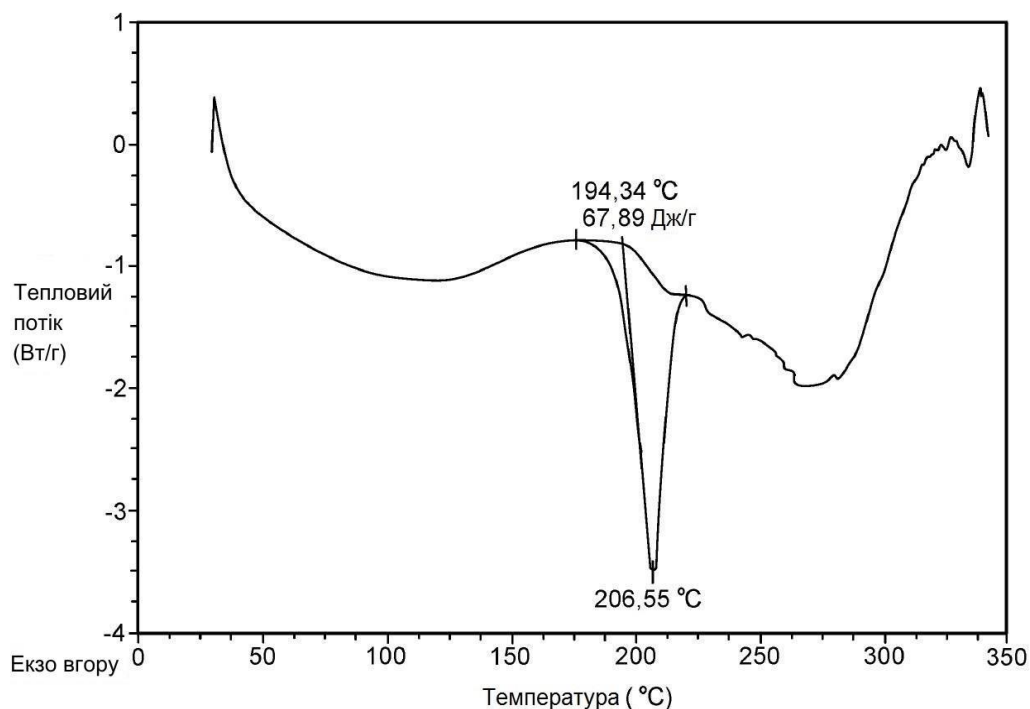
30 надосадкові рідини. Рівень фосфорилування Akt у надосадкових рідинах визначають з використанням наборів PathScan phospho-Akt1 (Ser473) для проведення ІФА "сендвіч"-типу (Cell Signaling Technology) відповідно до інструкції виробника.

Для фахівців у цій галузі техніки із вищенаведеного опису будуть очевидні різні модифікації винаходу на додаток до описаних у цьому документі. Припускається, що такі модифікації також

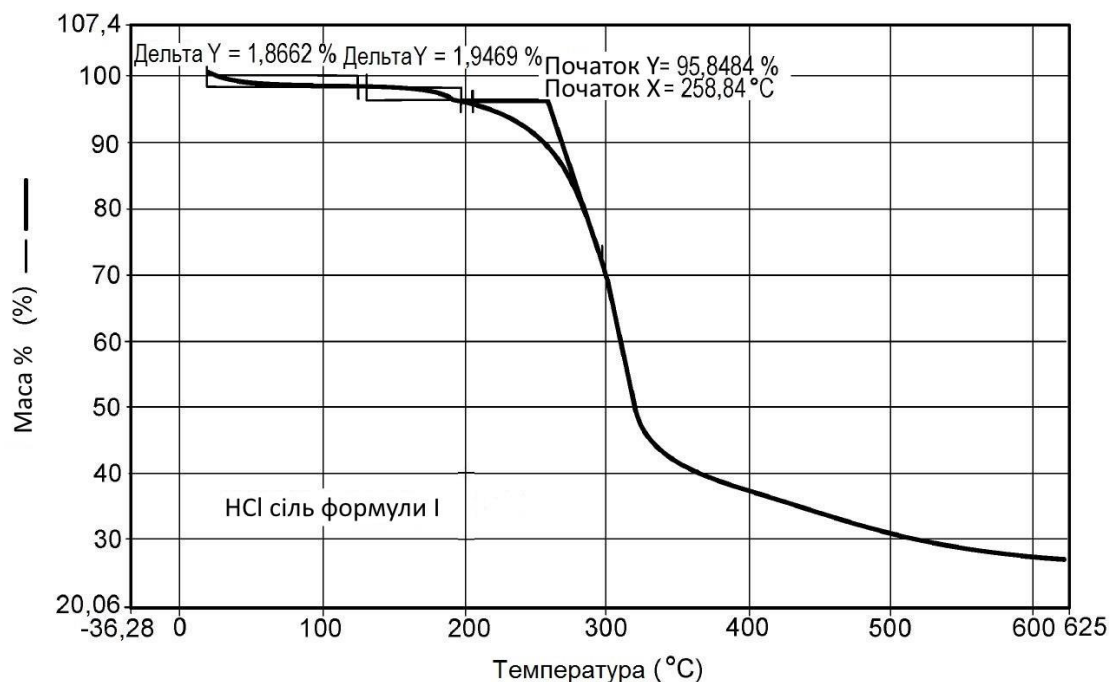
35 входять до обсягу доданої формули винаходу. Кожне джерело, включаючи всі патенти, патентні заявки і публікації, процитовані у цій заявці, включені до цього документу в повному обсязі шляхом посилання.

### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 40 1. Сіль, яка є солянокислою сіллю (*R*)-4-(3-((*S*)-1-(4-аміно-3-метил-1*H*-піразоло[3,4-*d*]піримідин-1-іл)етил)-5-хлор-2-етокси-6-фторфеніл)піролідін-2-ону, яка є кристалічною.
2. Сіль за п. 1, яка є стехіометричним відношенням 1:1 (*R*)-4-(3-((*S*)-1-(4-аміно-3-метил-1*H*-піразоло[3,4-*d*]піримідин-1-іл)етил)-5-хлор-2-етокси-6-фторфеніл)піролідін-2-ону до соляної кислоти.
- 45 3. Сіль за п. 1 або 2, яка характеризується термограмою ДСК, на якій спостерігається ендотермічний пік при 207 °С.
4. Сіль за будь-яким з пп. 1-3, яка має термограму ДСК, як показано на наступній фігурі:



5. Сіль за будь-яким з пп. 1-4, яка має термограму ТГА, як показано на наступній фігурі:



5

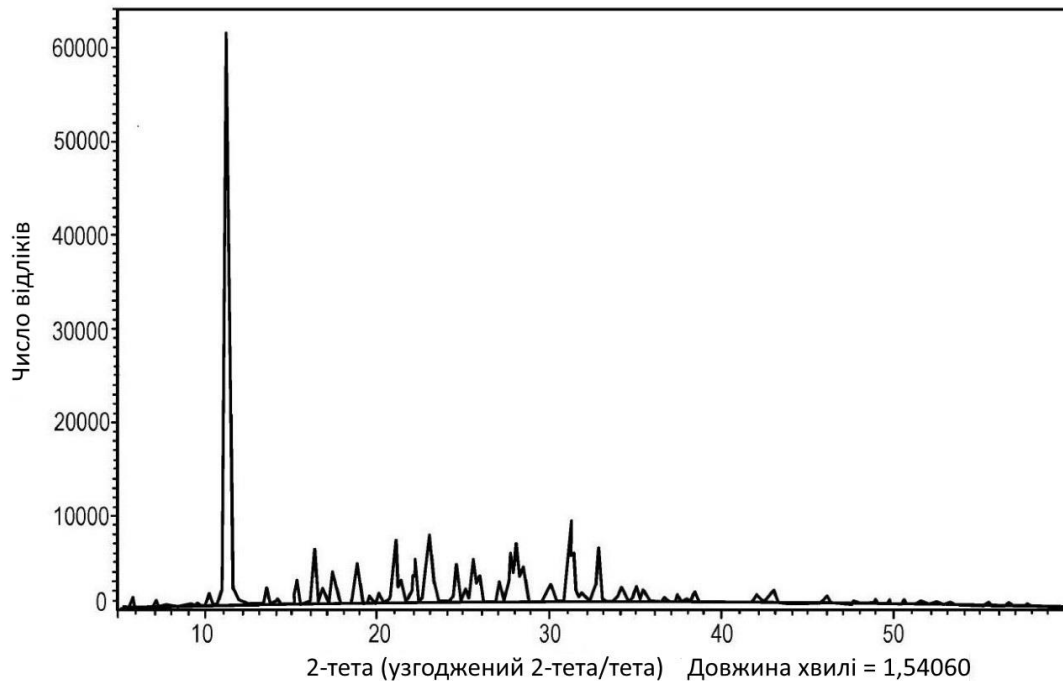
6. Сіль за будь-яким з пп. 1-5, яка характеризується щонайменше одним піком ПРД, в одиницях 2-тета, вибраним з  $11,3^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $16,4^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $21,0^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $23,0^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $28,1^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $31,2^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$  і  $32,8^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ .

10 7. Сіль за будь-яким з пп. 1-5, яка характеризується щонайменше двома піками ПРД, в одиницях 2-тета, вибраними з  $11,3^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $16,4^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $21,0^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $23,0^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $28,1^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $31,2^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$  і  $32,8^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ .

15 8. Сіль за будь-яким з пп. 1-5, яка характеризується щонайменше трьома піками ПРД, в одиницях 2-тета, вибраними з  $11,3^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $16,4^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $21,0^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $23,0^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $28,1^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $31,2^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$  і  $32,8^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ .



9. Сіль за будь-яким з пп. 1-5, яка характеризується щонайменше чотирма піками ПРД, в одиницях 2-тета, вибраними з  $11,3^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $16,4^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $21,0^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $23,0^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $28,1^{\circ}$ ,  $31,2^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$  і  $32,8^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ .
10. Сіль за будь-яким з пп. 1-5, яка характеризується щонайменше п'ятьма піками ПРД, в одиницях 2-тета, вибраними з  $11,3^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $16,4^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $21,0^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $23,0^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $28,1^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ ,  $31,2^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$  і  $32,8^{\circ}\pm 0,2^{\circ}$ .
11. Сіль за будь-яким з пп. 1-5, яка має дифрактограму ПРД, як показано на наступній фігурі:



10

12. Фармацевтична композиція, яка містить сіль за будь-яким з пп. 1-11 і фармацевтично прийнятний носій.

13. Спосіб лікування захворювання у пацієнта, в якому вказане захворювання пов'язане з аномальною експресією або активністю кінази PI3K, який включає введення вказаному пацієнту терапевтично ефективної кількості солі за будь-яким з пп. 1-11.

14. Спосіб за п. 13, який **відрізняється** тим, що захворювання вибрано з ідіопатичної тромбоцитопенічної пурпури (ІТП), аутоімунної гемолітичної анемії, васкуліту, системного червоного вовчака, вовчакового нефриту, пемфігусу, аутоімунної гемолітичної анемії (АГА), мембранозної нефропатії, хронічного лімфоцитарного лейкозу (ХЛЛ), неходжкінської лімфоми (НХЛ), волосатоклітинного лейкозу, лімфоми з клітин мантийної зони, лімфоми Беркитта, дрібноклітинної лімфоцитарної лімфоми, фолікулярної лімфоми, лімфоплазмочитарної лімфоми, екстранодальної лімфоми з клітин маргінальної зони, лімфоми Ходжкіна, макроглобулінемії Вальденстрема, пролімфоцитарного лейкозу, гострого лімфобластного лейкозу, мієлофіброзу, лімфоми, що виникає з лімфоїдної тканини, асоційованої зі слизовими оболонками (MALT), В-клітинної лімфоми, медіастинальної (тимічної) В-крупноклітинної лімфоми, лімфогранулематозу, лімфоми з клітин маргінальної зони селезінки, первинної випітної лімфоми, внутрішньосудинної В-крупноклітинної лімфоми, плазмоклітинного лейкозу, екстремедулярної плазмочити, тліючої мієломи (яку також називають безсимптомною мієломою), моноклональної гамопатії невизначеного значення (МГНЗ) і В-клітинної лімфоми.

15. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що являє собою спосіб лікування ідіопатичної тромбоцитопенічної пурпури (ІТП), вибраної з рецидивуючої ІТП і рефрактерної ІТП.

16. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що являє собою спосіб лікування васкуліту, вибраного з хвороби Бехчета, синдрому Когана, гігантоклітинного артеріїту, ревматичної поліміалгії (РП), артеріїту Такаясу, хвороби Бюргера (облітеруючого тромбангіїту), васкуліту центральної нервової системи, хвороби Кавасакі, нодозного поліартеріїту, синдрому Чарга-Стросса, змішаного кріоглобулінемічного васкуліту (есенціального або викликаного вірусом гепатиту С (ВГС)), пурпури Шенлейна-Геноха (ПШГ), лейкоцитокластичного васкуліту,

мікроскопічного поліангіїту, гранулематозу Вегенера і асоційованого з антинейтрофільними цитоплазматичними антитілами (АНЦА) системного васкуліту (ААСВ).

17. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що є способом лікування неходжкінської лімфоми (НХЛ), вибраної з рецидивуючої НХЛ, рефрактерної НХЛ і вторинної фолікулярної НХЛ.

5 18. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що є способом лікування В-клітинної лімфоми, причому вказана В-клітинна лімфома є дифузною В-крупноклітинною лімфомою (ДВККЛ).

19. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що є способом лікування В-клітинної лімфоми, причому вказана В-клітинна лімфома є дифузною В-крупноклітинною лімфомою з клітин, подібних до активованих В-клітин (АВК), або дифузною В-крупноклітинною лімфомою з В-клітин зародкового центру (ЗЦВ).

20. Спосіб за п. 13, який **відрізняється** тим, що вказаним захворюванням є остеоартрит, рестеноз, атеросклероз, ураження кісток, артрит, діабетична ретинопатія, псоріаз, доброякісна гіпертрофія передміхурової залози, запалення, ангіогенез, панкреатит, захворювання нирок, запальне захворювання кишечника, міастенія гравіс, розсіяний склероз або синдром Шегрена.

15 21. Спосіб за п. 13, який **відрізняється** тим, що вказаним захворюванням є ревматоїдний артрит, алергія, астма, гломерулонефрит, вовчак або запалення, пов'язане з будь-яким захворюванням з вищенаведених.

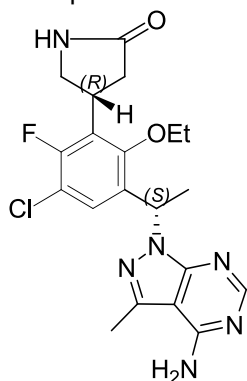
22. Спосіб за п. 21, який **відрізняється** тим, що вовчак є системним червоним вовчаком або вовчаковим нефритом.

20 23. Спосіб за п. 13, який **відрізняється** тим, що вказаним захворюванням є рак молочної залози, рак передміхурової залози, рак товстої кишки, рак ендометрія, рак мозку, рак сечового міхура, рак шкіри, рак матки, рак яєчника, рак легені, рак підшлункової залози, рак нирки, рак шлунка або гемобластоз.

24. Спосіб за п. 23, який **відрізняється** тим, що вказаний гемобластоз є гострим мієлобластним лейкозом або хронічним мієлоїдним лейкозом.

25 25. Спосіб за п. 13, який **відрізняється** тим, що вказаним захворюванням є гостре ушкодження легень (ГУЛ) або гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС) у дорослих.

26. Спосіб отримання солі за будь-яким з пп. 1-11, який включає приведення сполуки формули I



30 I у контакт з соляною кислотою з отриманням вказаної солі.

27. Спосіб за п. 26, який **відрізняється** тим, що вказаною соляною кислотою є 1М водний розчин соляної кислоти.

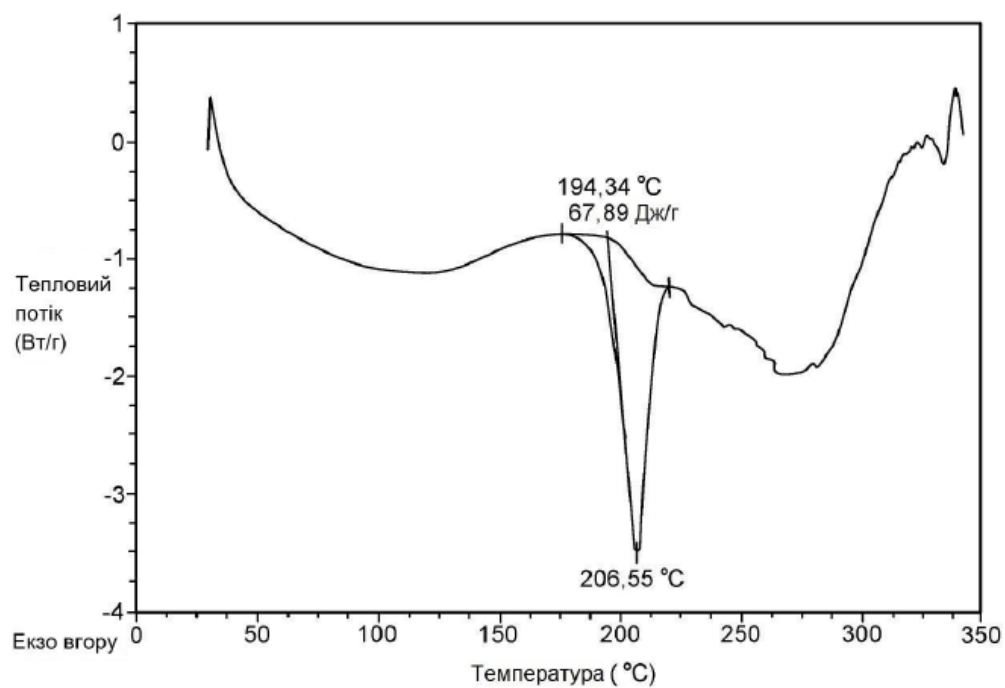
28. Спосіб за п. 26 або 27, який **відрізняється** тим, що на 1 еквівалент сполуки формули I використовують від 3,3 до 3,7 еквівалента соляної кислоти.

35 29. Спосіб за будь-яким з пп. 26-28, який **відрізняється** тим, що вказане приведення у контакт здійснюють при температурі від 45 до 55 °С.

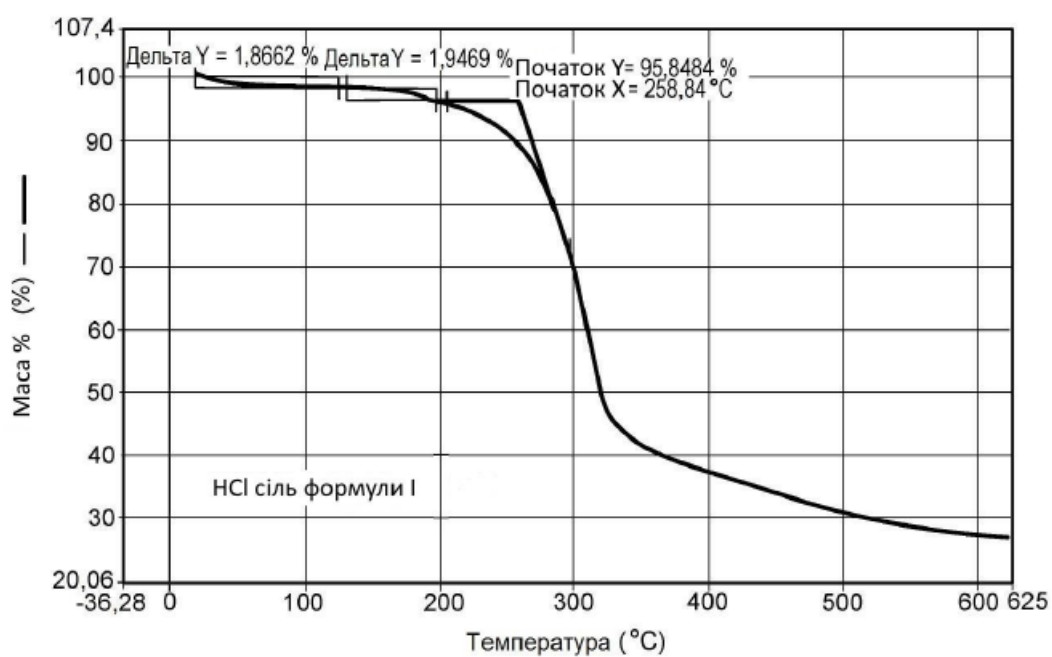
30. Спосіб за будь-яким з пп. 26-28, який **відрізняється** тим, що спосіб включає стадії:

40 додавання до сполуки формули I при кімнатній температурі соляної кислоти з утворенням суспензії;

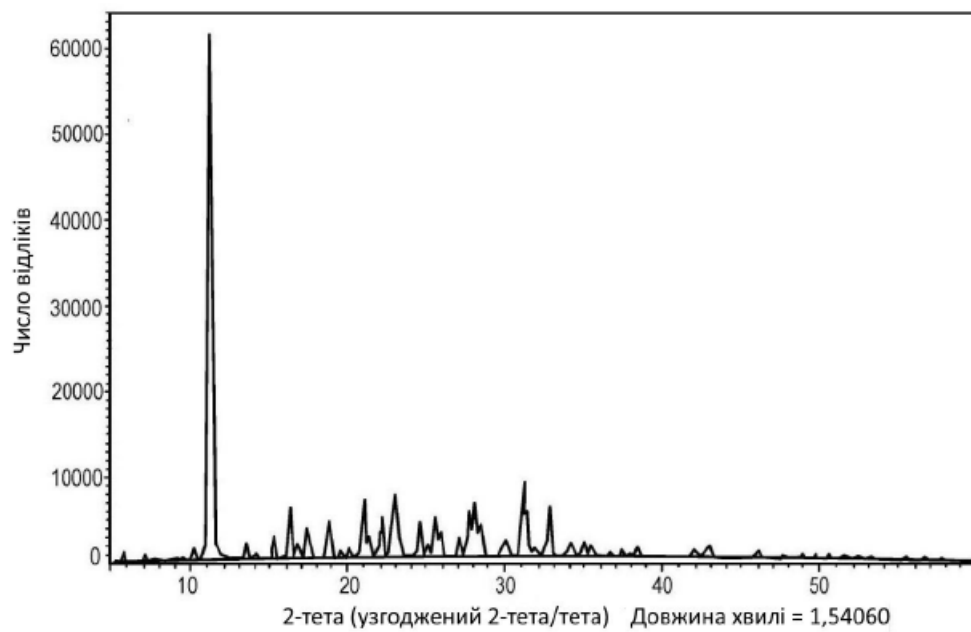
нагрівання вказаної суспензії до температури від 45 до 55 °С з утворенням розчину; і охолодження розчину до температури від 0 до 5 °С для кристалізації вказаної солі.



Фіг. 1



Фіг. 2



Фіг. 3