



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **123709** (13) **C2**
(51) МПК (2021.01)

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61K 31/275 (2006.01)

A61P 29/00

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

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: а 2019 01913	(72) Винахідник(и): Мао Вейвей (CN), У Хао (CN), Гуо Цян (CN), Чжен Сюецзянь (CN), Ляо Янган (CN)
(22) Дата подання заявки: 23.11.2017	(73) Володілець (володільці): УСІ ФОРЧУН ФАРМАСЬЮТИКАЛ КО., ЛТД, No.2 Rongyang 1st Road, Xishan Economic Zone, Wuxi, Jiangsu 214000, China (CN)
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 20.05.2021	(74) Представник: Горяінов Олексій Олександрович, реєстр. №261
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 201611046683.X	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: WO 2016192563 A1; 08.12.2016 WO 0142246 A1; 14.06.2001
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 23.11.2016	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: CN	
(41) Публікація відомостей про заявку: 12.08.2019, Бюл.№ 15	
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 19.05.2021, Бюл.№ 20	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: PCT/CN2017/112493, 23.11.2017	

(54) КРИСТАЛІЧНІ ТА СОЛЬОВІ ФОРМИ 7Н-ПІРОЛО[2,3-d]ПІРИМІДИНІВ І СПОСІБ ЇХ ОДЕРЖАННЯ

(57) Реферат:

Даний винахід належить до кристалічної та сольової форм 7Н-піроло[2,3-d]піримідину та способу їх одержання, а також до застосування зазначених кристалічної та сольової форм для одержання лікарського засобу для лікування артриту.

UA 123709 C2

ОБЛАСТЬ ТЕХНІКИ

[0001] Даний винахід відноситься до кристалічних і сольових форм 7H-піроло[2,3-d]піримідинів і способу їх одержання, а також до застосування зазначених кристалічних і сольових форм для одержання лікарського засобу для лікування артриту.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

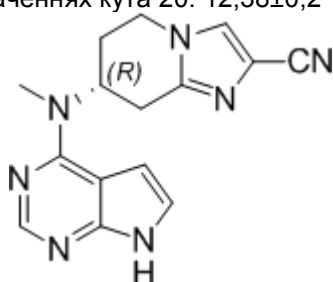
[0002] JAK відноситься до сімейства тирозинкіназ, що брав участь у запаленні, автоімунних захворюваннях, проліферативних захворюваннях, відторгненні трансплантата, захворюваннях, пов'язаних з порушенням відновлення хряща, уроджених дефектах хряща та/або захворюваннях, пов'язаних з гіперсекрецією IL6. У даному винаході також запропоновані спосіб одержання зазначеної сполуки або фармацевтичної композиції, що містить зазначену сполуку, і спосіб запобігання та/або лікування запалення, автоімунних захворювань, проліферативних захворювань, відторгнення трансплантата, захворювань, пов'язаних з порушенням відновлення хряща, уроджених дефектів хряща та/або захворювань, пов'язаних з гіперсекрецією IL6, шляхом введення сполуки згідно з даним винаходом.

[0003] Янус-кінази (JAK) являють собою цитоплазматичні тирозинкінази, що передають цитокіновий сигнал від мембранних рецепторів до транскрипційних факторів STAT. У рівні техніки описані чотири представники сімейства JAK: JAK1, JAK2, JAK3 і TYK2. Після зв'язування цитокінів зі своїми рецепторами представники сімейства JAK автофосфорилуються та/або трансфосфорилуються один з одним, потім фосфорилуються STAT, а потім зазначені молекули надходять в ядро клітини для модуляції транскрипції. Внутрішньоклітинний сигнальний шлях JAK-STAT підходить для інтерферонів, більшості інтерлейкінів, а також різних цитокінів й ендокринних факторів, таких як EPO, TPO, GH, OSM, LIF, CNTF, GM-CSF і PRL (Vainchenker W. et al. (2008)).

[0004] Об'єднане дослідження генетичних моделей та низькомолекулярних інгібіторів JAK виявило терапевтичний потенціал декількох JAK. У генетичних дослідженнях на мишах і на людях було підтверджено, що JAK3 є мішенню для імуносупресії (O'Shea J. etc. (2004)). Інгібітор JAK3 з успіхом застосовується в клінічних дослідженнях. Спочатку його використовували при відторгненні трансплантатів органів, а згодом також застосовували при інших імунозапальних станах, таких як ревматоїдний артрит (РА), псоріаз і хвороба Крона (<http://clinicaltrials.gov/>). У генетичних дослідженнях на людях і нокаутних мишах було підтверджено, що TYK2 є потенційною мішенню для імунозапальних захворювань (Levy D. and Loomis C. (2007)). JAK1 є новою мішенню в області терапії імунозапальних захворювань. Гетеродимеризація JAK1 з іншими JAK викликає передачу прозапального сигналу, що індукується цитокінами. Отже, як очікується, JAK1 й/або інші JAK будуть терапевтично корисні при ряді запальних захворювань й інших захворювань, які викликані передачею сигналу, опосередкованою JAK.

КОРОТКИЙ ОПИС ВІНАХОДУ

[0005] У даному винаході запропонована кристалічна форма А наступної сполуки 1, рентгенівська порошкова дифрактограма якої містить характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ : $12,38 \pm 0,2^\circ$, $13,34 \pm 0,2^\circ$ і $22,09 \pm 0,2^\circ$.



Сполука 1

[0006] У деяких варіантах реалізації даного винаходу рентгенівська порошкова дифрактограма кристалічної форми А сполуки 1 містить характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ : $12,38 \pm 0,2^\circ$, $13,34 \pm 0,2^\circ$, $15,85 \pm 0,2^\circ$, $22,09 \pm 0,2^\circ$, $23,71 \pm 0,2^\circ$, $25,38 \pm 0,2^\circ$, $26,21 \pm 0,2^\circ$ і $26,81 \pm 0,2^\circ$.

[0007] У деяких варіантах реалізації даного винаходу рентгенівська порошкова дифрактограма (XRPD) кристалічної форми А сполуки 1 є такою, як показано на фіг. 1.

[0008] У деяких варіантах реалізації даного винаходу аналітичні дані рентгенівської порошкової дифрактометрії (XRPD) кристалічної форми А сполуки 1 є такими, як показано в таблиці 1.

Аналітичні дані рентгенівської порошкової дифрактометрії (XRPD)
кристалічної форми А сполуки 1

Номер	Кут 2θ (°)	Міжплощинна відстань (Å)	Відносна інтенсивність (%)	Номер	Кут 2θ (°)	Міжплощинна відстань (Å)	Відносна інтенсивність (%)
1	12,383	7,142	77,4	13	29,056	3,0706	2,9
2	13,345	6,6293	68	14	29,352	3,0403	4,7
3	14,808	5,9773	2,3	15	31,968	2,7973	1,3
4	15,854	5,5852	61,2	16	33,094	2,7046	5,4
5	19,345	4,5846	10,3	17	33,473	2,6749	4,9
6	21,516	4,1267	10,9	18	34,598	2,5904	4,4
7	22,087	4,0212	100	19	36,412	2,4654	2,1
8	23,39	3,8	2,5	20	37,669	2,386	4,9
9	23,706	3,7501	62,4	21	38,008	2,3655	2,6
10	25,383	3,506	23,5	22	38,835	2,317	1,3
11	26,209	3,3974	29,7	23	39,015	2,3067	2,9
12	26,806	3,323	25,4				

[0009] У деяких варіантах реалізації даного винаходу крива диференціальної скануючої калориметрії (ДСК) кристалічної форми А сполуки 1 містить ендотермічний пік при 314,89 °C ± 2 °C.

5 [0010] У деяких варіантах реалізації даного винаходу ДСК-термограма кристалічної форми А сполуки 1 є такою, як показано на фіг. 2.

[0011] У деяких варіантах реалізації даного винаходу втрата маси на кривій термогравіметричного аналізу (ТГА) кристалічної форми А сполуки 1 становить до 0,2516 ± 0,2% при 120,00 ± 2 °C.

10 [0012] У деяких варіантах реалізації даного винаходу ТГА-термограма кристалічної форми А сполуки 1 є такою, як показано на фіг. 3.

[0013] У даному винаході запропонована кристалічна форма В сполуки 1, рентгенівська порошкова дифрактограма якої містить характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ: 12,25±0,2°, 21,97±0,2° і 23,62±0,2°.

15 [0014] У деяких варіантах реалізації даного винаходу рентгенівська порошкова дифрактограма кристалічної форми В сполуки 1 містить характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ: 12,25±0,2°, 13,24±0,2°, 15,77±0,2°, 21,97±0,2°, 23,62±0,2°, 25,24±0,2°, 26,70±0,2° і 37,51 ±0,2°.

20 [0015] У деяких варіантах реалізації даного винаходу рентгенівська порошкова дифрактограма (XRPD) кристалічної форми В сполуки 1 є такою, як показано на фіг. 4.

[0016] У деяких варіантах реалізації даного винаходу аналітичні дані рентгенівської порошкової дифрактометрії (XRPD) кристалічної форми В сполуки 1 є такими, як показано в таблиці 2.

Таблиця 2

Аналітичні дані рентгенівської порошкової дифрактометрії (XRPD)
кристалічної форми В сполуки 1

Номер	Кут 2θ (°)	Міжплощинна відстань (Å)	Відносна інтенсивність (%)	Номер	Кут 2θ (°)	Міжплощинна відстань (Å)	Відносна інтенсивність (%)
1	10,798	8,1866	1,5	12	26,705	3,3353	8,4
2	12,254	7,2171	100	13	29,384	3,0371	0,8
3	13,245	6,6793	11,4	14	32,956	2,7156	3,6
4	14,445	6,1268	2,3	15	33,33	2,686	0,7
5	15,774	5,6133	4,4	16	34,531	2,5953	0,9
6	21,376	4,1533	4,2	17	35,205	2,5471	0,3
7	21,966	4,0431	15,7	18	37,511	2,3956	18
8	23,623	3,7631	19,8	19	37,606	2,3899	9
9	24,731	3,5969	1,4	20	37,865	2,3741	1,7
10	25,241	3,5254	4,1	21	38,904	2,3131	0,9
11	26,073	3,4148	0,8				

[0017] У деяких варіантах реалізації даного винаходу крива диференціальної скануючої калориметрії (ДСК) кристалічної форми В сполуки 1 містить ендотермічний пік при $322,33\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

[0018] У деяких варіантах реалізації даного винаходу ДСК-термограма кристалічної форми В сполуки 1 є такою, як показано на фіг. 5.

[0019] У деяких варіантах реалізації даного винаходу втрата маси на кривій термогравіметричного аналізу (ТГА) кристалічної форми В сполуки 1 становить до $0,6939 \pm 0,2\%$ при $120 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

[0020] У деяких варіантах реалізації даного винаходу ТГА-термограма кристалічної форми В сполуки 1 є такою, як показано на фіг. 6.

[0021] У даному винаході запропонована кристалічна форма С сполуки 1, рентгенівська порошкова дифрактограма якої містить характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ : $12,40 \pm 0,2^{\circ}$ і $37,65 \pm 0,2^{\circ}$.

[0022] У деяких варіантах реалізації даного винаходу рентгенівська порошкова дифрактограма кристалічної форми С сполуки 1 містить характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ : $12,40 \pm 0,2^{\circ}$, $13,37 \pm 0,2^{\circ}$, $21,51 \pm 0,2^{\circ}$, $22,14 \pm 0,2^{\circ}$, $24,87 \pm 0,2^{\circ}$, $25,40 \pm 0,2^{\circ}$ і $37,65 \pm 0,2^{\circ}$.

[0023] У деяких варіантах реалізації даного винаходу рентгенівська порошкова дифрактограма (XRPD) кристалічної форми С сполуки 1 є такою, як показано на фіг. 7.

[0024] У деяких варіантах реалізації даного винаходу аналітичні дані рентгенівської порошкової дифрактометрії (XRPD) кристалічної форми С сполуки 1 є такими, як показано в таблиці 3.

Таблиця 3

Аналітичні дані рентгенівської порошкової дифрактометрії (XRPD)
кристалічної форми С сполуки 1

Номер	Кут 2θ (°)	Міжплощинна відстань (Å)	Відносна інтенсивність (%)	Номер	Кут 2θ (°)	Міжплощинна відстань (Å)	Відносна інтенсивність (%)
1	12,4	7,1325	100	5	24,871	3,5771	1,3
2	13,367	6,6183	1,3	6	25,398	3,504	1,8
3	21,509	4,1279	1	7	37,651	2,3871	16,8
4	22,139	4,0118	9	8	37,744	2,3814	8,5

5 [0025] У деяких варіантах реалізації даного винаходу крива диференціальної скануючої калориметрії (ДСК) кристалічної форми С сполуки 1 містить ендотермічний пік при $326,62\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

[0026] У деяких варіантах реалізації даного винаходу ДСК-термограма кристалічної форми С сполуки 1 є такою, як показано на фіг. 8.

10 [0027] У деяких варіантах реалізації даного винаходу втрата маси на кривій термогравіметричного аналізу (ТГА) кристалічної форми С сполуки 1 становить до $0,5564 \pm 0,2\%$ при $120 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

[0028] У деяких варіантах реалізації даного винаходу ТГА-термограма кристалічної форми С сполуки 1 є такою, як показано на фіг. 9.

15 [0029] У даному винаході також запропонована кристалічна форма D сполуки 1, рентгенівська порошкова дифрактограма якої містить характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ : $12,36 \pm 0,2^{\circ}$ і $37,62 \pm 0,2^{\circ}$.

[0030] У деяких варіантах реалізації даного винаходу рентгенівська порошкова дифрактограма кристалічної форми D сполуки 1 містить характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ : $12,36 \pm 0,2^{\circ}$, $24,84 \pm 0,2^{\circ}$ і $37,62 \pm 0,2^{\circ}$.

20 [0031] У деяких варіантах реалізації даного винаходу рентгенівська порошкова дифрактограма (XRPD) кристалічної форми D сполуки 1 є такою, як показано на фіг. 10.

[0032] У деяких варіантах реалізації даного винаходу аналітичні дані рентгенівської порошкової дифрактометрії (XRPD) кристалічної форми D сполуки 1 є такими, як показано в таблиці 4.

25

Таблиця 4

Аналітичні дані рентгенівської порошкової дифрактометрії (XRPD)
кристалічної форми D сполуки 1

Номер	Кут 2θ (°)	Міжплощинна відстань (Å)	Відносна інтенсивність (%)	Номер	Кут 2θ (°)	Міжплощинна відстань (Å)	Відносна інтенсивність (%)
1	12,365	7,1522	100	5	37,615	2,3893	14,1
2	21,512	4,1274	0,4	6	37,706	2,3837	6,9
3	22,089	4,0208	0,5	7	38,023	2,3646	0,9
4	24,836	3,582	1,2				

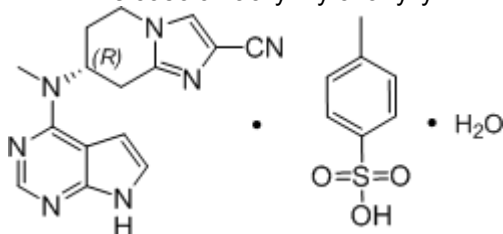
[0033] У деяких варіантах реалізації даного винаходу крива диференціальної скануючої калориметрії (ДСК) кристалічної форми D сполуки 1 містить ендотермічний пік при $326,13\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

[0034] У деяких варіантах реалізації даного винаходу ДСК-термограма кристалічної форми D сполуки 1 є такою, як показано на фіг. 11.

[0035] У деяких варіантах реалізації даного винаходу втрата маси на кривій термогравіметричного аналізу (ТГА) кристалічної форми D сполуки 1 становить до $0,3076 \pm 0,3\%$ при $185,13 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

[0036] У деяких варіантах реалізації даного винаходу ТГА-термограма кристалічної форми D сполуки 1 є такою, як показано на фіг. 12.

[0037] У даному винаході також запропонована п-толуолсульфонатна сіль сполуки 1, що являє собою наступну сполуку 2:



Сполука 2

[0038] У даному винаході запропонована кристалічна форма E сполуки 2, рентгенівська порошкова дифрактограма якої містить характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ : $6,21 \pm 0,2^{\circ}$, $10,92 \pm 0,2^{\circ}$ і $12,78 \pm 0,2^{\circ}$.

[0039] У деяких варіантах реалізації даного винаходу рентгенівська порошкова дифрактограма кристалічної форми E сполуки 2 містить характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ : $6,21 \pm 0,2^{\circ}$, $10,92 \pm 0,2^{\circ}$, $12,34 \pm 0,2^{\circ}$, $12,78 \pm 0,2^{\circ}$, $15,16 \pm 0,2^{\circ}$, $20,23 \pm 0,2^{\circ}$, $22,77 \pm 0,2^{\circ}$ і $23,03 \pm 0,2^{\circ}$.

[0040] У деяких варіантах реалізації даного винаходу рентгенівська порошкова дифрактограма (XRPD) кристалічної форми E сполуки 2 є такою, як показано на фіг. 13.

[0041] У деяких варіантах реалізації даного винаходу аналітичні дані рентгенівської порошкової дифрактометрії (XRPD) кристалічної форми E сполуки 2 є такими, як показано в таблиці 5.

Таблиця 5

Аналітичні дані рентгенівської порошкової дифрактометрії (XRPD)
кристалічної форми Е сполуки 2

Номер	Кут 2θ (°)	Міжплощинна відстань (Å)	Відносна інтенсивність (%)	Номер	Кут 2θ (°)	Міжплощинна відстань (Å)	Відносна інтенсивність (%)
1	6,21	14,2216	71,7	21	22,774	3,9014	39,4
2	7,594	11,632	1,6	22	23,033	3,8581	38,5
3	10,919	8,0958	61,8	23	23,983	3,7075	3,4
4	12,343	7,1651	20,1	24	25,003	3,5585	3,3
5	12,776	6,9233	100	25	25,559	3,4822	3
6	14,882	5,9477	5,8	26	25,831	3,4463	8,9
7	15,16	5,8394	17,5	27	26,797	3,3241	9,4
8	15,656	5,6556	3,6	28	27,506	3,24	2,7
9	16,11	5,4972	15	29	27,718	3,2158	3,8
10	17,015	5,2067	1,7	30	28,216	3,1602	5,5
11	17,509	5,0609	9,2	31	29,068	3,0694	4,5
12	17,728	4,999	12,8	32	29,522	3,0232	12,8
13	18,18	4,8758	12,8	33	29,914	2,9845	23
14	18,513	4,7887	4,3	34	30,448	2,9333	5,3
15	20,231	4,3858	28	35	31,001	2,8823	8,5
16	20,447	4,3399	14,9	36	32,259	2,7727	2,7
17	20,805	4,2661	2,5	37	32,951	2,716	2,1
18	21,081	4,2108	2,7	38	34,019	2,6332	3,3
19	21,825	4,0689	5,9	39	37,408	2,402	3,6
20	22,458	3,9557	3,9	40	37,901	2,3719	2,5

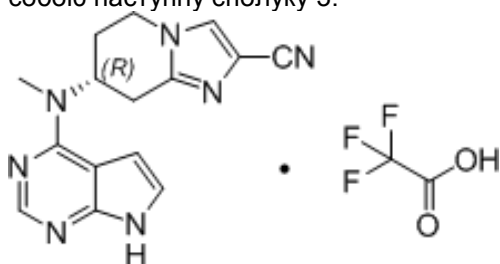
5 [0042] У деяких варіантах реалізації даного винаходу крива диференціальної скануючої калориметрії (ДСК) кристалічної форми Е сполуки 2 містить початкові точки ендотермічних піків при $90,87 \pm 2^\circ\text{C}$, $149,18 \pm 2^\circ\text{C}$ і $207,91 \pm 2^\circ\text{C}$.

[0043] У деяких варіантах реалізації даного винаходу ДСК-термограма кристалічної форми Е сполуки 2 є такою, як показано на фіг. 14.

10 [0044] У деяких варіантах реалізації даного винаходу втрата маси на кривій термогравіметричного аналізу кристалічної форми Е сполуки 2 досягає $3,723 \pm 0,5\%$ при $64,37 \pm 2^\circ\text{C}$.

[0045] У деяких варіантах реалізації даного винаходу ТГА-термограма кристалічної форми Е сполуки 2 є такою, як показано на фіг. 15.

[0046] У даному винаході також запропонована п-трифторацетатна сіль сполуки 1, що являє собою наступну сполуку 3:



Сполука 3

5 [0047] У деяких варіантах реалізації даного винаходу рентгенівська порошкова дифрактограма кристалічної форми F сполуки 3 містить характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ : $12,89 \pm 0,2^\circ$, $18,79 \pm 0,2^\circ$ і $24,70 \pm 0,2^\circ$.

10 [0048] У деяких варіантах реалізації даного винаходу рентгенівська порошкова дифрактограма кристалічної форми F сполуки 3 містить характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ : $12,89 \pm 0,2^\circ$, $15,78 \pm 0,2^\circ$, $17,67 \pm 0,2^\circ$, $18,79 \pm 0,2^\circ$, $19,38 \pm 0,2^\circ$, $20,47 \pm 0,2^\circ$, $24,70 \pm 0,2^\circ$ і $25,66 \pm 0,2^\circ$.

Таблица 6

Аналітичні дані рентгенівської порошкової дифрактометрії (XRPD)
кристалічної форми F сполуки 3

Номер	Кут 2θ ($^\circ$)	Міжплощинна відстань (Å)	Відносна інтенсивність (%)	Номер	Кут 2θ ($^\circ$)	Міжплощинна відстань (Å)	Відносна інтенсивність (%)
1	8,541	10,3438	17,3	18	24,304	3,6592	3
2	10,182	8,6804	5,7	19	24,698	3,6017	100
3	12,279	7,2025	2,5	20	25,663	3,4685	27,8
4	12,452	7,1027	2,6	21	25,923	3,4343	8,5
5	12,887	6,864	53,4	22	26,57	3,352	3,2
6	13,479	6,5637	6,2	23	27,128	3,2844	7,5
7	14,074	6,2875	12,5	24	27,678	3,2203	4,7
8	15,275	5,7957	37,5	25	27,996	3,1845	7,5
9	16,638	5,3237	15,7	26	28,334	3,1473	1,9
10	17,095	5,1825	13,3	27	28,671	3,111	3,8
11	17,668	5,0158	44,4	28	29,241	3,0517	4,1
12	18,415	4,814	31,5	29	30,264	2,9507	11
13	18,792	4,7181	44,9	30	30,82	2,8988	2,9
14	19,383	4,5756	26,4	31	34,255	2,6155	2,5

Продовження таблиці 6

15	20,47	4,335	20,9	32	35,539	2,5239	2,1
16	21,141	4,1989	15,3	33	36,231	2,4773	2,7
17	23,135	3,8414	6,8	34	37,277	2,4102	2,3

[0049] У деяких варіантах реалізації даного винаходу рентгенівська порошкова дифрактограма (XRPD) кристалічної форми F сполуки 3 є такою, як показано на фіг. 16.

5 [0050] У деяких варіантах реалізації даного винаходу крива диференціальної скануючої калориметрії (ДСК) кристалічної форми F сполуки 3 містить початкову точку ендотермічного піка при $203,73^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

[0051] У деяких варіантах реалізації даного винаходу ДСК-термограма кристалічної форми F сполуки 3 є такою, як показано на фіг. 17.

10 [0052] У деяких варіантах реалізації даного винаходу втрата маси на кривій термогравіметричного аналізу (ТГА) кристалічної форми F сполуки 3 досягає $0,9086 \pm 0,2\%$ при $138,71 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

[0053] У деяких варіантах реалізації даного винаходу ТГА-термограма кристалічної форми F сполуки 3 є такою, як показано на фіг. 18.

15 [0054] Технічний результат

[0055] Кристалічні форми А, В, С і D сполуки 1, кристалічна форма Е сполуки 2 і кристалічна форма F сполуки 3 є стабільними, характеризуються низькою гігроскопічністю, чудовою розчинністю у воді й являють собою багатообіцяючі лікарські засоби.

[0056] Визначення й опис

20 [0057] Якщо не зазначено інше, наступні терміни та вираження, що використовуються у даному винаході, мають наступні значення. Певний термін або вираження не слід вважати невизначеними або неясними, якщо відсутнє конкретне визначення, й їх слід розуміти відповідно до загальноприйнятих значень. Коли використовується торговельне найменування, воно призначене для позначення відповідного товару або його активних інгредієнтів.

25 [0058] Проміжні сполуки згідно з даним винаходом можна одержувати множиною способів синтезу, добре відомих фахівцям в даній області техніки, включаючи конкретні варіанти реалізації, описані нижче; варіанти реалізації, що являють собою комбінації наступних нижче варіантів реалізації з іншими способами хімічного синтезу; і заміщення на ті ж самі методи, добре відомі фахівцям в даній області техніки. Переважні варіанти реалізації включають, але не обмежуються ними, приклади даного винаходу.

30 [0059] Хімічні реакції у варіантах реалізації даного винаходу виконуються у підходящих розчинниках, які можна застосовувати для хімічних змін згідно з даним винаходом, а також реактивів і матеріалів, потрібних для здійснення зазначених реакцій. Для одержання сполук згідно з даним винаходом фахівець в даній області техніки може модифікувати або вибирати підходящі стадії або схеми реакцій на підставі існуючих варіантів реалізації.

35 [0060] Даний винахід далі буде докладно описаний у нижченаведених прикладах, які не призначені для якого-небудь обмеження обсягу даного винаходу.

[0061] Розчинники, які використовуються у даному винаході, є комерційно доступними та безпосередньо використовуються без додаткового очищення.

40 [0062] Наступні аббревіатури використовуються у даному винаході: ДФМА означає диметилформамід; MsOH означає метансульфонову кислоту; EtOH означає етанол; і NaOH означає гідроксид натрію.

45 [0063] Сполуки названі вручну або за допомогою програмного забезпечення ChemDraw(R), і для комерційно доступної сполуки використовується найменування, зазначене в каталозі постачальника.

[0064] Спосіб рентгенівської порошкової дифрактометрії (XRPD) згідно з даним винаходом

[0065] Модель устаткування: рентгенівський порошковий дифрактометр Brooke D8 Advance; і

[0066] Метод дослідження: приблизно 10-20 мг зразка для XRPD визначення.

50 [0067] Докладні параметри XRPD наступні:

[0068] Рентгенівська трубка: Cu, α , ($\lambda=1,54056\text{\AA}$);

[0069] Напруга на трубці: 40 kV; Струм трубки: 40 mA;

[0070] Щільність розбіжності: 0,60 мм;

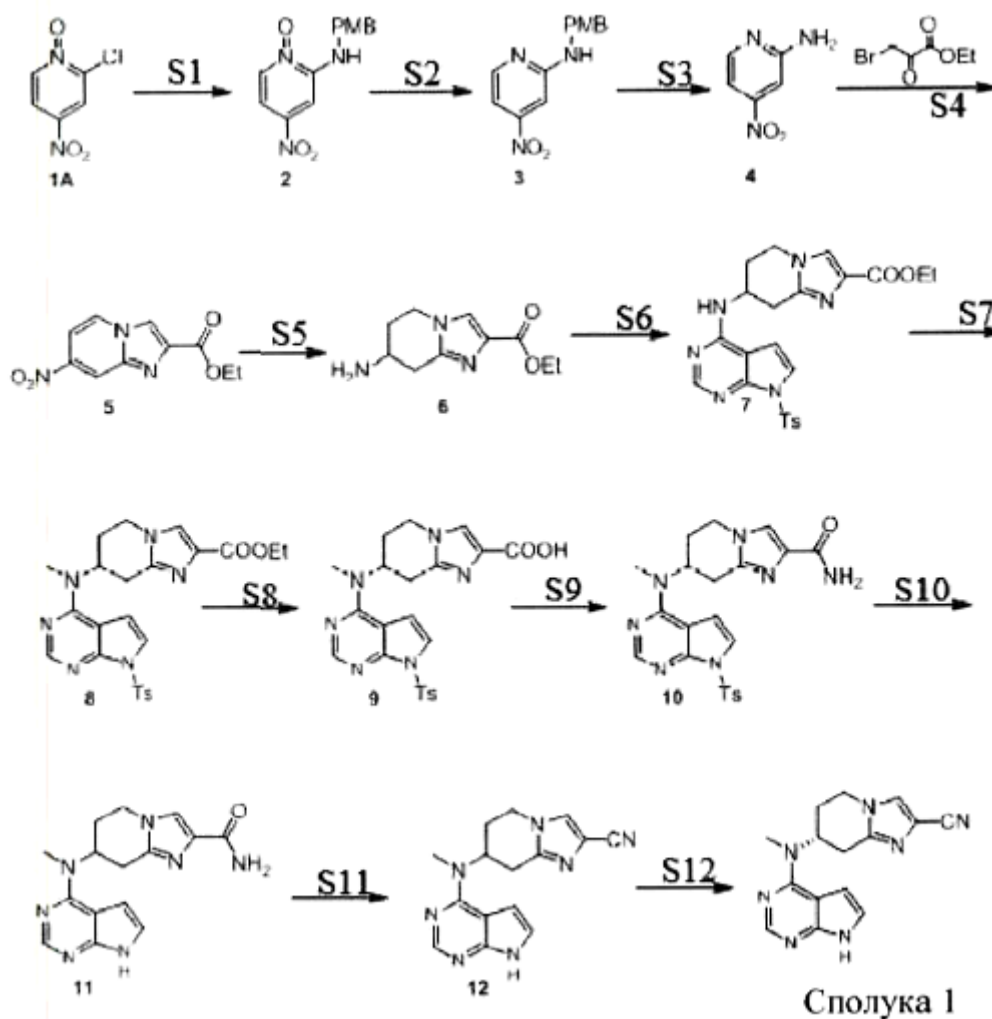
- [0071] Щілина детектора: 10,50 мм;
 [0072] Щілина для захисту (запобігання) від розсіяного випромінювання: 7,10 мм;
 [0073] Швидкість сканування: 4-40 градусів;
 [0074] Діаметр кроку: 0,02 градуса;
 5 [0075] Розмір кроку: 0,12 секунд; і
 [0076] Швидкість обертання: 15 об./хв.
 [0077] Спосіб диференціальної скануючої калориметрії згідно з даним винаходом
 [0078] Модель устаткування: диференціальний скануючий калориметр TAQ2000; і
 [0079] Метод дослідження: зразок (приблизно 1 мг) поміщають в алюмінієве гніздо для ДСК
 10 дослідження та нагрівають зазначений зразок від 25 °С до 350 °С зі швидкістю 10 °С/хв. в умовах 50 мл/хв N₂.
 [0080] Умови аналізу для ТГА згідно з даним винаходом
 [0081] Модель устаткування: TAQ5000IR термогравіметричний аналізатор; і
 [0082] Метод дослідження: зразок (2-5 мг) поміщають у платинове гніздо для ТГА
 15 дослідження та нагрівають зазначений зразок від кімнатної температури до 350 °С (або втрати 20 % маси) зі швидкістю 10 °С/хв. в умовах 25 мл/хв. N₂.

КОРОТКИЙ ОПИС ГРАФІЧНИХ МАТЕРІАЛІВ

- [0083] Фігура 1 являє собою Cu-ка рентгенівську порошкову дифрактограму кристалічної форми А сполуки 1;
 20 [0084] Фігура 2 являє собою ДСК-термограму кристалічної форми А сполуки 1;
 [0085] Фігура 3 являє собою ТГА-термограму кристалічної форми А сполуки 1;
 [0086] Фігура 4 являє собою Cu-ка рентгенівську порошкову дифрактограму кристалічної форми В сполуки 1;
 [0087] Фігура 5 являє собою ДСК-термограму кристалічної форми В сполуки 1;
 25 [0088] Фігура 6 являє собою ТГА-термограму кристалічної форми В сполуки 1;
 [0089] Фігура 7 являє собою Cu-ка рентгенівську порошкову дифрактограму кристалічної форми С сполуки 1;
 [0090] Фігура 8 являє собою ДСК-термограму кристалічної форми С сполуки 1;
 [0091] Фігура 9 являє собою ТГА-термограму кристалічної форми С сполуки 1;
 30 [0092] Фігура 10 являє собою Cu-ка рентгенівську порошкову дифрактограму кристалічної форми D сполуки 1;
 [0093] Фігура 11 являє собою ДСК-термограму кристалічної форми D сполуки 1;
 [0094] Фігура 12 являє собою ТГА-термограму кристалічної форми D сполуки 1;
 [0095] Фігура 13 являє собою Cu-ка рентгенівську порошкову дифрактограму кристалічної
 35 форми Е сполуки 2;
 [0096] Фігура 14 являє собою ДСК-термограму кристалічної форми Е сполуки 2;
 [0097] Фігура 15 являє собою ТГА-термограму кристалічної форми Е сполуки 2;
 [0098] Фігура 16 являє собою Cu-ка рентгенівську порошкову дифрактограму кристалічної форми F сполуки 3;
 40 [0099] Фігура 17 являє собою ДСК-термограму кристалічної форми F сполуки 3; і
 [00100] Фігура 18 являє собою ТГА-термограму кристалічної форми F сполуки 3.

ДОКЛАДНИЙ ОПИС ВАРІАНТІВ РЕАЛІЗАЦІЇ

- [00101] Даний винахід далі проілюстрований за допомогою комбінації конкретних прикладів,
 45 представлених для кращого розуміння змісту даного винаходу, які при цьому не призначені для якого-небудь обмеження даного винаходу.
 [00102] Приклад 1: Одержання сполуки 1



[00103] Стадія 1: 2-хлоро-4-нітро-1-оксо-піридин-1-ій (40,0 г, 229,2 ммоль) і (4-метоксифеніл)метиламін (63 г, 458,4 ммоль) розчиняли в EtOH (400 мл), потім отриману суміш перемішували зі зворотним холодильником протягом 5 год. ТШХ (РЕ:ЕА = 2:1) показала, що реакція була завершена. Половину об'єму EtOH концентрували й охолоджували на крижаній лазні протягом 2-3 годин. Отриману холодну суміш фільтрували та відділену тверду речовину промивали РЕ (60 мл*3) і крижаною водою (60 мл*3), відповідно. Потім сушили у вакуумі з одержанням N-[(4-(метоксифеніл)метил]-4-нітро-1-оксопіридин-1-ій-2-аміну (2) (38,6 г, 140,2 ммоль, вихід 61,2 %) у вигляді жовтогарячої твердої речовини. MS (ESI) Обчислено для C₁₃H₁₃N₃O₄ 275, виявлено 276 [M+H]⁺.

[00104] Стадія 2: До розчину N-[(4-(метоксифеніл)метил]-4-нітро-1-оксопіридин-1-ій-2-аміну (5,0 г, 18,16 ммоль) в CHCl₃ (50 мл) додавали по краплях PCl₃ (8,4 г, 60,8 ммоль) при 0 °С. Після додавання реакційну суміш нагрівали до 25 °С й інтенсивно перемішували протягом 16 год. ТШХ (РЕ:ЕА = 1:1) показала, що реакція була завершена. Реакційну суміш фільтрували й отриману тверду речовину промивали РЕ (30 мл*3) з одержанням N-[(4-(метоксифеніл)метил]-4-нітропіридин-2-аміну (3) (4,2 г, неочищений продукт) у вигляді жовтої твердої речовини, яку безпосередньо використовували на наступній стадії без додаткового очищення. MS (ESI) Обчислено для C₁₅H₁₈N₆ 259, виявлено 260 [M+H]⁺.

[00105] Стадія 3: До розчину N-[(4-(метоксифеніл)метил]-4-нітропіридин-2-аміну (4,2 г, 16,2 ммоль) у толуольному розчині (10 мл) додавали по краплях ТФО (5,0 мл) при кімнатній температурі. Суміш перемішували при 80 °С протягом 2 годин. ТШХ (РЕ:ЕА = 1:1) показала, що реакція була завершена. Суміш концентрували при зниженому тиску з видаленням розчинника. Залишок розбавляли H₂O (50 мл) й його рН доводили до нейтрального за допомогою твердого NaHCO₃. Водну фазу екстрагували ЕА (50 мл*3). Об'єднану органічну фазу сушили безводним сульфатом натрію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску. Отриманий залишок очищали за допомогою колоночної хроматографії (діоксид кремнію, петролейний ефір/етилацетат = 1/0 ~ 1:1) з одержанням 4-нітропіридин-2-аміну (4) (700 мг, 5,0 ммоль, вихід

31,1 %) у вигляді жовтогарячої твердої сполуки. MS (ESI) Обчислено для $C_5H_5N_3O_2$ 139, виявлено 140 $[M+H]^+$.

[00106] Стадія 4: До 4-нітропіридин-2-аміну (200 мг, 1,4 ммоль) в DME (5 мл) додавали етил-3-бром-2-оксопропаноат (280 мг, 1,4 ммоль) при кімнатній температурі. Отриману суміш перемішували при 25 °C протягом 1 години, потім концентрували при зниженому тиску з видаленням розчинника. Залишок розчиняли в EtOH (10 мл) і кип'ятили зі зворотним холодильником протягом 3 годин. ТШХ показала, що реакція була завершена. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і розчинник концентрували при зниженому тиску. Залишок підлугувували насиченим водним розчином $NaHCO_3$ (25 мл). Водну фазу екстрагували ДХМ (15 мл*3), потім об'єднану органічну фазу сушили безводним сульфатом натрію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску. Отриманий залишок очищали за допомогою швидкої колоночної хроматографії (ЕА:РЕ=10-60 %) з одержанням етил 7-нітроїмідазо[1,2-а]піридин-2-карбоксилату (5) (302 мг, вихід 88,9 %) у вигляді блідо-жовтої твердої сполуки. MS (ESI) Обчислено для $C_{10}H_9N_3O_4$ 235, виявлено 236 $[M+H]^+$.

[00107] Стадія 5: До розчину етил 7-нітроїмідазо[1,2-а]піридин-2-карбоксилату (150 мг, 637,8 ммоль) в етанолі (20 мл) додавали HCl (7 мг, 0,2 ммоль) і PtO_2 (15 мг, 0,6 ммоль) при кімнатній температурі. Реакційну систему по черзі вакуумували та заповнювали азотом три рази, потім заповнювали H_2 (50 psi) і перемішували при 50 °C для взаємодії протягом 16 годин. ТШХ (РЕ:ЕА = 1:1) показала, що реакція була завершена. Половину об'єму суміші концентрували та фільтрували, з одержанням гідрохлориду етил 7-аміно-5,6,7,8-тетрагідроїмідазо[1,2-а]піридин-2-карбоксилату (6) (120 мг, неочищений продукт) у вигляді білої твердої сполуки. MS (ESI) Обчислено для $C_{10}H_{15}N_3O_2$ 209, виявлено 210 $[M+H]^+$. [00108] Стадія 6: Гідрохлорид етил 7-аміно-5,6,7,8-тетрагідроїмідазо[1,2-а]піридин-2-карбоксилату (100 мг, 0,4 ммоль) і 4-хлор-7-(п-толуолсульфоніл)-піроло[2,3-d]піримідин (137 мг, 0,4 ммоль) розчиняли в n-BuOH (5 мл) і додавали DIEA (158 мг, 1,2 ммоль). Отриману суміш перемішували та кип'ятили зі зворотним холодильником для взаємодії протягом 16 годин. РХ-МС показала, що реакція була завершена. Реакційну суміш концентрували при зниженому тиску, потім отриманий залишок розбавляли водою (10 мл). Водну фазу екстрагували ЕА (20 мл*3), потім об'єднану органічну фазу сушили безводним сульфатом натрію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску. Отриманий залишок очищали за допомогою препаративної ТШХ (РЕ:ЕА = 0:1) з одержанням етил 7-[[7-(п-толуолсульфоніл)-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл]аміно]-5,6,7,8-тетрагідроїмідазо[1,2-а]піридин-2-карбоксилату (7) (55 мг, 0,11 ммоль, вихід 28,1 %) у вигляді блідо-жовтої твердої сполуки. MS (ESI) Обчислено для $C_{23}H_{24}N_6O_4S$ 480, виявлено 481 $[M+H]^+$.

[00109] Стадія 7: До розчину етил 7-[[7-(п-толуолсульфоніл)-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл]аміно]-5,6,7,8-тетрагідроїмідазо[1,2-а]піридин-2-карбоксилату (3,0 г, 6,2 ммоль) у ТГФ (150 мл) партіями додавали NaH (499 мг, 12,5 ммоль) при 0 °C в атмосфері N_2 . Суміш перемішували при даній температурі протягом 1 години, і потім по краплях додавали MeI (7,1 г, 50,2 ммоль). Після додавання суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години. ТШХ показала, що реакція була завершена. Реакцію завершували додаванням насиченого NH_4Cl (10 мл), після чого розбавляли крижаною водою (50 мл). Водну фазу екстрагували змішаним розчинником ДХМ/MeOH (3:1, 50 мл*3). Об'єднану органічну фазу сушили безводним сульфатом натрію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску. Отриманий неочищений продукт очищали за допомогою швидкої колоночної хроматографії (ДХМ:MeOH=10:1) з одержанням етил 7-[метил-[7-(п-толуолсульфоніл)-піроло[2,3-d] піримідин-4-іл]аміно]-5,6,7,8-тетрагідроїмідазо[1,2-а]піридин-2-карбоксилату (8) (1,5 г, вихід 45 %) у вигляді блідо-жовтої твердої речовини. MS (ESI) Обчислено для $C_{24}H_{26}N_6O_4S$ 494, виявлено 495 $[M+H]^+$.

[00110] Стадія 8: До розчину 7-[метил-[7-(п-толуолсульфоніл)-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл]аміно]-5,6,7,8-тетрагідроїмідазо[1,2-а]піридин-2-карбоксилату (4,0 г, 8,1 ммоль) у ТГФ (40 мл) і воді (8 мл), потім додавали LiOH. H_2O (509 г, 12,1 ммоль) й отриману суміш перемішували при 20 °C протягом 10 годин. ТШХ показала, що реагент був повністю витрачений. Реакційну суміш концентрували при зниженому тиску, потім отриманий залишок розбавляли водою (10 мл). Тверду речовину відфільтровували та концентрували при зниженому тиску з одержанням 7-[метил-[7-(п-толуолсульфоніл)-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл]аміно]-5,6,7,8-тетрагідроїмідазо[1,2-а]піридин-2-карбонової кислоти (9) (3,6 г, вихід 95,4 %) у вигляді білої твердої речовини. MS (ESI) Обчислено для $C_{22}H_{22}N_6O_4S$ 466, виявлено 467 $[M+H]^+$.

[00111] Стадія 9: До розчину 7-[метил-[7-(п-толуолсульфоніл)-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл]аміно]-5,6,7,8-тетрагідроїмідазо[1,2-а]піридин-2-карбонової кислоти (1,8 г, 3,9 ммоль) у ДМФА (20 мл) додавали CDI (751 мг, 4,6 ммоль) при 0 °C. Реакційний розчин нагрівали до 25 °C і перемішували протягом 2 годин, потім додавали твердий хлорид амонію (2,1 г, 38,6 ммоль), після чого залишали на ніч при кімнатній температурі. РХ-МС показала, що реагенти були

повністю витрачені. Реакційну суміш виливали в крижану воду (50 мл) і виділяли білу тверду речовину. Тверду речовину фільтрували, промивали водою (20 мл) та висушували в центрифугі з одержанням 7-[метил-7-(п-толуолсульфоніл)-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл]аміно]-5,6,7,8-тетрагідроімідазо[1,2-a]піридин-2-карбоксаміду (10) (2,5 г, неочищений продукт) у вигляді білої

твердої речовини, яку безпосередньо використовували на наступній стадії. MS (ESI) Обчислено для $C_{22}H_{23}N_7O_3S$ 465, виявлено 466 $[M+H]^+$.
[00112] Стадія 10: 7-[метил-7-(п-толуолсульфоніл)-піроло[2,3-d]піримідин-4-іл]аміно]-5,6,7,8-тетрагідроімідазо[1,2-a]піридин-2-карбоксамід (2,5 г, 5,4 ммоль) розчиняли в ТГФ (20 мл), MeOH (10 мл) і H_2O (6 мл) і додавали NaOH (429,6 мг, 10,7 ммоль). Суміш нагрівали до 60 °C і перемішували протягом 30 хвилин. РХ-МС показала, що реагенти були повністю витрачені. Реакційну суміш концентрували при зниженому тиску з одержанням 7-[метил-7-гептагідропіроло[2,3-d]піримідин-4-іл]аміно]-5,6,7,8-тетрагідроімідазо[1,2-a]піридин-2-карбоксаміду (2,0 г неочищеного продукту) у вигляді білої твердої речовини, яку безпосередньо використовували на наступній стадії. MS (ESI) Обчислено для $C_{15}H_{17}N_7O$ 311, виявлено 312 $[M+H]^+$.

[00113] Стадія 11: До розчину 7-[метил-7-гептагідропіроло[2,3-d]піримідин-4-іл]аміно]-5,6,7,8-тетрагідроімідазо[1,2-a]піридин-2-карбоксаміду (2,0 г, 6,4 ммоль) і триетиламіну (3,9 г, 38,5 ммоль) у ТГФ (20 мл) додавали по краплях ТФОА (трифтороцтовий ангідрид) (4,1 г, 19,3 ммоль) при 0 °C. Після додавання реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 30 хв. РХ-МС показала, що вихідна сировина була повністю витрачена. Реакційну суміш виливали в крижану воду (20 мл) й екстрагували ДХМ/MeOH (5:1, 100 мл*2).

Об'єднаний органічний шар промивали насиченою солоною водою (20 мл), сушили над безводним сульфатом натрію, фільтрували та концентрували при зниженому тиску з одержанням залишку. Залишок очищали за допомогою колоночної хроматографії (ДХМ/MeOH=40/1 до 20:1) з одержанням 7-[метил-7-гідропіроло[2,3-d]піримідин-4-іл]аміно]-5,6,7,8-тетрагідроімідазо[1,2-a]піридин-2-нітрилу (12,378 мг, вихід 19,8 %). MS (ESI)

Обчислено для $C_{15}H_{15}N_7$ 293, виявлено 294 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$) 11,44-11,71 (m, 1H), 7,99-8,17 (m, 2H), 7,11-7,20 (m, 1H), 6,63 (dd, $J=1,76, 3,26$ Гц, 1H), 5,33 (br. s., 1H), 4,21-4,31 (m, 1H), 4,13 (dt, $J = 4,14, 12,49$ Гц, 1H), 3,27 (s, 3H), 2,91-3,11 (m, 2H), 2,31-2,44 (m, 1H), 2,07 (d, $J = 11,54$ Гц, 1H).

[00114] Стадія 12: Рацемічний 7-[метил-7-гідропіроло[2,3-d]піримідин-4-іл]аміно]-5,6,7,8-тетрагідроімідазо[1,2-a]піридин-2-нітрil (30 мг, 102,3 мкмоль) розділяли за допомогою хіральної колонки з одержанням сполуки 1 (10 мг, вихід 32,8 %).

[00115] Умови поділу SFC (надкритична флюїдна хроматографія):

[00116] Колонка: AD (250 мм*30 мм, 10 мкм) хіральна колонка

[00117] Рухома фаза: А: надкритичний CO_2 , В: етанол (містить 0,1 % ізопропанолу), А:В=55:45

[00118] Витрата: 80 мл/хв.

[00119] Температура колонки: 38 °C

[00120] Довжина хвилі: 220 нм

[00121] Тиск упорскування: 100 Бар

[00122] Температура сопла: 60 °C

[00123] Температура випаровування: 20 °C

[00124] Температура кондиціонування: 25 °C

[00125] Сполука 1: час утримання 6,407 хв.; MS (ESI) Обчислено для $C_{15}H_{15}N_7$ 293, виявлено 294 $[M+H]^+$. Чистота 98,8 %, виявлено було 98,9 %; $[\alpha]_D^{20} = +78,4^\circ$ ($c = 0,6$, $DMCO$). MS (ESI) Обчислено для $C_{15}H_{15}N_7$ 294, виявлено 294 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$) δ ppm 2,02 - 2,15 (m, 1H), 2,39 (qd, $J=12,42, 5,90$ Гц, 1H), 2,92 - 3,12 (m, 2H), 3,28 (s, 3H), 4,05-4,36 (m, 2H), 5,20 - 5,45 (m, 1H) 6,64 (dd, $J=3,26, 2,51$ Гц, 1H) 8,02 - 8,17 (m, 2H) 11,59 (br s, 1H).

[00126] Приклад 2: Одержання кристалічної форми F сполуки 3 і кристалічної форми А сполуки 1

[00127] 1 г сполуки 1 додавали в 5 мл ацетону і 0,5 мл ТФА та нагрівали зі зворотним холодильником. Додавали 10 мл МТБЕ. Суміш фільтрували для видалення нерозчинних речовин. Отриманий розчин залишали на 12 годин для відділення твердого осаду, який потім відфільтровували. Осад промивали МТБЕ та висушували з одержанням трифторацетатної солі сполуки 1, зокрема, кристалічної форми F сполуки 3. Після того як кожний грам сполуки 3 розчинили додаванням 10 мл води, 0,1 мл ТФА та 1 мл MeOH, систему доводили до лужного середовища за допомогою насиченого розчину $NaHCO_3$. Цього разу відокремлювали та фільтрували білу тверду речовину. Осад промивали водою (5 мл*3) для видалення неорганічних солей. В результаті сушіння під вакуумом одержували чисту білу тверду речовину,

зокрема, кристалічну форму А сполуки 1.

[00128] Приклад 3: Одержання кристалічної форми В сполуки 1

[00129] Приблизно 20 мг кристалічної форми А сполуки 1 додавали в 20 мл етанолу, потім суміш розчиняли для ультразвукової обробки та центрифугували. Отриманий супернатант випаровувався природним чином у витяжній шафі. Тверді зразки, що залишилися, висушували протягом ночі у вакуумній печі (30 °C) з одержанням кристалічної форми В сполуки 1.

[00130] Приклад 4: Одержання кристалічної форми С сполуки 1

[00131] Приблизно 20 мг кристалічної форми А сполуки 1 додавали в 20 мл тетрагідрофурану, потім суміш розчиняли для ультразвукової обробки та центрифугували. Отриманий супернатант випаровувався природно у витяжній шафі. Тверді зразки, що залишилися, висушували протягом ночі у вакуумній печі (30 °C) з одержанням кристалічної форми С сполуки 1.

[00132] Приклад 5: Одержання кристалічної форми D сполуки 1

[00133] Приблизно 25 мг кристалічної форми А сполуки 1 по краплях додавали в 10 мл суміші розчинників етанол-вода (3:1), потім зазначену суміш поміщали на магнітну мішалку та нагрівали (50 °C) до розчинення, потім швидко фільтрували. Фільтрат охолоджували у холодильнику при 5 °C. Тверді зразки, що залишилися, висушували протягом ночі у вакуумній печі (30 °C) з одержанням кристалічної форми D сполуки 1.

[00134] Приклад 6: Одержання сполуки 2

[00135] 60 мг сполуки 1 додавали в скляну посудину, потім додавали 2 мл ДМСО. Суміш поміщали на магнітну мішалку та нагрівали (50 °C) до розчинення, потім повільно додавали п-толуолсульфонову кислоту (молярне відношення сполуки 1 до п-толуолсульфонової кислоти було 1:1). Спостереження показали, що всі зразки перебували в стані розчину й осад не з'являвся. Після нагрівання та перемішування протягом 1 години, нагрівання припиняли; зразки розчинів залишали охолонути при перемішуванні. Через 3 години зразки залишалися в стані розчину, потім додавали етилацетат. Розчин концентрували роторним випаровуванням, після чого заморожували з одержанням сполуки 2.

[00136] Приклад 7: Одержання кристалічної форми Е сполуки 2

[00137] Приблизно 40 мг вихідної сполуки 2 додавали в 0,4 мл метанолу з утворенням суспензії. Зразок суспензії збовтували на термостатичному гомогенізаторі (40 °C) протягом 2 днів (удаліні від світла). Тверді зразки, що залишилися, висушували протягом ночі у вакуумній печі (25 °C) з одержанням кристалічної форми Е сполуки 2.

[00138] Експериментальний приклад 1: Дослідження стабільності кристалічної форми А сполуки 1 у різних розчинниках

[00139] Ці дослідження розчинності проводилися вручну послідовним розведенням і спостереженням за розчинністю при кімнатній температурі. Приблизно 2 мг кристалічної форми А сполуки 1 додавали у посудини, що містять різні рідкі фази, відповідно, потім постійно додавали невелику кількість органічного розчинника або суміші розчинників (наведених в таблиці 7). Спостерігали розчинення кристалічної форми А сполуки 1. Результати представлені в таблиці 7.

Таблиця 7

Розчинність форми А у різних розчинниках

Номер	Розчинник	Розчинність (мг/мл)	Висновок
1	Метанол	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
2	Етанол	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна

Продовження таблиці 7

3	Ізопропанол	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
4	N-бутанол	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
5	Ацетонітрил	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
6	Ацетон	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
7	Метилетилкетон	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
8	Метилізобутилкетон	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
9	Етилацетат	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
10	Ізопропілацетат	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
11	Метил третбутиловий ефір	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
12	Тетрагідрофуран	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
13	2-метилтетрагідрофуран	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
14	Толуол	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
15	Гептан	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
16	Циклогексан	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна

Продовження таблиці 7

17	1,4-діоксан	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
18	Вода	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
19	Метанол-вода (1:1)	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
20	Метанол-вода (3:1)	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
21	Етанол-вода (1:1)	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
22	Етанол-вода (3:1)	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
23	Ацетонітрил-вода (1:1)	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
24	Ацетон-вода (1:2)	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна
25	Ізопропіловий спирт-вода (1:1)	<2	Погано розчинна/дуже погано розчинна

[00140] Експериментальний приклад 2: Дослідження стабільності кристалічної форми А сполуки 1 у різних розчинниках

5 [00141] 30 мг кристалічної форми А сполуки 1 додавали в 0,2 мл окремого розчинника або суміш розчинників, наведених в таблиці нижче, відповідно; потім кожну суміш перемішували при 40 °С протягом 2 днів і центрифугували. Збирали тверді речовини у всіх зразках і висушували протягом ночі у вакуумній печі (25 °С). Кристалічні форми отриманих твердих речовин визначали за допомогою рентгенівської порошкової дифрактометрії, результати представлені в

10 таблиці 8.

Таблиця 8

Дослідження стабільності кристалічної форми А сполуки 1 у різних розчинниках

Номер	Розчинник	Поява (2 дні)	Результати
1	Метанол	Суспензія	Кристалічна форма А
2	Етанол	Суспензія	Кристалічна форма А
3	Ізопропанол	Суспензія	Кристалічна форма А
4	Ацетон	Суспензія	Кристалічна форма А
5	Етилацетат	Суспензія	Кристалічна форма А
6	Тетрагідрофуран	Суспензія	Кристалічна форма А
7	Метанол-вода (3:1)	Суспензія	Кристалічна форма А
8	Етанол-вода (3:1)	Суспензія	Кристалічна форма А
9	Ацетон-вода (1:2)	Суспензія	Кристалічна форма А
10	Ізопропіловий спирт-вода (1:1)	Суспензія	Кристалічна форма А

[00142] Експериментальний приклад 3: Дослідження стабільності кристалічної форми Е сполуки 2 в умовах високої температури, високої вологості та сильного освітлення

[00143] Згідно з "Керівництвом для тесту стабільності API та препаратів" (Загальні принципи 9001 у чотирьох частинах Китайської фармакопеї, видання 2015), стабільність кристалічної форми Е сполуки 2 досліджувалася при високій температурі (60 °C, відкрито), високій вологості (кімнатна температура/відносна вологість 92,5%, відкрито) та сильному світловому випромінюванні (5000 люкс, закрито).

[00144] Підходящу кількість зразка кристалічної форми Е сполуки 2 поміщали на дно скляної посудини та розподіляли тонким шаром. Посудину, що містить зразки, поміщали в умови високої температури і високої вологості та накривали алюмінієвою фольгою, при цьому в алюмінієвій фользі були пророблені отвори для забезпечення достатнього контакту зразків з атмосферним повітрям; також зразки поміщали під сильне випромінювання світла та закривали кришкою, що загвинчується. Відбирали зразки, які поміщали в різні умови, і досліджували за допомогою рентгенівської порошкової дифрактометрії на 5 день і 10 день. Результати досліджень порівнювали з первинними результатами свіжоприготовленого зразка (день 0). Результати досліджень показані в таблиці 9 нижче.

Таблиця 9

Дослідження стабільності кристалічної форми Е сполуки 2

Умови досліджень	Час	Поява	XRPD
-	свіжоприготовлений зразок (день 0)	Білий порошок	Кристалічна форма Е
Висока температура (60 °С, відкрито)	день 5	Білий порошок	Кристалічна форма Е
	день 10		Кристалічна форма Е
Висока вологість (кімнатна температура/ відносна вологість 92,5%, відкрито)	день 5	Білий порошок	Кристалічна форма Е
	день 10		Кристалічна форма Е
Сильне світлове випромінювання (5000 люкс, закрито)	день 5	Білий порошок	Кристалічна форма Е
	день 10		Кристалічна форма Е

[00145] Дослідження активності in vitro у відношенні Jak 1, Jak 2 і Jak 3 кіназ

5 [00146] Досліджувані матеріали

[00147] Рекombінантні гуманізовані протеази JAK1, JAK2 і JAK3 були придбані в Life technology. Пептид LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023) і LANCE Eu-W1024 Антифосфотирозин (PT66) були придбані у PerkinElmer. Планшети вивчали за допомогою мультиплексного рідера ферментів Envision (PerkinElmer).

10 [00148] Метод дослідження

[00149] Досліджувану сполуку піддавали трикратному градієнтному розведенню з одержанням 11 кінцевих концентрацій в діапазоні від 10 мкМ до 0,17 нМ, де кожна концентрація була представлена у двох лунках, і вміст ДМСО при визначенні реакції становив 1%.

[00150] Ферментативна реакція JAK1

15 [00151] 2 нМ JAK1 протеїнкінази, 50 нМ пептиду LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023), 38 мкМ АТФ, 50 мМ HEPES (pH 7,5), 10 мМ MgCl₂, 1 мМ EGTA, 2 мМ DTT, і 0,01 % BRIJ-35 були включені. Планшет дослідження являв собою білий планшет Proxiplate 384-Plus plate (PerkinElmer). Реакцію проводили протягом 90 хв. при кімнатній температурі; і реакційна система становила 10 мкл.

20 [00152] Ферментативна реакція JAK2

[00153] 0,02 нМ JAK2 протеїнкінази, 50 нМ пептиду LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023), 12 мкМ АТФ, 50 мМ HEPES (pH 7,5), 10 мМ MgCl₂, 1 мМ EGTA, 2 мМ DTT, і 0,01% BRIJ-35 були включені. Планшет дослідження являв собою білий планшет Proxiplate 384-Plus plate (PerkinElmer). Реакцію проводили протягом 60 хв. при кімнатній температурі; і реакційна система становила 10 мкл.

25

[00154] Ферментативна реакція JAK3

[00155] 0,05 нМ JAK2 протеїнкінази, 50 нМ пептиду LANCE Ultra ULight™-JAK-1 (Tyr1023), 4 мкМ АТФ, 50 мМ HEPES (pH 7,5), 10 мМ MgCl₂, 1 мМ EGTA, 2 мМ DTT і 0,01 % BRIJ-35 були включені. Планшет дослідження являв собою білий планшет Proxiplate 384-Plus plate

(PerkinElmer). Реакцію проводили протягом 90 хв. при кімнатній температурі; і реакційна система становила 10 мкл.

[00156] Визначення реакції:

5 [00157] У реакційний планшет додавали 10 мкл детектуючого реагенту, де кінцева концентрація LANCE Eu-W1024 Антифосфотирозин (PT66) становила 2 нМ, кінцева концентрація становила EDTA становила 10 нМ. Інкубацію проводили протягом 60 хв. при кімнатній температурі; і планшет зчитували за допомогою інструменту Envision.

[00158] Аналіз даних

10 [00159] Показання перетворили в коефіцієнт інгібування (%) згідно з рівнянням: коефіцієнт інгібування (%) = (Мін-Відношення)/(Макс-Мін)*100%. Дані IC₅₀ визначали за допомогою підбору 4-параметричної кривої (Model 205 в XLFIT5, iDBS). Подробиці в таблиці 9.

Таблиця 9

Сполука	JAK1	JAK2
Сполука 1	A	B

15 $A \leq 10$ нМ; $10 < B \leq 100$ нМ.

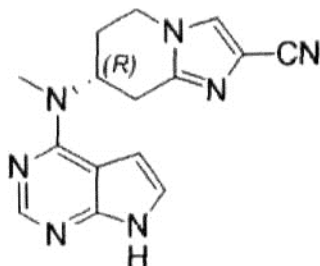
[00160] Сполука 1 проявляла сильну інгібуючу активність у відношенні JAK1 і відносно слабку активність у відношенні JAK2, що свідчить про те, що сполука 1 проявляла поліпшену селективну інгібуючу активність стосовно JAK.

20

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Кристалічна форма А наступної сполуки 1, рентгенівська порошкова дифрактограма якої містить характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ: 12,38±0,2°, 13,34±0,2°, 15,85±0,2°, 22,09±0,2°, 23,71±0,2°, 25,38±0,2°, 26,21±0,2° і 26,81±0,2°:

25

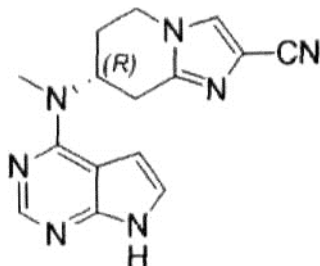


Сполука 1.

2. Кристалічна форма А сполуки 1 за п. 1, яка **відрізняється** тим, що її рентгенівська порошкова дифрактограма є такою, як показано на фіг. 1.

3. Кристалічна форма В сполуки 1, рентгенівська порошкова дифрактограма якої містить характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ: 12,25±0,2°, 13,24±0,2°, 15,77±0,2°, 21,97±0,2°, 23,62±0,2°, 25,24±0,2°, 26,70±0,2° і 37,51±0,2°:

30

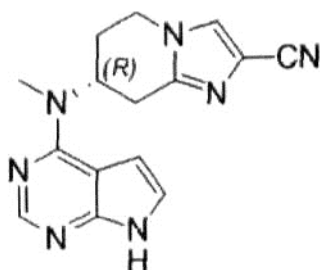


Сполука 1.

4. Кристалічна форма В сполуки 1 за п. 3, яка **відрізняється** тим, що її дифрактограма є такою, як показано на фіг. 4.

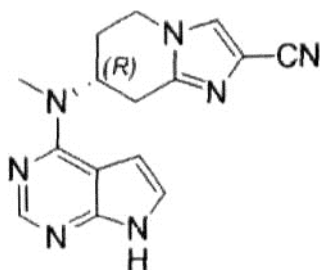
5. Кристалічна форма С сполуки 1, рентгенівська порошкова дифрактограма якої містить характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ: 12,40±0,2°, 13,37±0,2°, 21,51±0,2°, 22,14±0,2°, 24,87±0,2°, 25,40±0,2° і 37,65±0,2°:

35



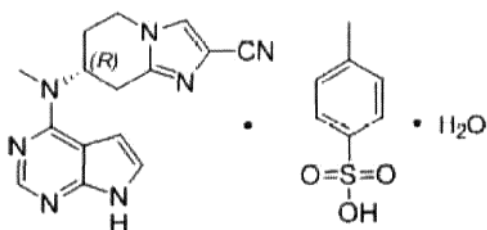
Сполука 1.

6. Кристалічна форма С сполуки 1 за п. 5, яка **відрізняється** тим, що її дифрактограма є такою, як показано на фіг. 7.
7. Кристалічна форма Е сполуки 2, рентгенівська порошкова дифрактограма якої містить
- 5 характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ : $6,21 \pm 0,2^\circ$, $10,92 \pm 0,2^\circ$, $12,34 \pm 0,2^\circ$, $12,78 \pm 0,2^\circ$, $15,16 \pm 0,2^\circ$, $20,23 \pm 0,2^\circ$, $22,77 \pm 0,2^\circ$ і $23,03 \pm 0,2^\circ$, де сполука 2 являє собою п-толуолсульфонатну сіль сполуки 1:



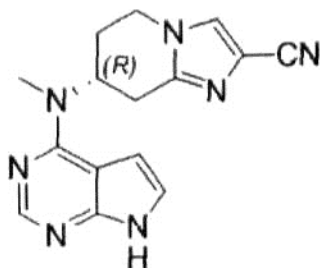
, Сполука 1

10



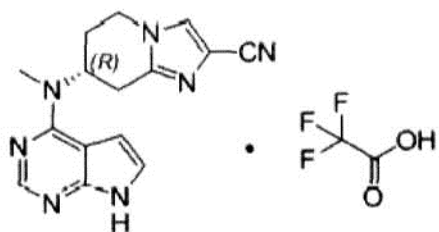
Сполука 2.

8. Кристалічна форма Е сполуки 2 за п. 7, яка **відрізняється** тим, що її дифрактограма є такою, як показано на фіг. 13.
9. Кристалічна форма Ф сполуки 3, рентгенівська порошкова дифрактограма якої містить
- 15 характеристичні піки при наступних значеннях кута 2θ : $12,89 \pm 0,2^\circ$, $15,78 \pm 0,2^\circ$, $17,67 \pm 0,2^\circ$, $18,79 \pm 0,2^\circ$, $19,38 \pm 0,2^\circ$, $20,47 \pm 0,2^\circ$, $24,70 \pm 0,2^\circ$ і $25,66 \pm 0,2^\circ$, де сполука 3 являє собою трифторацетатну сіль сполуки 1:



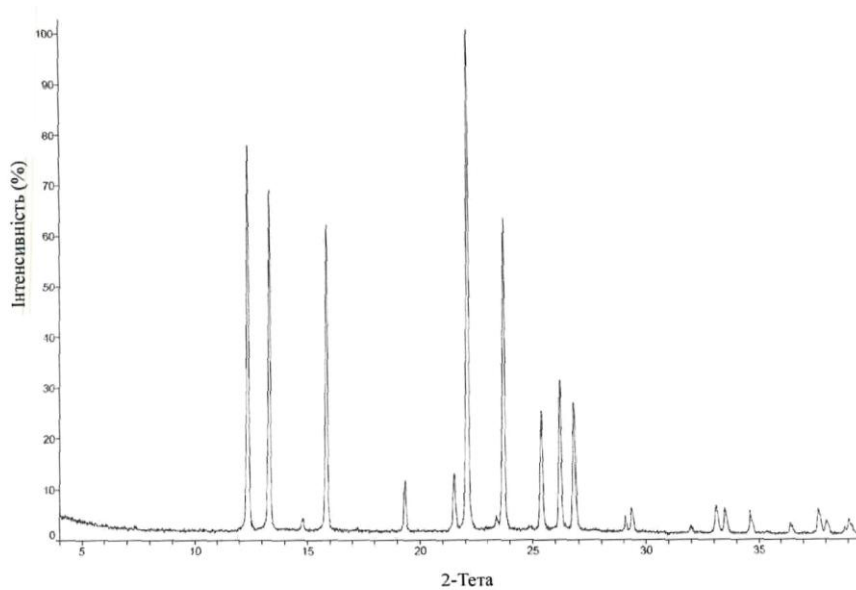
, Сполука 1

20

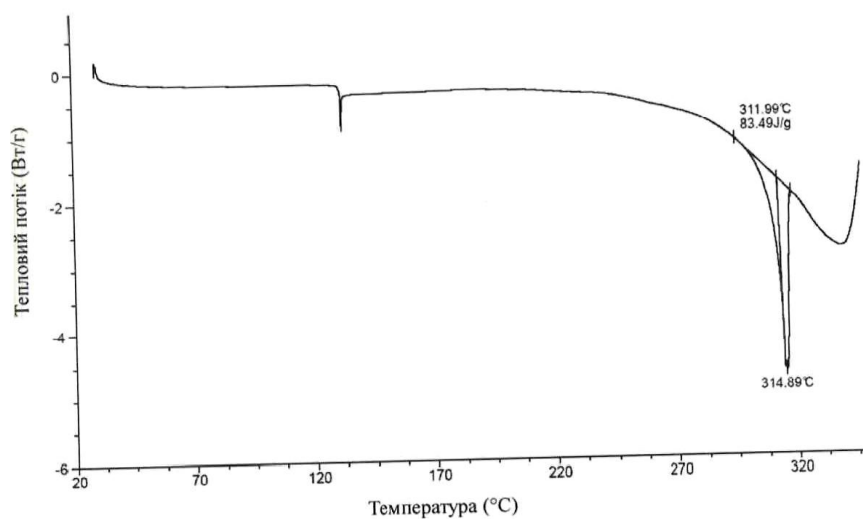


Сполука 3.

10. Кристалічна форма F сполуки 3 за п. 9, яка **відрізняється** тим, що її дифрактограма є такою, як показано на фіг. 16.



Фіг. 1



Фіг. 2

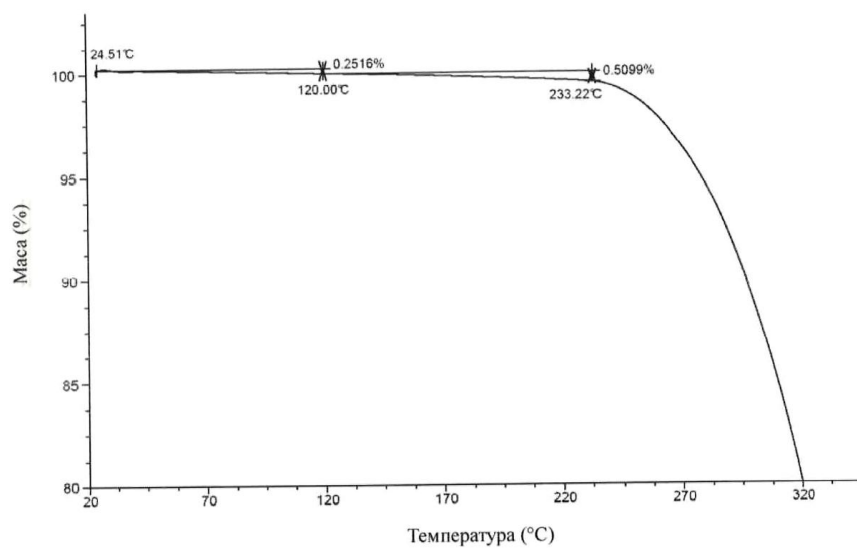


Fig. 3

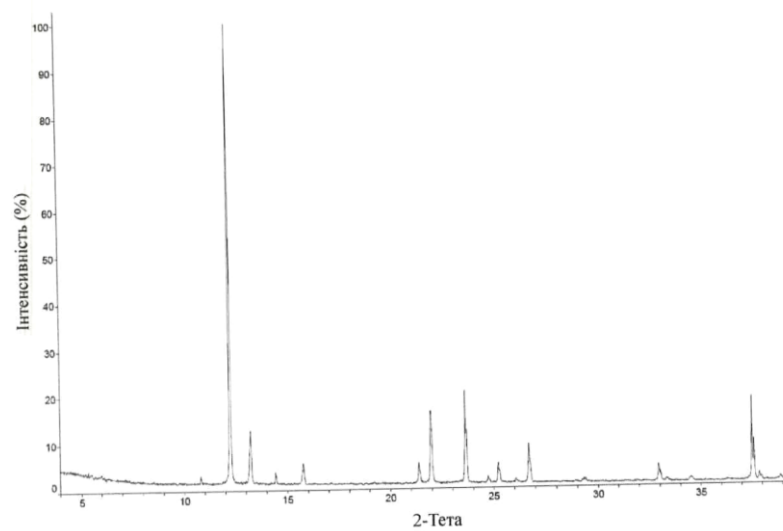
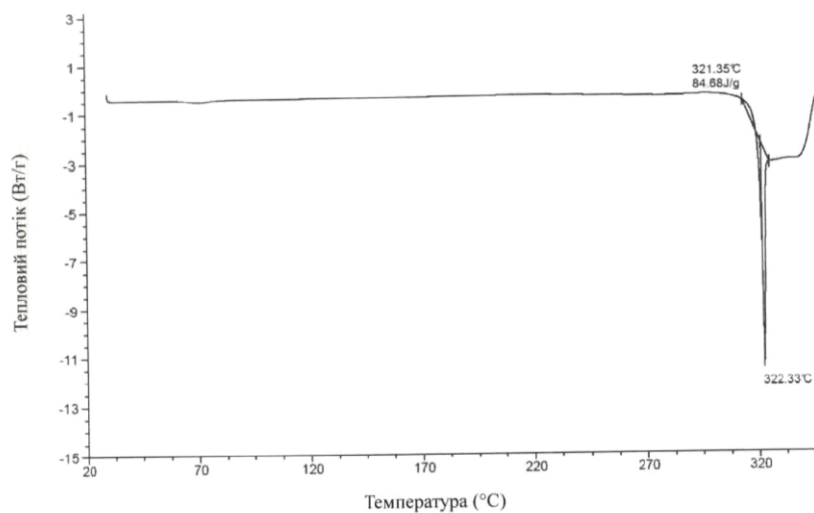
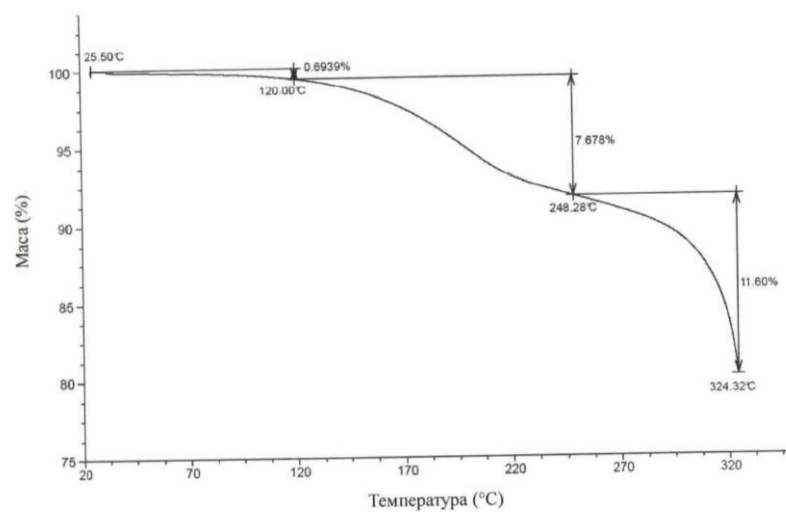


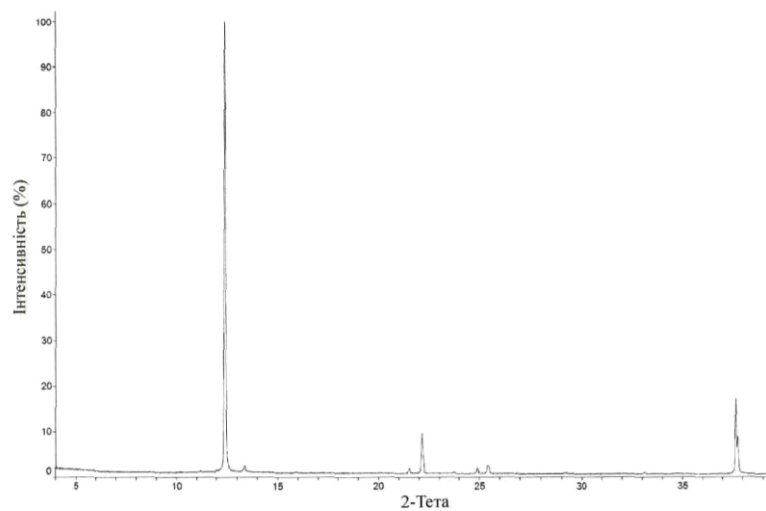
Fig. 4



Фіг. 5



Фіг. 6



Фіг. 7

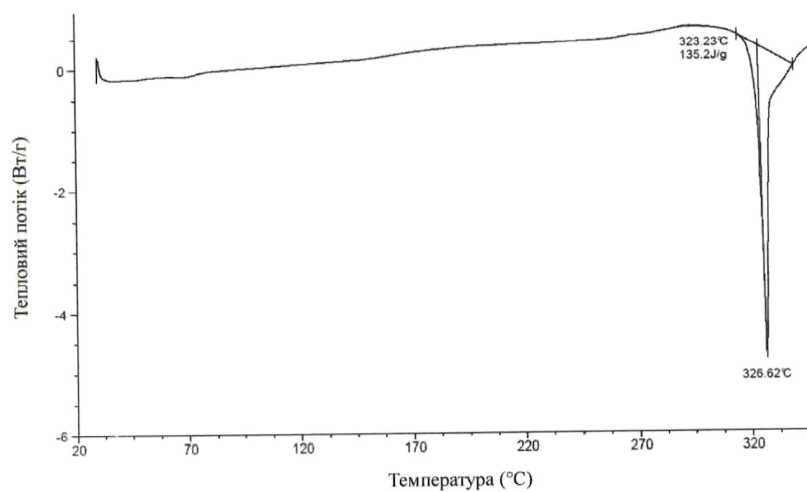


Fig. 8

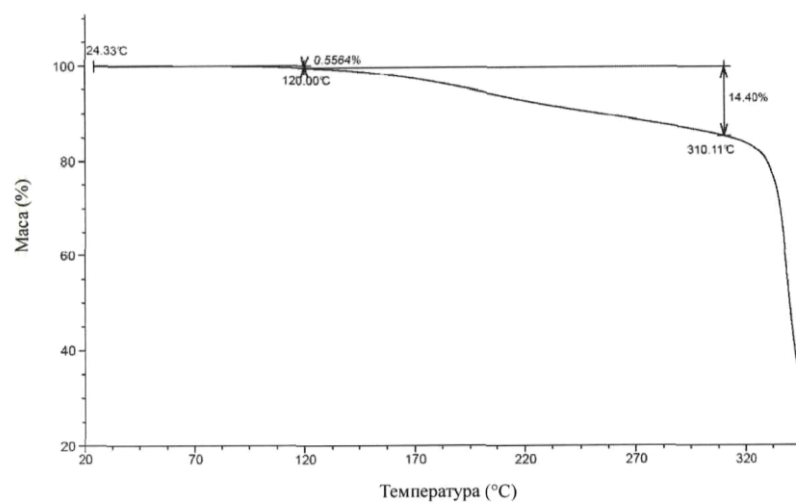


Fig. 9

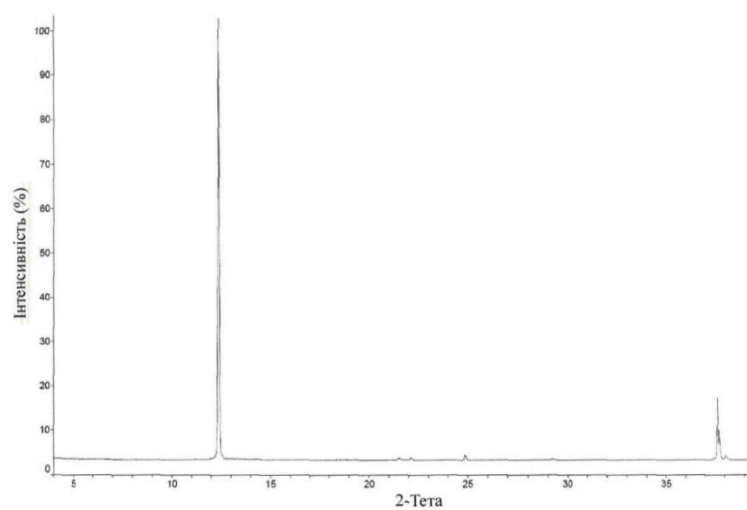
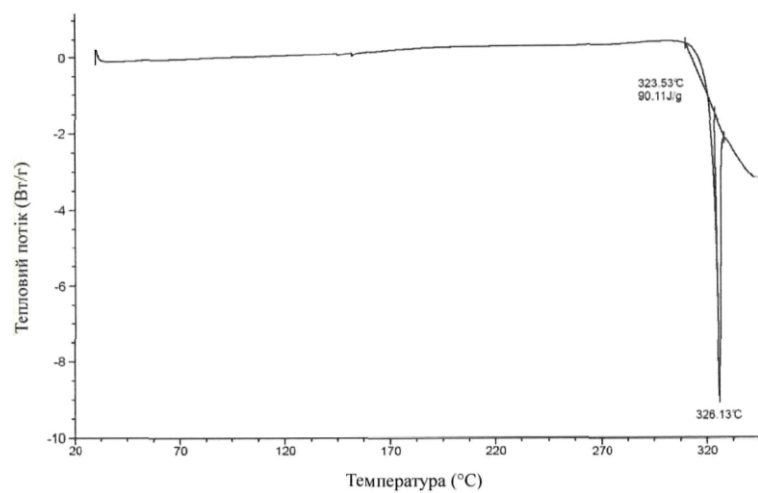
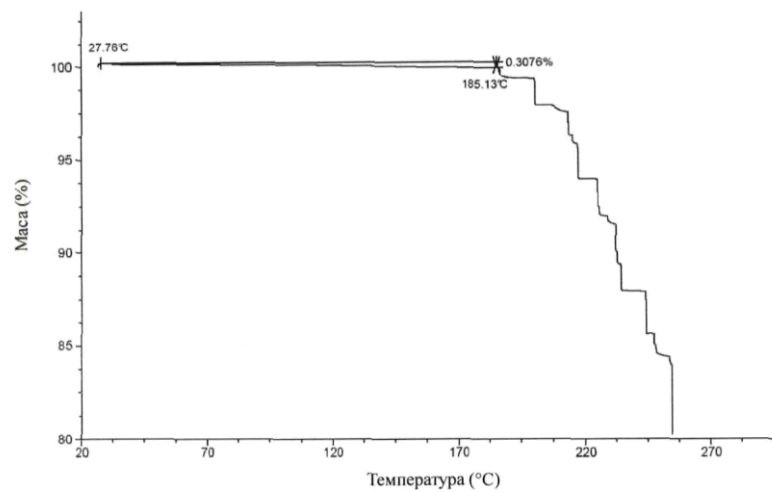


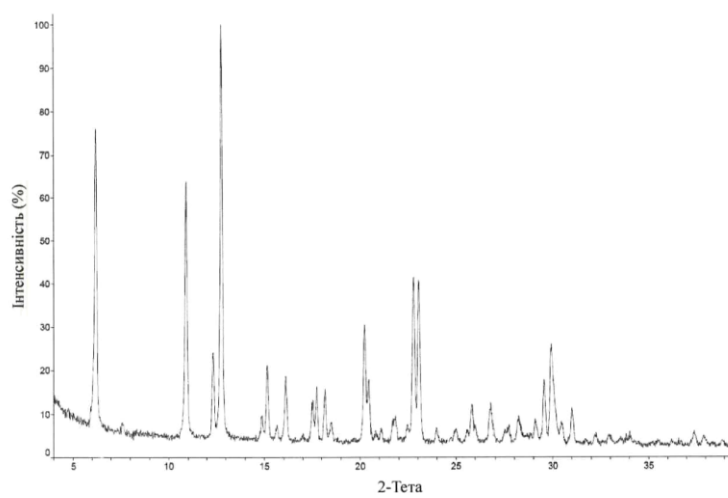
Fig. 10



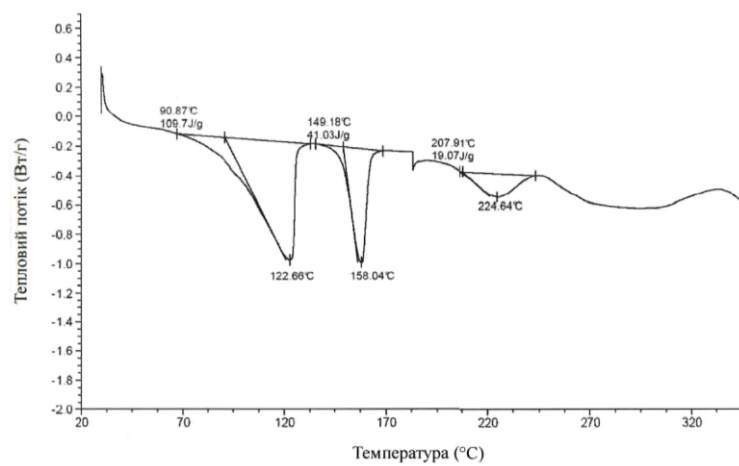
Фіг. 11



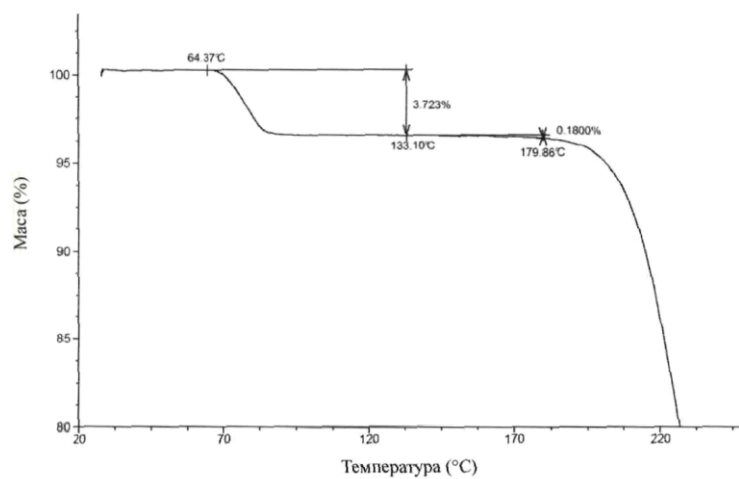
Фіг. 12



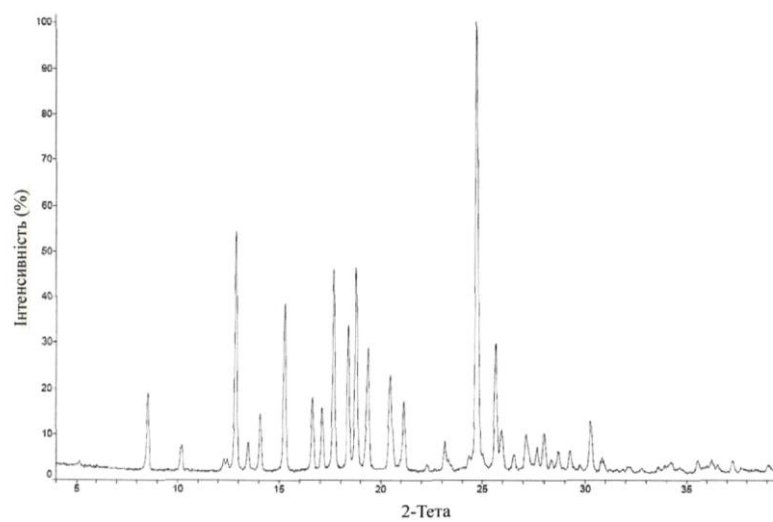
Фіг. 13



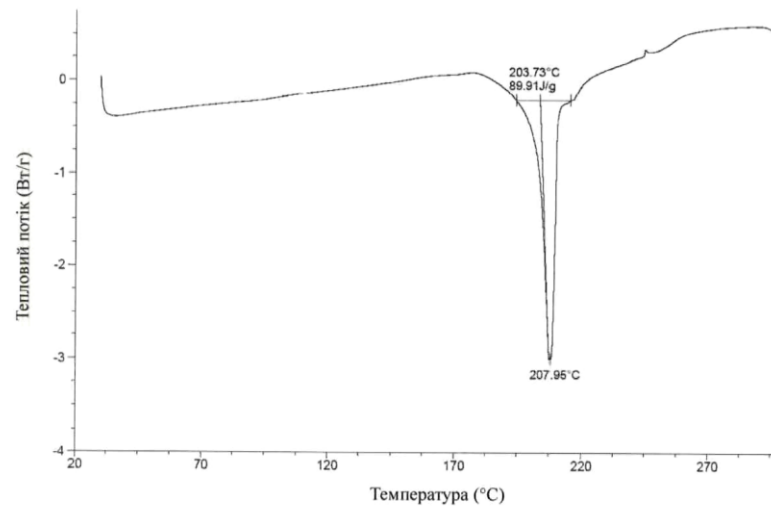
Фиг. 14



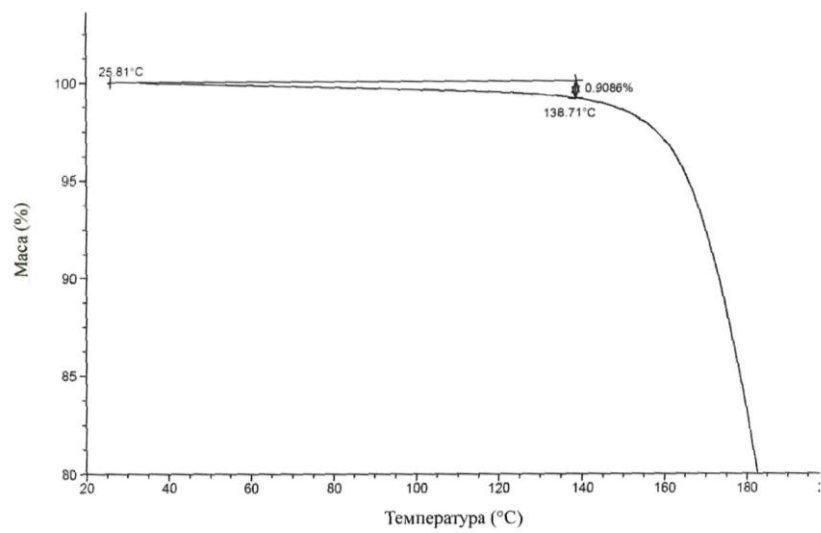
Фиг. 15



Фиг. 16



Фіг. 17



Фіг. 18