

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **038273**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.08.03

(21) Номер заявки
201992632

(22) Дата подачи заявки
2018.05.10

(51) Int. Cl. **C07D 487/04** (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)

**(54) ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРАЗОЛО[1,5-А]ПИРИМИДИНА В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ
КИНАЗЫ JAK**

(31) PL421576

(32) 2017.05.12

(33) PL

(43) 2020.04.30

(86) PCT/EP2018/062164

(87) WO 2018/206739 2018.11.15

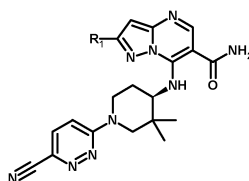
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЦЕЛОН ФАРМА С.А. (PL)

(72) Изобретатель:
**Мрочкевич Михаль, Стыпик Бартош,
Буяк Анна, Шимчак Кшиштоф,
Гунерка Павел, Дубель Кшиштоф,
Вечорек Мацей, Печиколян Ежи (PL)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) WO-A1-2012125893
WO-A1-2014039595
WO-A1-2015118434
WO-A2-2011003065

(57) Предложено соединение или его кислотно-аддитивная соль общей формулы (I)



(I)

где R₁ представляет собой фенил, замещенный одним или двумя заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена и C₁-C₃ алкоксила; или 6-членный гетероарил с 1 или 2 атомами азота, который является незамещенным или замещен заместителем, выбранным из группы, состоящей из -NH₂, галогена, алкила C₁-C₄, алкоксила C₁-C₃ и 6-членного гетероцикла, содержащего 1 или 2 гетероатома, выбранных из группы, состоящей из N и O. Соединение обладает ингибирующей активностью в отношении киназ JAK1/JAK3 и может найти применение для лечения хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний.

B1**038273****038273****B1**

Область техники

Изобретение относится к новым соединениям, производным пиразоло[1,5-а]пиримидина, проявляющим ингибирующую активность в отношении тирозинкиназы JAK (англ. Janus Activated Kinase, активированная Янус-киназа), в частности JAK1/JAK3. Указанные соединения могут найти применение при лечении заболеваний, в патогенезе которых участвуют киназы JAK1 и JAK3. В частности, соединения могут найти применение в качестве модуляторов иммунологического ответа, например в качестве иммунодепрессантов в области трансплантологии, и при лечении аутоиммунных и воспалительных заболеваний.

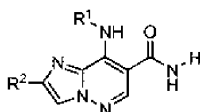
Уровень техники

Янус-киназы JAK представляют собой семейство нерецепторных тирозинкиназ, которые участвуют во внутриклеточной трансдукции индуцированного цитокинами и хемокинами сигнала в сигнальном пути JAK-STAT. Они играют значительную роль в активации белков STAT и инициации транскрипции генов, которые среди прочих генов кодируют медиаторы воспаления. Активность транскрипционного фактора STAT в клетке зависит от уровня ее фосфорилирования. Повышение уровня фосфорилирования в клетке зависит от активности киназ JAK; ингибирование киназ вызывает снижение фосфорилирующей и транскрипционной активности белков STAT и, как следствие, снижение экспрессии регулируемых генов. Следовательно, ингибиторы киназ JAK блокируют специфический сигнальный путь, ответственный за индукцию и поддержание воспалительного состояния, которое лежит в основе аутоиммунных заболеваний. Неоднократно подтверждалось, что цитокины, участвующие в развитии и клиническом течении воспалительных заболеваний, активируют сигнальный путь JAK-STAT, что делает последний важным элементом в развитии и клиническом течении таких заболеваний, как ревматоидный артрит, псориаз и астма. Стимуляция киназ JAK в Т-лимфоцитах, индуцированная провоспалительными цитокинами, приводит к активации фактора транскрипции STAT. Это влияет на дифференциацию Т-лимфоцитов, которые стимулируют В-лимфоциты в отношении увеличения выработки иммуноглобулинов Е и отвечают за вовлечение и созревание эозинофилов, которое приводит к развитию местного воспалительного ответа. Благодаря блокированию фосфорилирования фактора STAT ингибиторы киназы JAK могут ингибировать дифференциацию популяции Т-лимфоцитов и воспалительный ответ и, следовательно, могут быть применены при лечении воспалительных заболеваний.

Семейство JAK включает 4 известные киназы: JAK1, JAK2, JAK3 и TYK2. Киназы JAK1, JAK2 и TYK2 экспрессируются повсеместно, а киназа JAK3 преимущественно экспрессируется в кроветворных клетках. Таким образом, считается, что эффекты ингибирования JAK3 будут ограничены иммунной системой. JAK3 активируется интерлейкинами ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-15 и ИЛ-21 через трансмембранный ус-рецептор. Подобно JAK3, JAK1 связан с рецептором ИЛ-2 и вместе с JAK3 опосредует сигнальный каскад ИЛ-2 для регулирования пролиферации Т-клеток. JAK1 также играет роль в передаче сигналов ИЛ-6 и интерферона-гамма (IFN-гамма), связанной с воспалительным ответом. Ингибиторы JAK3 и/или JAK1 являются интересной мишенью при поиске лекарственных средств, которые могут найти применение в качестве модуляторов иммунного ответа, в частности, для предотвращения отторжения трансплантатов в трансплантологии и при лечении аутоиммунных и воспалительных заболеваний.

Предметом поиска являются соединения, которые проявляют ингибирующую активность в отношении киназ JAK1 и/или JAK3, в частности селективно по сравнению с JAK2.

В WO 2014/039595A1 раскрыты соединения с имидазо[1,2-б]пиридазин-6-карбоксамидным ядром формулы



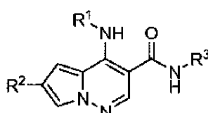
в качестве селективных ингибиторов JAK3 и/или JAK1 по сравнению с JAK2 и потенциальных лекарственных средств для лечения хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний.

В WO2012/125893 раскрыты соединения с пирроло[1,2-б]пиридазин-6-карбоксамидным ядром формулы



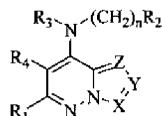
в качестве селективных ингибиторов JAK3 и/или JAK1 по сравнению с JAK2 и потенциальных лекарственных средств для лечения хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний.

В WO2012/125886 раскрыты соединения с пирроло[1,2-б]пиридазин-6-карбоксамидным ядром формулы



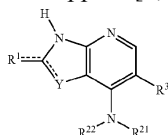
в качестве селективных ингибиторов JAK3 и/или JAK1 по сравнению с JAK2 и потенциальных лекарственных средств для лечения хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний.

В WO2011/014817 раскрыты соединения, являющиеся ингибиторами JAK3, с бициклическим гетероциклическим ядром формулы



однако в качестве конкретных соединений раскрыты только производные с пирроло-[1,2-b]пиридин-6-карбоксаимидным ядром.

В US2010/0105661 раскрыты соединения с пирроло[2,3-b]пиридиновым ядром формулы

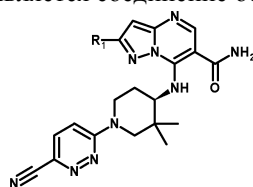


в качестве ингибиторов киназы JAK3 для применения при заболеваниях, связанных с нежелательной или патологической сигнальной трансдукцией цитокинов.

Краткое описание изобретения

Существует потребность в новых соединениях, проявляющих способность к ингибированию киназы JAK с высокой эффективностью и/или селективностью, которые потенциально могут быть применены при лечении воспалительных и аутоиммунных заболеваний. Эта проблема решается с помощью настоящего изобретения.

Объектом настоящего изобретения является соединение общей формулы (I)



(I)

где R₁ представляет собой

фенил, замещенный одним или двумя заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена и C₁-C₃ алкокси; или

6-членный гетероарил с 1 или 2 атомами азота, который является незамещенным или замещен заместителем, выбранным из группы, состоящей из

NH₂,

галогена,

алкила C₁-C₄,

алкоксила C₁-C₃ и

6-членного гетероцикла, содержащего 1 или 2 гетероатома, выбранных из группы, состоящей из N и O,

или его кислотно-аддитивная соль.

Соединения формулы (I) обладают способностью селективно ингибировать киназы JAK3 и/или JAK1 по сравнению с JAK2 и могут найти применение при лечении аутоиммунных и воспалительных заболеваний.

В другом аспекте настоящее изобретение также относится к соединению формулы (I), как определено выше, для применения в качестве лекарственного средства.

В другом аспекте настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I), как определено выше.

В другом аспекте настоящее изобретение относится также к применению соединения формулы (I), как определено выше, для получения лекарственного средства для применения при лечении аутоиммунных и воспалительных заболеваний.

В другом аспекте настоящее изобретение относится также к способу лечения аутоиммунных и воспалительных заболеваний у субъекта, представляющего собой млекопитающее, где указанный способ включает введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества соединения формулы (I), как определено выше.

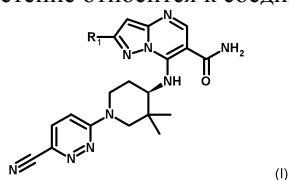
В другом аспекте настоящее изобретение относится также к соединению формулы (I), как определено выше, для применения в способе лечения аутоиммунных и воспалительных заболеваний у субъекта, представляющего собой млекопитающее.

Подробное описание изобретения

Предпочтительные варианты реализации настоящего изобретения описаны в следующем подробном описании и прилагаемой формуле изобретения. Различные аспекты настоящего изобретения определены в настоящем описании более подробно. Каждый из определенных таким образом аспектов может быть объединен с любым другим аспектом или аспектами, если не указано иное. В частности, любой признак, указанный как предпочтительный или преимущественный, может быть объединен с любым другим признаком или признаками, указанными как предпочтительный или преимущественный.

Ссылка во всем настоящем описании на "один из вариантов реализации" или "вариант реализации" означает, что конкретный признак, структура или характеристики, описанные в связи с этим вариантом реализации, содержатся по меньшей мере в одном варианте реализации настоящего изобретения. Таким образом, в любом случае фразы "в одном варианте реализации" или "в варианте реализации" в различных частях настоящего описания не обязательно относятся к одному и тому же варианту реализации, однако они могут относиться к одному и тому же варианту реализации. Кроме того, конкретные признаки, структуры или характеристики могут комбинироваться любым подходящим способом в одном или нескольких вариантах реализации, как будет понятно специалисту в данной области техники. Кроме того, хотя некоторые варианты реализации, описанные в настоящем документе, охватывают некоторые, но не другие, признаки, содержащиеся в других вариантах реализации, комбинации признаков различных вариантов реализации могут охватываться объемом настоящего изобретения и формировать различные примеры вариантов реализации, как будет понятно специалисту в данной области техники. Например, в прилагаемой формуле изобретения любой из заявленных вариантов реализации может использоваться в любой комбинации.

В первом аспекте настоящее изобретение относится к соединению следующей формулы (I)



где R_1 представляет собой фенил, замещенный одним или двумя заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена и C_1 - C_3 алкокси; или

6-членный гетероарил с 1 или 2 атомами азота, который является незамещенным или замещен заместителем, выбранным из группы, состоящей из

NH_2 ,

галогена,

алкила C_1 - C_4 ,

алкоксила C_1 - C_3 и

6-членного гетероцикла, содержащего 1 или 2 гетероатома, выбранных из группы, состоящей из N и O;

или их кислотно-аддитивной соли.

В одном из вариантов реализации настоящего изобретения R_1 представляет собой фенил, замещенный одним или двумя заместителями, выбранными из группы, состоящей из атома галогена и C_1 - C_3 алкоксила.

В одном из вариантов реализации настоящего изобретения R_1 представляет собой фенил, замещенный одним или двумя атомами галогена, предпочтительно одним или двумя атомами фтора. Преимущественно R_1 представляет собой фенил, замещенный одним атомом фтора. Также предпочтительно R_1 представляет собой фенил, замещенный двумя атомами фтора.

В другом варианте реализации настоящего изобретения R_1 представляет собой фенил, замещенный одной или двумя C_1 - C_3 алкоксильными группами, предпочтительно метоксигруппами, в частности одной метоксигруппой, включая 2-метоксифенил, 4-метоксифенил и 5-метоксифенил, в частности 4-метоксифенил и 5-метоксифенил.

В одном из вариантов реализации настоящего изобретения R_1 представляет собой фенил, замещенный одним атомом галогена, предпочтительно одним атомом фтора и одной C_1 - C_3 алкоксигруппой, в частности метоксигруппой. Преимущественно R_1 представляет собой фенил, замещенный одним атомом фтора и одной метоксигруппой. Примеры такого замещения включают 2-фтор-5-метоксифенил и 2-фтор-4-метоксифенил, в частности 2-фтор-5-метоксифенил.

В другом варианте реализации настоящего изобретения R_1 представляет собой 6-членный гетероарил, содержащий 1 или 2 атома азота, незамещенный или замещенный заместителем, выбранным из группы, состоящей из NH_2 , галогена, C_1 - C_4 алкила, C_1 - C_3 алкоксила и 6-членного гетероцикла, содержащего 1 или 2 гетероатома, выбранных из группы, состоящей из N и O.

В одном из вариантов реализации R_1 представляет собой незамещенный 6-членный гетероарил, в частности, пиридинил или пиримидинил.

В другом варианте реализации R_1 представляет собой 6-членный гетероарил, в частности пиридинил или пиримидинил, замещенный заместителем, выбранным из группы, состоящей из NH_2 , галогена, C_1-C_4 алкила, C_1-C_3 алкоксила и 6-членного гетероциклила, содержащего 1 или 2 гетероатома, выбранных из группы, состоящей из N и O.

В частности, упомянутый выше 6-членный гетероарил, предпочтительно пиридинил или пиримидинил, замещен заместителем, выбранным из группы, состоящей из NH_2 ; галогена, в частности фтора; C_1-C_4 алкила, в частности метила

или этила; C_1-C_3 алкоксила, в частности метоксила или этоксила; и 6-членного гетероциклила, содержащего 1 или 2 гетероатома, выбранных из группы, состоящей из N и O, в частности 4-морфолинила. Преимущественно в указанных выше вариантах реализации R_1 представляет собой пиридин-2-ил, пиридин-3-ил или пиридин-4-ил, или R_1 представляет собой пиримидин-2-ил или пиримидин-5-ил.

В частности, упомянутый выше 6-членный гетероарил представляет собой пиридинил, в частности пиридин-2-ил, пиридин-3-ил или пиридин-4-ил, замещенный C_1-C_3 алкоксилем, в частности метоксилем или этоксилем.

В частности, упомянутый выше 6-членный гетероарил представляет собой пиридинил, в частности пиридин-2-ил, пиридин-3-ил или пиридин-4-ил, замещенный метоксилем.

В частности, упомянутый выше 6-членный гетероарил представляет собой пиримидинил, в частности пиримидин-2-ил или пиримидин-5-ил, замещенный C_1-C_3 -алкоксилем, в частности метоксилем или этоксилем.

Определения

Термин "алкил" в контексте настоящего описания, отдельно или как часть другого заместителя, относится к углеводородной группе с неразветвленной или разветвленной цепью, связанной одинарными углерод-углеродными связями и имеющей число атомов углерода, указанное в определении, например, C_1-C_4 или C_1-C_3 . Число, указанное после атома углерода, относится к числу атомов углерода, которые могут быть включены в группу. Таким образом, например, C_1-C_4 алкил означает алкил с 1-4 атомами углерода, а C_1-C_3 алкил означает алкил с 1-3 атомами углерода. C_1-C_3 алкильные группы представляют собой метил, этил, н-пропил и изопропил, а C_1-C_4 алкильные группы представляют собой метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил и трет-бутил.

Термин "гетероциклил" в контексте настоящего описания относится к заместителю, полученному из гетероциклической группы, которая представляет собой алициклическую насыщенную углеводородную группу, имеющую указанное число членов колец и указанное число и тип гетероатомов. "Гетероциклил" включает 6-членные насыщенные гетероциклические кольца, содержащие 1 или 2 гетероатома, выбранных из кислорода (O) и азота (N), таких как морфолинил, пиперидинил, пиперазинил, тетрагидропиранил и диоксанил, в частности пиперидинил, морфолинил и пирролидинил.

Термин "гетероарил" в контексте настоящего описания относится к заместителю, полученному из гетероарильной группы, которая представляет собой ароматическую углеводородную циклическую группу, имеющую указанное число членов колец и указанные число и тип гетероатомов. 6-членные гетероарилы включают, в частности, пиридинил, пиридазинил, пиримидинил и пиразинил, в частности пиридинил и пиримидинил.

Галоген относится к атомам фтора (F), хлора (Cl), брома (Br) или иода (I), в частности к атому фтора.

Кисотно-аддитивные соли соединений формулы (I) согласно настоящему изобретению включают, в частности, соли с фармацевтически приемлемыми неорганическими или органическими кислотами. Фармацевтически приемлемые соли являются предпочтительными. Неорганические и органические кислоты, которые могут образовывать фармацевтически приемлемые соли с соединениями, содержащими основной атом азота, хорошо известны в данной области техники. Соли с неорганическими кислотами включают, в частности, соли хлористо-водородной кислоты, бромисто-водородной кислоты, серной (VI) кислоты, азотной (V) кислоты и фосфорной (V) кислоты. Соли с органическими кислотами включают, в частности, соли метансульфоновой кислоты, этансульфоновой кислоты, толуолсульфоновой кислоты, бензолсульфоновой кислоты, нафталиндисульфоновой кислоты, уксусной кислоты, пропионовой кислоты, молочной кислоты, винной кислоты, яблочной кислоты, лимонной кислоты, фумаровой кислоты, малеиновой кислоты и бензойной кислоты. Следует понимать, что настоящее изобретение включает в свой объем также соли, отличные от фармацевтически приемлемых солей, которые могут быть применены, в частности, в качестве промежуточных соединений в способах получения, выделения и очистки соединений согласно настоящему изобретению.

Кисотно-аддитивные соли могут быть получены общеизвестным способом. Как правило, соединение формулы (I), например, в растворе в органическом растворителе, подвергают реакции с кислотой в водном или водно-спиртовом растворе, таком как водный метанольный или этанольный раствор, и осаждаемую соль выделяют обычным способом, например, путем фильтрации, промывки и сушки.

Конкретные соединения согласно настоящему изобретению выбраны из группы, состоящей из следующих соединений и их кисотно-аддитивных солей, включая аддитивные соли неорганических и органических кислот:

- 1) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(4-метоксифенил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 2) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(2-фтор-5-метоксифенил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 3) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(пиридин-3-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 4) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-метоксипиридин-3-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 5) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-этоксипиридин-3-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 6) (R)-2-(6-аминопиридин-3-ил)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 7) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-морфолинопиридин-3-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 8) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(2-метоксипиримидин-5-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 9) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(2-этоксипиримидин-5-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 10) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-фторпиридин-3-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 11) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-метоксипиридин-2-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 12) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(2-метилпиридин-4-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 13) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(2-морфолинопиридин-4-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 14) (R)-7-((1-(6-Цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-метоксипиридин-2-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамида гидрохлорид.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к соединению формулы (А), как определено выше, и в соответствии с любым из представленных вариантов реализации для применения в качестве лекарственного средства.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (А), как определено выше, и в соответствии с любым из представленных вариантов реализации в качестве активного ингредиента в комбинации с фармацевтическими вспомогательными веществами.

В качестве ингибитора киназы JAK1/JAK3, соединения формулы (А), как определено выше, могут быть применены для лечения хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний.

Настоящее изобретение относится, соответственно, к соединению формулы (I), как определено выше, для применения в способе лечения хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний у млекопитающих, включая людей.

Следовательно, настоящее изобретение относится к применению соединения формулы (I), как определено выше, для получения лекарственного средства для применения в способе лечения хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний у млекопитающих, включая людей.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний у млекопитающих, включая людей, который включает введение указанному млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения формулы (I), как определено выше, или фармацевтической композиции, содержащей соединение формулы (I), как определено выше.

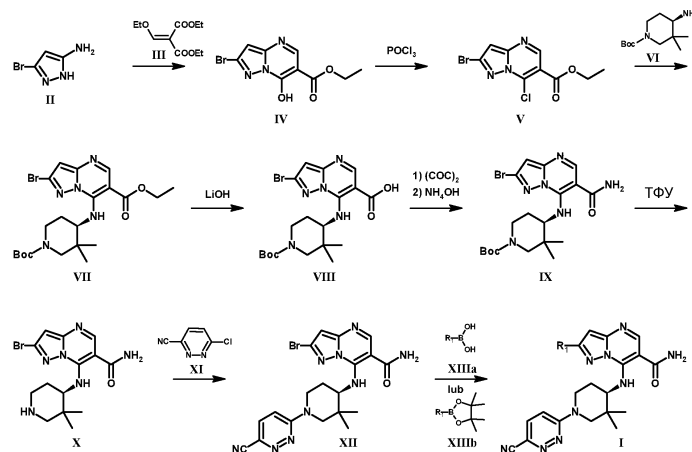
Хронические воспалительные и аутоиммунные заболевания включают системные заболевания соединительной ткани, в частности ревматоидный артрит, реактивный артрит, псориазный артрит, анкилозирующий спондилит, системную красную волчанку, склеродермию; неспецифические воспалительные заболевания кишечника, в частности болезнь Крона и язвенный колит; заболевания надпочечников, в частности рассеянный склероз и миастению; кожные заболевания, в частности псориаз; и астму.

Соединения согласно настоящему изобретению также могут найти применение для предотвращения отторжения трансплантата в трансплантологии.

Соединения согласно настоящему изобретению могут быть получены способом, представленным на схеме 1.

Ниже используются следующие сокращения: AcOEt - этилацетат; Boc - трет-бутоксикарбонильная группа; CN - нитрильная группа; (COCl)₂ - оксалилхлорид; Et - этил; EtO - этоксил; LiOH - гидроксид лития; Me - метил; MeCN - ацетонитрил; MS-ESI - электрораспылительная масс-спектрометрия (от англ. Electrospray mass spectroscopy); m/z - отношение массы к заряду; NH₄OH - водный аммиак, водный раствор аммиака; ЯМР-ядерно-магнитный резонанс; Pd/C - палладиевый катализатор на углеродном носителе; POCl₃ - оксихлорид фосфора (V); TФУ - трифторуксусная кислота.

Схема 1



Как показано на схеме 1, соединения формулы (I) получают, исходя из 5-амино-3-бром-1Н-пиразола формулы II.

Соединение формулы II циклизуют с диэтил 2-(этоксиметил)малонатом III, используемым в количестве от 1 до 2 мольных эквивалентов, в уксусной кислоте при температуре кипения с обратным холодильником, для получения пиразоло[1,2-б]пиримидина формулы IV.

Гидроксигруппу в соединении формулы IV замещают хлором с использованием таких реагентов, как оксихлорид фосфора (V), пентахлорид фосфора, тионилхлорид, предпочтительно оксихлорид фосфора (V), в количестве от 2 до 30 мольных эквивалентов, в присутствии амина, такого как триэтиламин, диизопропилэтиламин, пиридин, хинолин, N,N-диметиланилин, в количестве от 1 до 5 мольных эквивалентов или без амина, с добавлением или без добавления соли, такой как бромид или хлорид тетраэтиламмония, тетрабутиламмония или бензилтриэтиламмония в количестве от 1 до 3 мольных эквивалентов в апротонном растворителе, таком как ацетонитрил, тетрагидрофуран, диоксан, толуол, диметилформамид, метиленхлорид, хлороформ или без растворителя, при температуре от 60 до 120°C или при температуре кипения с обратным холодильником.

Соединение формулы V подвергают реакции с трет-бутил-(R)-4-амино-3,3-диметилпиперидин-1-карбоксилатом VI, полученным в соответствии с методикой, описанной в WO 2014/039595 A1 (промежуточное соединение 4), используемым в количестве от 1 до 1,5 мольных эквивалентов, в присутствии амина, такого как триэтиламин, N,N-диизопропилэтиламин или пиридин в количестве от 1 до 3 мольных эквивалентов при 0-30°C с получением соединения формулы VII.

Затем сложноэфирную группу в соединении формулы VII гидролизуют для получения кислоты VIII с использованием основания, такого как гидроксид металла, предпочтительно гидроксид лития, в количестве от 2 до 10 мольных эквивалентов, в смеси растворителей, такой как вода/спирт, предпочтительно вода/метанол, при температуре от 20 до 80°C, предпочтительно от 40 до 55°C.

Соединение формулы VIII превращают в соответствующий амид формулы IX в двухстадийном процессе. На первой стадии получают хлорангидрид в реакции с оксалилхлоридом в количестве от 2 до 4 мольных эквивалентов с каталитическим количеством диметилформамида при температуре от 0 до 30°C. Затем хлорангидрид подвергают реакции с водным раствором аммиака в количестве от 5 до 20 мольных эквивалентов при температуре от 0 до 30°C.

Аминозащитную трет-бутоксикарбонильную группу в соединении формулы IX удаляют, используя трифторуксусную кислоту в количестве от 10 до 40 мольных эквивалентов в растворе дихлорметана при температуре до 0 до 30°C с получением соединения формулы X.

Затем соединение формулы X арилируют с применением 6-хлорпиридазин-3-карбонитрила в количестве от 1 до 1,5 мольных эквивалентов в присутствии амина, такого как триэтиламин, N,N-диизопропилэтиламин или пиридин, в количестве от 2 до 10 мольных эквивалентов в апротонном растворителе, таком как диметилформамид или дихлорметан, или протонном растворителе, таком как метанол или этанол, с получением соединения формулы XI.

На последней стадии соединение формулы XI подвергают реакции сочетания Сузуки с соответствующей бороновой кислотой XMa или сложным пинаколовым эфиром бороновой кислоты формулы XIIIb в количестве от 1 до 2 мольных эквивалентов в присутствии палладиевого катализатора, такого как ацетат палладия (II), бис(дибензилиденацетон)палладий(0), аддукт [1,1'-бис(дифенилфосфин)ферроцен] палладия (II) дихлорида и дихлорметана, или другого обычного катализатора реакции Сузуки в количестве от 0,05 до 0,2 мольных эквивалентов с добавлением неорганического основания, такого как карбонат натрия, калия или цезия, фосфат натрия или калия, гидроксид лития, натрия или калия, или органического основания, такого как трет-бутолят натрия или калия, в количестве от 1 до 3 мольных эквивалентов, используемого в виде твердого вещества или в виде водного раствора, в растворителе, таком как толуол,

ксилол, тетрагидрофуран, диоксан, этанол, алифатические спирты C₃-C₆, диметилформамид или диметоксиэтан, при температуре от 80 до 140°C, предпочтительно при температуре кипения с обратным холодильником.

Соединение формулы VI (трет-бутил-(R)-4-амино-3,3-диметилпиперидин-1-карбоксилат) может быть получено в соответствии с методиками, описанными в US2005/182095A1 и WO2014/039595 A1, в соответствии со схемой 3.

Соединение формулы VI может быть получено из коммерчески доступного трет-бутил-4-оксопиперидин-1-карбоксилата XVIII в реакции с метилирующим агентом, таким как подметан, используемым в количестве от 2 до 3 мольных эквивалентов в присутствии основания, такого как гидрид натрия, метанолят натрия, трет-бутолят натрия, н-бутиллитий, карбонат калия, предпочтительно гидрид натрия, используемый в количестве от 2 до 3 мольных эквивалентов в апротонном растворителе, таком как тетрагидрофуран, толуол, дихлорметан, ацетонитрил, предпочтительно тетрагидрофуран, с получением трет-бутил-3,3-диметил-4-оксопиперидин-1-карбоксилата XIX.

На следующей стадии соединение формулы XIX подвергают превращению в двухстадийной реакции восстановительного аминирования.

Сначала соединение формулы XIX подвергают реакции с (R)-1-фенилэтан-1-амином XX, используемым в количестве от 1 до 2 мольных эквивалентов, необязательно в присутствии кислоты, такой как пара-толуолсульфоновая кислота, бензолсульфоновая или серная кислота, предпочтительно пара-толуолсульфоновая кислота, используемая в количестве от 0,05 до 1 мольного эквивалента в апротонном растворителе, таком как толуол, бензол или ксилол, предпочтительно толуол, при температуре кипения с обратным холодильником в реакторе с ловушкой Дина-Старка для азеотропной перегонки с получением трет-бутил-(R)-3,3-диметил-4-((1-фенилэтил)имино)пиперидин-1-карбоксилата формулы XXI, который используют для дальнейшей реакции без выделения.

Затем реакционную смесь с соединением формулы XXI охлаждают до температуры от -78 до 0°C и добавляют спирт, такой как метанол, этанол, изопропанол, предпочтительно этанол, и восстановитель, такой как борогидрид натрия, цианоборогидрид натрия или триацетоксиборогидрид натрия, в количестве от 2 до 3 мольных эквивалентов с получением трет-бутил-(R)-3,3-диметил-4-(((R)-1-фенилэтил)амино)пиперидин-1-карбоксилата формулы XXII.

На последней стадии удаляют 1-фенилэтильную группу, защищающую аминогруппу в соединении формулы XXII. 1-Фенилэтильную группу удаляют путем восстановления с применением водорода и катализатора Pd/C, используемого в количестве от 0,01 до 0,02 мольных эквивалентов, в растворителе, таком как метанол, этанол, изопропанол, предпочтительно этанол, с получением соединения формулы VI, т.е. трет-бутил-((R)-4-амино-3,3-диметилпиперидин-1-карбоксилата.

Соединение формулы II (5-амино-3-бром-1H-пиразол) является коммерчески доступным. Оно может быть также получено способом, представленным на схеме 2, из 1H-пиразола XIV с использованием методик, описанных в J. Org. Chem. 1986, 51, 4656-4660 и J. Med. Chem. 2010, 53, 1238-1249.

Схема 2

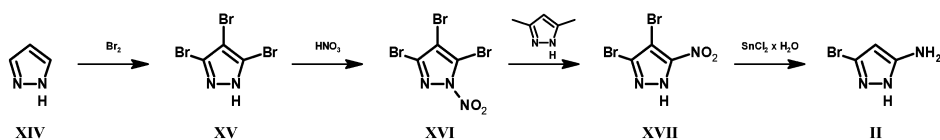
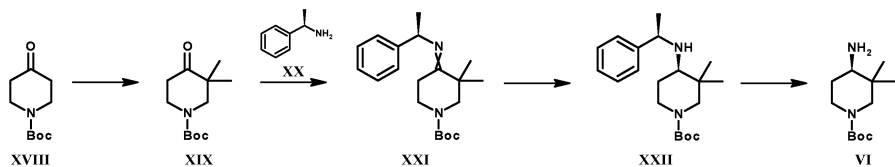


Схема 3



В настоящем изобретении предложена также фармацевтическая композиция, содержащая соединение формулы (I), как определено выше, в качестве активного ингредиента, в смеси с фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами.

При лечении заболеваний и расстройств, упомянутых выше, соединения формулы (I) согласно настоящему изобретению можно вводить в виде химического соединения, однако обычно они будут применены в форме фармацевтической композиции, содержащей соединение согласно настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемую соль в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем(ями) и вспомогательным веществом(ами).

При лечении заболеваний и расстройств, упомянутых выше, фармацевтическую композицию согласно настоящему изобретению можно вводить любым подходящим путем, предпочтительно пероральным, парентеральным или ингаляционным путем, и она будет представлена в форме препарата, предназначенного для применения в медицине, зависящей от предполагаемого способа введения.

Композиции для перорального введения могут иметь форму твердых или жидких препаратов. Твер-

дые препараты могут иметь, например, форму таблетки или капсулы, изготовленной обычным способом из фармацевтически приемлемых неактивных вспомогательных веществ, таких как связующие вещества (например, предварительно желатинизированный кукурузный крахмал, поливинилпирролидон или гидроксипропилметилцеллюлоза); наполнители (например, лактоза, сахароза, карбоксиметилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза или гидрофосфат кальция); дезинтегранты (например, кросповидон, кукурузный крахмал или крахмалгликолят натрия); смазывающие вещества (например, стеарат магния, тальк или кремнезем), смачивающие агенты (например, лаурилсульфат натрия). Таблетки могут содержать покрытия, хорошо известные в данной области техники, такие как простые покрытия, покрытия с замедленным/контролируемым высвобождением или энтеросолюбильные покрытия. Жидкие препараты для перорального введения могут быть в форме, например, растворов, сиропов или суспензий, или могут иметь форму сухого твердого продукта для растворения в воде или другом подходящем носителе перед применением. Такие жидкие препараты могут быть получены с использованием обычных средств из фармацевтически приемлемых неактивных вспомогательных веществ, таких как суспендирующие агенты (например, сорбитный сироп, производные целлюлозы или гидрогенизированные пищевые масла), эмульгаторы (например, лецитин или аравийская камедь (acacia gum)), неводные носители (например, миндальное масло, эфирные масла (oil esters), этиловый спирт или фракционированные растительные масла), и консерванты (например, метил- или пропил-п-гидроксibenзоат или сорбиновая кислота). Препараты также могут включать подходящие буферные агенты, ароматизаторы, красители и подсластители.

Препараты для перорального введения могут быть приготовлены таким образом, чтобы обеспечить контролируемое высвобождение активного соединения с использованием способов, известных специалисту в данной области техники.

Парентеральный путь введения включает введение путем внутримышечных и внутривенных инъекций, а также внутривенных инфузий. Композиции для парентерального введения могут быть представлены, например, в виде единичной дозированной формы, такой как ампулы, или контейнеров с несколькими дозами, с добавлением консерванта. Композиции могут иметь форму, такую как суспензия, раствор или эмульсия в масляном или водном носителе, и могут включать вспомогательные вещества, такие как суспендирующие агенты, стабилизаторы, и/или диспергирующие агенты. В качестве альтернативы активный ингредиент может быть приготовлен в виде порошка для разведения в подходящем носителе, например в стерильной апиrogenной воде, перед применением.

Композиции для введения путем ингаляции могут иметь форму для ингаляции и вводиться путем распыления. Такие препараты включают активное соединение и вспомогательное вещество(а), вводимые в виде аэрозоля, то есть системы мелкодисперсных мелких частиц твердого или жидкого вещества, взвешенных в газе. Вспомогательные вещества, применяемые при распылении, могут представлять собой, например, хлорид натрия в качестве изотонического средства, неорганические кислоты и гидроксиды в качестве регуляторов и стабилизаторов pH, бензалкония хлорид в качестве консерванта, цитрат натрия в качестве буферного агента, полисорбат 80 в качестве поверхностно-активного вещества, этанол и пропиленгликоль в качестве соразтворителя и сульфаты (VI) в качестве антиоксидантов. Препараты для введения путем ингаляции могут иметь форму ингаляторов под давлением или ингаляторов с сухим порошком.

Способ лечения с применением соединений согласно настоящему изобретению будет включать введение терапевтически эффективного количества соединения согласно настоящему изобретению, предпочтительно в форме фармацевтической композиции, субъекту, нуждающемуся в таком лечении.

Предлагаемая дозировка соединений согласно настоящему изобретению составляет от 0,1 до примерно 1000 мг в день, в однократной дозе или в разделенных дозах. Специалисту в данной области техники будет очевидно, что выбор дозировки, необходимой для получения желаемого биологического эффекта, будет зависеть от многих факторов, например, от конкретного соединения, показаний, способа введения, возраста и состояния пациента, и что точная дозировка будет окончательно определена ответственным врачом.

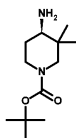
Примеры

Следующие примеры представлены для иллюстративных целей, и в них приведены традиционные способы синтеза, используемые для синтеза промежуточных соединений, применяемых для получения соединений согласно настоящему изобретению.

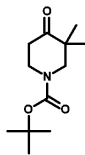
Промежуточные соединения

Промежуточные соединения для получения соединений согласно настоящему изобретению получают, как описано ниже.

Промежуточное соединение P1. Соединение VI трет-бутил-(R)-4-амино-3,3-диметилпиперидин-1-карбоксилат

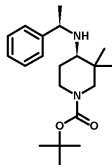


Стадия А. Соединение XIX - трет-бутил-3,3-диметил-4-оксопиперидин-1-карбоксилат



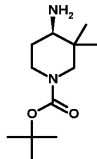
К раствору трет-бутил-4-оксопиперидин-1-карбоксилата XVIII (50,0 г, 246 ммоль) в тетрагидрофуране (1000 мл), охлажденному до 0°C, порциями добавляли гидрид натрия (60% суспензия в парафиновом масле, 21,6 г, 541 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при 0°C. К этой смеси по каплям добавляли раствор подметана (34 мл, 541 ммоль) в тетрагидрофуране (60 мл) в течение 15 мин. Реакционную смесь перемешивали в течение дополнительных 2 ч при 0°C. К смеси добавляли насыщенный раствор хлорида аммония (500 мл). Смесь подвергали экстракции этилацетатом (3×500 мл). Органические фазы объединяли, промывали солевым раствором, сушили (Na₂SO₄) и упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, элюент: гексан:AcOEt = 9:1, об./об.). Полученный продукт очищали с помощью кристаллизации из горячего гексана. Полученный продукт получали в виде кристаллов белого цвета (39,8 г, 175 ммоль), выход 71%. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 3,62 (t, J=6,4 Гц, 1H), 3,39 (s, 1H), 2,42 (t, J=6,4 Гц, 1H), 1,46-1,39 (m, 6H), 0,99 (s, 3H).

Стадия В. Соединение XXII - трет-бутил-(R)-3,3-диметил-4-(((R)-1-фенилэтил)-амино)пиперидин-1-карбоксилат



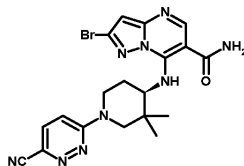
К раствору трет-бутил-3,3-диметил-4-оксопиперидин-1-карбоксилата XIX (100 г, 418 ммоль) в толуоле (1500 мл) добавляли (R)-1-фенилэтан-1-амин XX (59,7 мл, 460 ммоль) и паратолуолсульфоновую кислоту (0,80 г, 4,2 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при кипячении с обратным холодильником при использовании азеотропной ловушки Дина-Старка в течение 24 ч. Полученную таким образом смесь, содержащую соединение XXI, затем охлаждали до -70°C без её разделения, добавляли этанол (100 мл) и порциями добавляли борогидрид натрия (19,0 г, 502 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч, пока температура медленно поднималась до комнатной температуры. К смеси добавляли воду (300 мл) и концентрировали до 1/3 ее объема. Смесь подвергали экстракции AcOEt (2×300 мл). Органические фазы объединяли, сушили (Na₂SO₄) и упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, элюент гексан:AcOEt = 9:1, об./об.). Продукт получали в виде бесцветного масла (67,3 г, 418 ммоль) с выходом 48%. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 7,37-7,25 (m, 4H), 7,22-7,15 (m, 1H), 3,85-3,70 (m, 1H), 3,72 (q, J=6,5 Гц, 1H), 3,58-3,42 (m, 1H), 2,70-2,40 (m, 2H), 2,16 (dd, 1H, J=10,7, 6,51 Гц, 1H), 1,44 (s, 1H), 1,36 (s, 9H), 1,22 (d, J=6,5 Гц, 3H), 1,18-1,02 (m, 1H), 0,92 (s, 3H), 0,76 (s, 3H).

Стадия С. Соединение VI - трет-бутил-(г)-4-амино-3,3-диметилпиперидин-1-карбоксилат

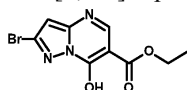


К дегазированному раствору трет-бутил-(г)-3,3-диметил-4-(((R)-1-фенилэтил)амино)пиперидин-1-карбоксилата XXII (44,9 г, 135 ммоль) в этаноле (1150 мл) добавляли 10% Pd/C (4,0 г). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере водорода в течение 20 ч. Смесь фильтровали через слой целита и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, элюент: от AcOEt до AcOEt:метанол = 50:50, об./об.). Продукт получали в виде бесцветного масла (26,5 г, 116 ммоль) с выходом 86%. ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 4,20-3,88 (m, 1H), 3,85-3,53 (m, 1H), 2,95-2,70 (m, 1H), 2,60-2,45 (m, 1H), 2,50 (dd, J=10,9, 4,2 Гц, 1H), 1,68-1,54 (m, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,45-1,32 (m, 1H), 1,13 (bs, 2H), 0,93 (s, 3H), 0,82 (s, 3H).

Промежуточное соединение P2. (R)-2-Бром-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-карбоксамид (соединение XII)

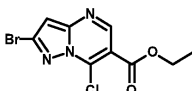


Стадия 1. Этил-2-бром-7-гидроксипиразоло[1,5-а]пиримидин-6-карбоксилат IV



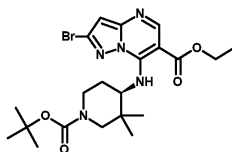
К раствору 5-амино-3-бром-1Н-пиразола II (20,0 г, 121 ммоль) в уксусной кислоте (200 мл) добавляли диэтилэтоксиметиленмалонат III (25,9 мл, 127 ммоль). Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником при перемешивании в течение 20 ч. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры, выпавшее в осадок твердое вещество отфильтровывали, промывали этанолом и диэтиловым эфиром. Продукт получали в виде твердого вещества кремового цвета (27,9 г, 97,4 ммоль) с выходом 81%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $C_9H_7BrN_3O_3$ $[M-H]^- = 284,0$, найдено 284,0. 1H ЯМР (300 МГц, $DMCO-d_6$) δ 8,37 (s, 1H), 6,15 (s, 1H), 4,50 (bs, 1H), 4,14 (q, $J=7,1$ Гц, 2H), 1,24 (t, $J=7,1$ Гц, 3H).

Стадия 2. Этил-2-бром-7-хлорпиразоло[1,5-а]пиримидин-6-карбоксилат V



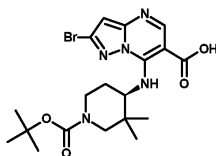
К раствору этил-2-бром-7-гидроксипиразоло[1,5-а]пиримидин-6-карбоксилата IV (9,34 г, 32,6 ммоль), полученного на стадии 1, и хлорида тетрабутиламмония (18,9 г, 65,3 ммоль) в ацетонитриле (180 мл) добавляли триэтиламин (22,9 мл, 163 ммоль). Затем по каплям добавляли оксихлорид фосфора (V) (30,4 мл, 326 ммоль) в течение 15 мин. Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником при перемешивании в течение 20 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь выливали в смесь насыщенного карбоната натрия и льда. Смесь подвергали экстракции этилацетатом (3×300 мл). Органические фазы объединяли, промывали соевым раствором, сушили (Na_2SO_4) и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, элюент: гептан:AcOEt = 9:1 до 8:2, об./об.). Продукт получали в виде аморфного вещества светло-желтого цвета (6,86 г, 22,5 ммоль) с выходом 69%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $C_9H_8BrClN_3O_2$ $[M+H]^+ = 303,9$, найдено 303,9. 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 8,97 (s, 1H), 6,90 (s, 1H), 4,49 (q, $J=7,1$ Гц, 2H), 1,46 (t, $J=7,1$ Гц, 3H).

Стадия 3. Этил-(R)-2-бром-7-((1-(трет-бутоксикарбонил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-карбоксилат VII



К ацетонитрильному (150 мл) раствору этил-2-бром-7-хлорпиразоло[1,5-а]пиримидин-6-карбоксилата VI (5,86 г, 19,2 ммоль), полученного на стадии 2, добавляли триэтиламин (8,05 мл, 57,7 ммоль). Затем к смеси по каплям добавляли раствор трет-бутил-(R)-4-амино-3,3-диметилпиперидин-1-карбоксилата VI (Промежуточное соединение P1) (4,61 г, 20,2 ммоль) в ацетонитриле (30 мл) в течение 15 мин. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч и затем концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в AcOEt (100 мл) и добавляли воду (100 мл). После разделения фаз, водную фазу подвергали экстракции AcOEt (2×100 мл). Органические фазы объединяли, промывали соевым раствором, сушили (Na_2SO_4) и упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, элюент: гептан:AcOEt = от 95:5 до 85:15, об./об.). Продукт получали в виде аморфного твердого вещества кремового цвета (8,08 г, 16,3 ммоль) с выходом 85%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $C_{21}H_{31}BrN_5O_4$ $[M+H]^+ = 496,2$, найдено 496,2. 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 9,84 (d, $J=8,8$ Гц, 1H), 8,70 (s, 1H), 6,47 (s, 1H), 5,32 (t, $J=8,6$ Гц, 1H), 4,38 (q, $J=7,1$ Гц, 2H), 4,20-3,95 (m, 1H), 3,93-3,65 (m, 1H), 3,13-2,93 (m, 1H), 2,90-2,70 (m, 1H), 2,08-1,95 (m, 1H), 1,80-1,65 (m, 1H), 1,48 (s, 9H), 1,41 (t, $J=7,1$ Гц, 3H), 1,09 (s, 3H), 1,00 (s, 3H).

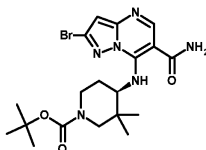
Стадия 4. (R)-2-Бром-7-((1-(трет-бутоксикарбонил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)-амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-карбоновая кислота VIII



К раствору этил-(R)-2-бром-7-((1-(трет-бутоксикарбонил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-карбоксилата VII (8,06 г, 16,2 ммоль), полученного на стадии 3, в смеси этанола (200 мл) и воды (50 мл), добавляли гидроксид лития (3,41 г, 81,2 ммоль). Смесь нагревали при 55°C при перемешивании в течение 90 мин. После охлаждения до комнатной температуры этанол выпаривали из смеси при пониженном давлении. К остатку добавляли воду (100 мл) и затем 1М водный раствор со-

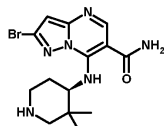
ляной кислоты до осаждения твердого вещества белого цвета. Полученное твердое вещество фильтровали, промывали водой и сушили. Затем твердое вещество растворяли в дихлорметане, сушили (Na_2SO_4) и упаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт, полученный в виде твердого вещества кремового цвета (7,37 г, 15,7 ммоль) с выходом 97%, использовали на следующей стадии без очистки.

Стадия 5. трет-Бутил-(R)-4-((2-бром-6-карбамоилпиразоло[1,5-a]пиримидин-7-ил)амино)-3,3-диметилпиперидин-1-карбоксилат IX



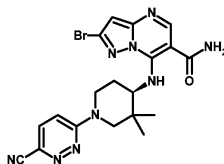
Неочищенную (R)-2-бром-7-((1-(трет-бутоксикарбонил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоновую кислоту VIII (7,37 г, 15,7 ммоль) со стадии 4 растворяли в сухом дихлорметане (200 мл) в атмосфере аргона. После охлаждения смесь охлаждали до 0°C , добавляли оксалилхлорид (2,72 мл, 31,5 ммоль). Затем добавляли каплю диметилформамида (0,5 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре. Затем реакционную смесь упаривали при пониженном давлении. Остаток растворяли в сухом дихлорметане (200 мл). К смеси добавляли 25% водный раствор аммиака (24,2 мл, 157 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при комнатной температуре, и дихлорметан упаривали при пониженном давлении. К остатку добавляли воду (200 мл). Смесь подвергали экстракции AcOEt (3×200 мл). Органические фазы объединяли, сушили (Na_2SO_4) и упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, элюент: дихлорметан:метанол = 97:3, об./об.). Продукт получали в виде кристаллов белого цвета (5,21 г, 11,1 ммоль) с выходом 71%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{BrN}_6\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 467,1$, найдено 467,1. ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 10,72 (d, J=9,0 Гц, 1H), 8,35 (s, 1H), 6,45 (s, 1H), 6,04 (bs, 2H), 5,27 (t, J=8,4 Гц, 1H), 4,20-3,93 (m, 1H), 3,90-3,63 (m, 1H), 3,15-2,90 (m, 1H), 2,90-2,67 (m, 1H), 2,02 (dq, J=7,3, 3,4 Гц, 1H), 1,80-1,65 (m, 1H), 1,47 (s, 9H), 1,08 (s, 3H), 0,99 (s, 3H).

Стадия 6. (R)-2-Бром-7-((3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)пиразоло[1,5-a]-пиримидин-6-карбоксамид X



К раствору трет-бутил-(R)-4-((2-бром-6-карбамоилпиразоло[1,5-a]пиримидин-7-ил)амино)-3,3-диметилпиперидин-1-карбоксилата IX (5,21 г, 11,1 ммоль) со стадии 5 в дихлорметане (80 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (8,53 мл, 111 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Летучие вещества выпаривали при пониженном давлении. К остатку добавляли воду (100 мл) и затем 6 М гидроксид натрия до pH 2. Из смеси осаждалось твердое вещество белого цвета. Смесь подвергали экстракции AcOEt (3×100 мл). Органические фазы объединяли, сушили (Na_2SO_4) и упаривали. Неочищенный продукт, полученный в виде твердого вещества белого цвета (4,09 г, 11,1 ммоль) с выходом 100%, использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

Стадия 7. (R)-2-Бром-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид XII



Неочищенный (R)-2-бром-7-((3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)пиразоло[1,5-a]-пиримидин-6-карбоксамид XI (2,05 г, 5,58 ммоль) со стадии 6 растворяли в сухом диметилформамиде (50 мл) в атмосфере аргона. К раствору добавляли триэтиламин (3,91 мл, 27,9 ммоль) и затем 6-хлорпиридазин-3-карбонитрил (963 мг, 6,69 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 80°C при перемешивании в течение 1 ч. После охлаждения до комнатной температуры добавляли 100 мл воды и смесь подвергали экстракции AcOEt (3×100 мл). Органические фазы объединяли, сушили и упаривали при пониженном давлении. К остатку добавляли толуол (50 мл) и упаривали при пониженном давлении. Это повторяли дважды. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель, элюент: дихлорметан:метанол = 98:2, об./об.). Продукт получали в виде твердого вещества светло-желтого цвета (2,35 г, 4,99 ммоль) с выходом 89%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{BrN}_9\text{O}$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 470,1$, найдено 470,1. ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 11,06 (d, J=8,3 Гц, 1H), 8,44 (s, 1H), 7,50 (d, J=9,7 Гц, 1H), 6,99 (d, J=9,7 Гц, 1H), 6,45 (s, 1H), 6,04 (bs, 2H), 5,49 (dd, J=10,6, 4,2 Гц, 1H), 4,48 (d, J=13,3 Гц, 1H), 4,29 (d, J=13,6 Гц, 1H), 3,40 (ddd, J=13,6, 9,4, 3,3 Гц, 1H), 3,17 (d, J=13,7 Гц, 1H), 2,26 (dq, J=11,3, 3,6 Гц, 1H), 1,96-1,80 (m, 1H), 1,11 (s, 3H),

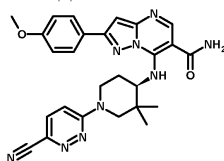
1,10 (s, 3H).

Соединения согласно настоящему изобретению получали из промежуточного соединения Р2 и соответствующей бороновой кислоты ХМа или пинаколового эфира бороновой кислоты ХПв в соответствии с общей методикой, как описано в следующих примерах.

Общая методика.

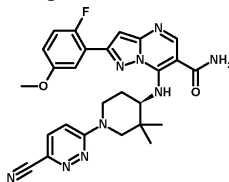
К смеси (R)-2-бром-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-карбоксамида (Промежуточное соединение Р2) (1 экв.), комплекса [1,1-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II) и дихлорметана (0,1 экв.) и соответствующей бороновой кислоты (2 экв.) или пинаколового эфира бороновой кислоты в дегазированном диоксане (20 мл /1 ммоль Р2) в колбе Шленка добавляли дегазированный 2 М водный раствор фосфата калия (3 экв.). Через реакционную смесь продували аргон в течение 15 мин. Колбу плотно закрывали и реакционную смесь нагревали до 120°C при перемешивании в течение 3 ч. Затем реакционную смесь охлаждали, разбавляли этилацетатом, фильтровали через слой целита и концентрировали при пониженном давлении. Масляный остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (силикагель: элюент: гексан:АсОEt), с получением продукта.

Пример 1. (R)-7-((1-(6-Цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(4-метоксифенил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-карбоксамида



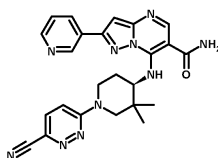
Получали с использованием соединения Р2 (51 мг, 0,11 ммоль) и (4-метоксифенил)бороновой кислоты (33, мг, 0,22 ммоль) в виде аморфного твердого вещества белого цвета (29 мг, 0,058 ммоль) с выходом 53%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $C_{26}H_{28}N_9O_2$ $[M+H]^+ = 498,2$, найдено 498,2. 1H ЯМР (300 МГц, CD_3OD) δ 8,51 (s, 1H), 7,92 (d, J=8,7 Гц, 2H), 7,66 (d, J=9,7 Гц, 1H), 7,67-7,47 (m, 2H), 7,35 (d, J=9,9 Гц, 1H), 7,03 (d, J=8,6 Гц, 2H), 6,71 (s, 1H), 5,82-5,70 (m, 1H), 4,67-4,55 (m, 1H), 4,42-4,25 (m, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,50-3,38 (m, 1H), 3,21 (d, J=14,3 Гц, 1H), 2,42-2,27 (m, 1H), 2,05-1,85 (m, 1H), 1,12 (s, 6H).

Пример 2. (R)-7-((1-(6-Цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(2-фтор-5-метоксифенил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-карбоксамида



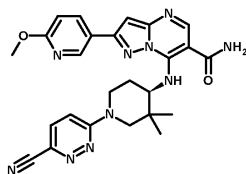
Получали из соединения Р2 (47 мг, 0,10 ммоль) и (2-фтор-5-метоксифенил)бороновой кислоты (34 мг, 0,20 ммоль) в виде аморфного твердого вещества белого цвета (25 мг, 0,049 ммоль) с выходом 49%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $C_{26}H_{27}FN_9O_2$ $[M+H]^+ = 516,2$, найдено 516,2. 1H ЯМР (300 МГц, $DMCO-d_6$) δ 11,22 (bs, 1H), 8,67 (s, 1H), 8,19 (bs, 1H), 7,87 (d, J=9,7 Гц, 1H), 7,59 (dd, J=5,8, 3,2 Гц, 1H), 7,55 (bs, 1H), 7,49 (d, J=9,8 Гц, 1H), 7,33 (dd, J=10,6, 9,2 Гц, 1H), 7,06 (dt, J=9,0, 3,5 Гц, 1H), 6,88 (d, J=3,3 Гц, 1H), 5,58-5,46 (m, 1H), 4,68 (d, J=13,7 Гц, 1H), 4,33 (d, J=13,5 Гц, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,34-3,24 (m, 1H), 3,13 (d, J=13,7 Гц, 1H), 2,36-2,24 (m, 1H), 1,92-1,74 (m, 1H), 1,05 (s, 3H), 1,04 (s, 3H).

Пример 3. (R)-7-((1-(6-Цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(пиридин-3-ил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-карбоксамида



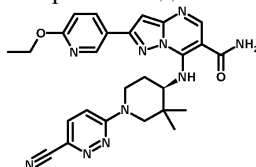
Получали из соединения Р2 (50 мг, 0,11 ммоль) и 3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридина (45 мг, 0,22 ммоль) в виде аморфного твердого вещества желтого цвета (40 мг, 0,085 ммоль) с выходом 78%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $C_{24}H_{25}N_{10}O$ $[M+H]^+ = 469,2$, найдено 469,2. 1H ЯМР (300 МГц, $DMCO-d_6$) δ 11,23 (d, J=6,2 Гц, 1H), 9,26 (dd, J=2,0, 0,5 Гц, 1H), 8,65 (s, 1H), 8,65 (dd, J=4,7 Гц, 1H), 8,41 (dt, J=8,0, 1,9 Гц, 1H), 8,17 (bs, 1H), 7,87 (d, J=9,7 Гц, 1H), 7,56 (ddd, J=7,9, 4,8, 0,7 Гц, 1H), 7,53 (bs, 1H), 7,49 (d, J=9,8 Гц, 1H), 7,13 (s, 1H), 5,58-5,47 (m, 1H), 4,63 (d, J=12,2 Гц, 1H), 4,33 (d, J=14,0 Гц, 1H), 3,44-3,34 (m, 1H), 3,22 (d, J=13,5 Гц, 1H), 2,32-2,20 (m, 1H), 1,90-1,74 (m, 1H), 1,04 (s, 3H), 1,03 (s, 3H).

Пример 4. (R)-7-((1-(6-Цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-метокси-пиридин-3-ил)пиразоло[1,5-а]пиримидин-6-карбоксамида



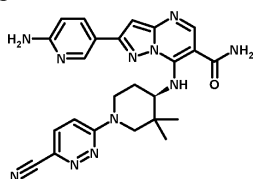
Получали из соединения P2 (47 мг, 0,10 ммоль) и (6-метоксипиридин-3-ил)бороновой кислоты (31 мг, 0,20 ммоль) в виде аморфного твердого вещества белого цвета (33 мг, 0,066 ммоль) с выходом 66%. МС-ИЭР: (m/z) рассчитано для $C_{25}H_{27}N_{10}O_2$ $[M+H]^+ = 499,2$, найдено 499,2. 1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6) δ 11,20 (d, J=5,9 Гц, 1H), 8,87 (d, J=1,3 Гц, 1H), 8,63 (s, 1H), 8,32 (dd, J=8,6, 1,7 Гц, 1H), 8,14 (bs, 1H), 7,87 (d, J=9,7 Гц, 1H), 7,50 (bs, 1H), 7,49 (d, J=9,7 Гц, 1H), 7,01 (s, 1H), 6,98 (d, J=8,7 Гц, 1H), 5,58-5,45 (m, 1H), 4,62 (d, J=12,3 Гц, 1H), 4,33 (d, J=13,4 Гц, 1H), 3,92 (s, 3H), 3,44-3,34 (m, 1H), 3,22 (d, J=13,6 Гц, 1H), 2,31-2,19 (m, 1H), 1,90-1,72 (1H), 1,04 (s, 3H), 1,02 (s, 3H).

Пример 5. (R)-7-((1-(6-Цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-этоксипиридин-3-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамида



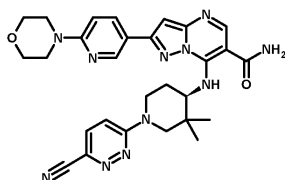
Получали из соединения P2 (53 мг, 0,11 ммоль) и (6-этоксипиридин-3-ил)бороновой кислоты (37 мг, 0,22 ммоль) в виде аморфного твердого вещества кремового цвета (34 мг, 0,066 ммоль) с выходом 60%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $C_{26}H_{29}N_{10}O_2$ $[M+H]^+ = 513,2$, найдено 513,2. 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 11,26 (d, J=8,2 Гц, 1H), 8,74 (s, 2H), 8,04 (d, J=8,3 Гц, 1H), 7,46 (d, J=9,5 Гц, 1H), 6,91 (d, J=9,6 Гц, 1H), 6,84 (d, J=8,6 Гц, 1H), 6,77 (s, 1H), 6,21 (bs, 2H), 5,78-5,65 (m, 1H), 4,53 (d, J=12,9 Гц, 1H), 4,42 (t, J=7,1 Гц, 2H), 4,32 (d, J=13,6 Гц, 1H), 3,44 (t, J=11,5 Гц, 1H), 3,19 (d, J=13,9 Гц, 1H), 2,36 (d, J=11,2 Гц, 1H), 2,06-1,86 (m, 1H), 1,44 (t, J=7,1 Гц, 3H), 1,16 (s, 6H).

Пример 6. (R)-2-(6-Аминопиперидин-3-ил)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамида



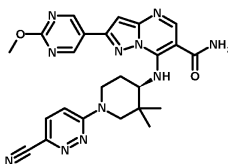
Получали из соединения P2 (48 мг, 0,10 ммоль) и 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-2-амин (44 мг, 0,20 ммоль) в виде аморфного твердого вещества белого цвета (22 мг, 0,046 ммоль) с выходом 46%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $C_{24}H_{26}N_{11}O$ $[M+H]^+ = 484,2$, найдено 484,2. 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 11,03-10,91 (m, 1H), 8,56 (dd, J=2,3, 0,7 Гц, 1H), 8,40 (s, 1H), 8,08 (dd, J=2,4, 0,7 Гц, 1H), 7,96 (dd, J=8,7, 2,3 Гц, 1H), 7,63 (dd, J=8,7, 2,5 Гц, 1H), 7,49 (d, J=9,6 Гц, 1H), 6,98 (d, J=9,7 Гц, 1H), 6,66 (ddd, J=8,7, 2,1, 0,7 Гц, 2H), 6,62 (s, 1H), 5,67 (dd, J=10,3, 3,8 Гц, 1H), 4,53 (d, J=13,7 Гц, 1H), 4,30 (d, J=13,1 Гц, 1H), 3,48-3,35 (m, 2H), 2,42-2,30 (m, 1H), 2,03-1,86 (m, 1H), 1,14 (s, 6H).

Пример 7. (R)-7-((1-(6-Цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-морфолин-опиридин-3-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамида



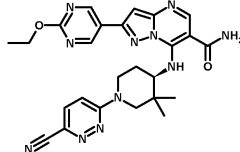
Получали из соединения P2 (51 мг, 0,11 ммоль) и 4-(5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридин-2-ил)морфолина (58 мг, 0,20 ммоль) в виде аморфного твердого вещества кремового цвета (20 мг, 0,036 ммоль) с выходом 33%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $C_{28}H_{32}N_{11}O_2$ $[M+H]^+ = 554,3$, найдено 554,2. 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 10,87 (d, J=8,8 Гц, 1H), 8,78 (d, J=2,1 Гц, 1H), 8,42 (s, 1H), 7,97 (dd, J=8,9, 2,4 Гц, 1H), 7,44 (d, J=9,6 Гц, 1H), 6,90 (d, J=9,7 Гц, 1H), 6,73 (d, J=8,8 Гц, 1H), 6,67 (s, 1H), 5,94 (bs, 2H), 5,71 (ddd, J=10,3, 8,9, 4,2 Гц, 1H), 4,52 (d, J=13,3 Гц, 1H), 4,29 (d, J=13,5 Гц, 1H), 3,88-3,82 (m, 4H), 3,64-3,57 (m, 4H), 3,49-3,37 (m, 1H), 3,17 (d, J=13,7 Гц, 1H), 2,42-2,30 (m, 1H), 1,94 (ddd, J=15,2, 11,7, 4,6 Гц, 1H), 1,14 (s, 6H).

Пример 8. (R)-7-((1-(6-Цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(2-метоксипиримидин-5-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамида



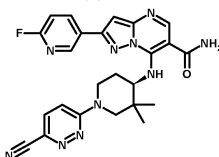
Получали из соединения P2 (53 мг, 0,11 ммоль) и (2-метоксиимиридин-5-ил)бороновой кислоты (34 мг, 0,22 ммоль) в виде аморфного твердого вещества белого цвета (42 мг, 0,084 ммоль) с выходом 76%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $C_{24}H_{26}N_{11}O_2[M+H]^+ = 500,2$, найдено 500,2. 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 11,18 (d, J=8,1 Гц, 1H), 9,03 (s, 2H), 8,63 (s, 1H), 7,46 (d, J=9,6 Гц, 1H), 6,91 (d, J=9,6 Гц, 1H), 6,80 (s, 1H), 6,13 (bs, 2H), 5,72-5,57 (m, 1H), 4,52 (d, J=12,7 Гц, 1H), 4,33 (d, J=13,7 Гц, 1H), 4,10 (s, 3H), 3,42 (t, J=10,9 Гц, 1H), 3,17 (d, J=13,7 Гц, 1H), 2,42-2,24 (m, 1H), 2,06-1,90 (m, 1H), 1,16 (s, 3H), 1,15 (s, 3H).

Пример 9. (R)-7-((1-(6-Цианоимиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(2-этоксимиридин-5-ил)пиразоло[1,5-а]имиридин-6-карбоксаид



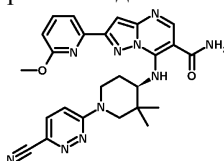
Получали из соединения P2 (50 мг, 0,11 ммоль) и (2-этоксимиридин-5-ил)бороновой кислоты (37 мг, 0,22 ммоль) в виде аморфного твердого вещества белого цвета (17 мг, 0,033 ммоль) с выходом 30%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $C_{25}H_{28}N_{11}O_2[M+H]^+ = 514,2$, найдено 514,2. 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 11,07 (d, J=8,8 Гц, 1H), 9,00 (s, 2H), 8,54 (s, 1H), 7,45 (d, J=9,5 Гц, 1H), 6,90 (d, J=9,7 Гц, 1H), 6,76 (s, 1H), 6,04 (bs, 2H), 5,70-5,58 (m, 1H), 4,50 (q, J=7,0 Гц, 3H), 4,32 (d, J=13,6 Гц, 1H), 3,41 (t, J=11,4 Гц, 1H), 3,16 (d, J=13,6 Гц, 1H), 2,34 (d, J=10,5 Гц, 1H), 2,10-1,94 (m, 1H), 1,47 (t, J=7,1 Гц, 3H), 1,15 (s, 3H), 1,14 (s, 3H).

Пример 10. (R)-7-((1-(6-Цианоимиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-фторпиридин-3-ил)пиразоло[1,5-а]имиридин-6-карбоксаид



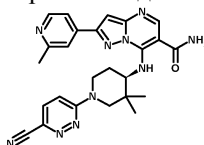
Получали из соединения P2 (47 мг, 0,10 ммоль) и (6-фторпиридин-3-ил)бороновой кислоты (28 мг, 0,20 ммоль) в виде аморфного твердого вещества кремового цвета (38 мг, 0,078 ммоль) с выходом 78%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $[M+H]^+ = 487,2$, найдено 487,2. 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 11,06 (d, J=8,8 Гц, 1H), 8,79 (d, J=2,4 Гц, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,29 (ddd, J=8,3, 7,8, 2,5 Гц, 1H), 7,48 (d, J=9,7 Гц, 1H), 7,09 (dd, J=8,5, 2,8 Гц, 1H), 6,95 (d, J=9,7 Гц, 1H), 6,74 (s, 1H), 5,65 (dd, J=10,4, 4,1 Гц, 1H), 4,52 (d, J=13,3 Гц, 1H), 4,31 (d, J=13,5 Гц, 1H), 3,50-3,34 (m, 1H), 3,18 (d, J=13,8 Гц, 1H), 2,40-2,28 (m, 1H), 2,06-1,88 (m, 1H), 1,15 (s, 6H).

Пример 11. (R)-7-((1-(6-Цианоимиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-метоксиимиридин-2-ил)пиразоло[1,5-а]имиридин-6-карбоксаид



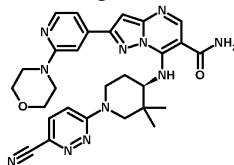
Получали из соединения P2 (201 мг, 0,43 ммоль) и 2-метокси-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридина (202 мг, 0,86 ммоль) в виде аморфного твердого вещества белого цвета (144 мг, 0,29 ммоль) с выходом 67%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $C_{25}H_{27}N_{10}O_2[M+H]^+ = 499,2$, найдено 499,2. 1H ЯМР (300 МГц, $DMCO-d_6$) δ 11,32 (d, J=8,8 Гц, 1H), 8,73 (s, 1H), 8,65 (d, J=5,1 Гц, 1H), 8,24 (s, 1H), 7,94 (d, J=9,8 Гц, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,87 (d, J=5,1 Гц, 1H), 7,60 (bs, 1H), 7,57 (d, J=9,8 Гц, 1H), 7,21 (s, 1H), 5,62-5,50 (m, 1H), 4,73 (d, J=11,9 Гц, 1H), 4,42 (d, J=13,5 Гц, 1H), 3,52-3,40 (m, 1H), 3,28 (d, J=13,7 Гц, 1H), 2,64 (s, 3H), 2,35 (d, J=9,7 Гц, 1H), 1,98-1,80 (m, 1H), 1,11 (s, 3H), 1,10 (s, 3H).

Пример 12. (R)-7-((1-(6-Цианоимиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(2-метилпиридин-4-ил)пиразоло[1,5-а]имиридин-6-карбоксаид



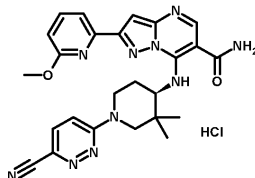
Получали из соединения P2 (49 мг, 0,10 ммоль) и 2-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиридина (44 мг, 0,20 ммоль) в виде аморфного твердого вещества белого цвета (20 мг, 0,050 ммоль) с выходом 41%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $C_{25}H_{27}N_{10}O$ $[M+H]^+ = 483,2$, найдено 483,2. 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 10,89 (d, J=8,5 Гц, 1H), 8,62 (d, J=5,4 Гц, 1H), 8,36 (s, 1H), 7,66-7,57 (m, 2H), 7,46 (d, J=9,6 Гц, 1H), 6,92 (d, J=9,5 Гц, 1H), 6,85 (s, 1H), 5,86-5,61 (m, 3H), 4,58 (d, J=13,0 Гц, 1H), 4,33 (d, J=13,6 Гц, 1H), 3,44 (t, J=12,3 Гц, 1H), 3,19 (d, J=13,6 Гц, 1H), 2,6 (s, 3H), 2,40 (dd, J=13,4, 3,7 Гц, 1H), 2,07-1,90 (m, 1H), 1,16 (s, 6H).

Пример 13. (R)-7-((1-(6-Цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(2-морфолинопиридин-4-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид



Получали из соединения P2 (52 мг, 0,11 ммоль) и (2-морфолинопиридин-4-ил)бороновой кислоты (46 мг, 0,22 ммоль) в виде аморфного твердого вещества белого цвета (30 мг, 0,054 ммоль) с выходом 49%. МС-ИЭР: (m/z) вычислено для $C_{28}H_{32}N_{11}O_2$ $[M+H]^+ = 554,3$, найдено 554,2. 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 11,05 (d, J=8,2 Гц, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,29 (d, J=5,2 Гц, 1H), 7,49 (d, J=9,6 Гц, 1H), 7,20 (dd, J=5,2, 1,1 Гц, 1H), 7,12 (s, 1H), 6,97 (d, J=9,7 Гц, 1H), 6,78 (s, 1H), 5,68 (dd, J=10,3, 4,0 Гц, 1H), 4,55 (d, J=13,4 Гц, 1H), 4,28 (d, J=13,8 Гц, 1H), 3,91 - 3,84 (m, 4H), 3,64-3,56 (m, 4H), 3,43-3,31 (m, 1H), 3,18 (d, J=13,7 Гц, 1H), 2,45-2,30 (m, 1H), 2,05-1,89 (m, 1H), 1,15 (s, 6H).

Пример 14. (R)-7-((1-(6-Цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-метокси-пиридин-2-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид



К раствору (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-метокси-пиридин-2-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид (100 мг, 0,201 ммоль) в ацетоне (10 мл) добавляли 37% водный раствор соляной кислоты (170 мкл, 2,01 ммоль, 1,0 экв.). Осажденное твердое вещество белого цвета отфильтровывали, промывали ацетоном и сушили, получая указанный продукт (90 мг, 0,168 ммоль) с выходом 84%. 1H ЯМР (300 МГц, $DMCO-d_6$) δ 12,20 (d, J=6,6 Гц, 1H), 9,00 (s, 1H), 8,57 (bs, 1H), 7,95-7,78 (m, 4H), 7,50 (d, J=9,8 Гц, 1H), 7,04 (s, 1H), 6,94 (d, J=9,8 Гц, 1H), 5,70-5,50 (m, 1H), 4,63 (d, J=13,2 Гц, 1H), 4,35 (d, J=13,7 Гц, 1H), 3,98 (s, 3H), 3,39 (t, J=11,3 Гц, 1H), 3,23 (d, J=13,7 Гц, 1H), 2,35-2,22 (m, 1H), 1,95-1,77 (m, 1H), 1,08 (s, 3H), 1,05 (s, 3H).

Биологическая активность соединений согласно настоящему изобретению

Анализ ингибирования киназы JAK in vitro.

Эффекты соединений согласно настоящему изобретению анализировали in vitro с использованием анализа ингибирования киназы JAK, описанного ниже.

Исследуемые соединения растворяли в 100% ДМСО и готовили последовательные разведения полученных исходных растворов в реакционном буфере (50 мМ Трис pH 7,5, 10 мМ $MgCl_2$, 0,25 мМ EGTA, 0,1 мМ Na_3VO_4 , 0,01% Тритон X-100, 2,5 мМ DTT). Рекombинантные киназы JAK1 (ProQinase), JAK2 или JAK3 (Carna Biosciences) разводили в буфере для разведения (50 мМ Трис-HCl pH 7,5, 150 мМ NaCl, 10% глицерин, 0,05% Тритон X-100, 1 мМ DTT) до конечной концентрации 3 нг/мкл (JAK1), 0,1 нг/мкл (JAK2) или 0,2 нг/мкл (JAK3). 5 мкл полученного раствора соединений и 5 мкл раствора соответствующих киназ вносили в лунку 96-луночного планшета. Чтобы инициировать взаимодействие между исследуемыми соединениями и ферментом, планшет инкубировали в течение 10 мин при 25°C в термошейкере для планшетов с орбитальным перемешиванием со скоростью 400 об/мин. Лунки отрицательного контроля содержали все реагенты, указанные выше, за исключением исследуемых соединений и киназы, а лунки положительного контроля содержали все реагенты, как указано выше, за исключением исследуемых соединений. Ферментативную реакцию иницировали путем добавления 15 мкл следующего раствора: 5-кратный концентрированный реакционный буфер (50 мМ Трис pH 7,5, 10 мМ $MgCl_2$, 0,25 мМ EGTA, 0,1 мМ Na_3VO_4 , 0,01 % Тритон X-100, 2,5 мМ DTT), вода, 30 мкМ АТФ и для определенных киназ: JAK1 - 60 мкМ пептида IRS-1 (Enzo), JAK2 или JAK3 - 10 мкМ пептида IGF-1Rtide (Lipopharm). Затем планшет инкубировали в течение 1 ч при 25°C в термошейкере для планшетов с орбитальным перемешиванием со скоростью 400 об/мин. Затем обнаружение АДФ, образованного в ферментативной реакции, осуществляли с использованием набора для анализа киназ ADP-Glo (Promega). Для этого в лунку 96-луночного планшета добавляли 25 мкл реагента ADP-Glo, и планшет инкубировали в течение 40 мин

при 25°C в термошейкере для планшетов с орбитальным перемешиванием со скоростью 400 об/мин. Затем в лунку 96-луночного планшета добавляли 50 мкл реагента для обнаружения киназы и планшет инкубировали в течение 30 мин при 25°C в термошейкере для планшетов с орбитальным перемешиванием со скоростью 400 об/мин. После инкубации интенсивность люминесценции измеряли с использованием люминометра Victor x Light (Perkin Elmer, Inc.).

На основании измерения люминесценции в лунках, содержащих исследуемые соединения в различных концентрациях, и в контрольных лунках были определены значения IC_{50} . Эти значения были определены с помощью программного обеспечения Graph Pad v. 5.03 путем сопоставления точек с кривой с использованием метода нелинейной регрессии. Каждое соединение исследовали по меньшей мере в 6 повторностях (6 лунок) в двух 96-луночных планшетах, используя по меньшей мере 3 лунки каждого контроля.

Усредненные результаты активности ингибирования киназ JAK для выбранных соединений согласно настоящему изобретению представлены ниже в табл. 1. Представленные данные показывают, что соединения согласно настоящему изобретению способны ингибировать предпочтительно киназы JAK1 и JAK3 по сравнению с киназой JAK2.

Таблица 1

№ примера	IC_{50} в отн. JAK1 [нМ]	IC_{50} в отн. JAK2 [нМ]	IC_{50} в отн. JAK3 [нМ]
1	1,80	19,01	1,2
2	3,74	59,28	3,77
3	4,47	31,15	1,58
4	2,67	27,66	2,67
5	8,08	34,38	1,8
6	0,38	2,98	0,16
7	0,75	3,40	0,19
8	8,54	26,77	2,24
9	47,48	89,61	18,75
10	2,37	12,82	0,6
11	0,05	1,18	0,03
12	0,51	5,05	0,29
13	0,51	2,82	0,2

Анализ жизнеспособности клеток TF-1 in vitro.

Эффекты активности соединений согласно настоящему изобретению исследовали in vitro с использованием анализа жизнеспособности клеток, описанного ниже.

Исследуемые соединения растворяли в 100% ДМСО и готовили последовательные разведения полученных исходных растворов в среде OptiMEM (среда с пониженной концентрацией сыворотки - Thermo Fisher Scientific). Клетки TF-1 (№ DSMZ: ACC 334) в культуральной среде (80% RPMI 1640 + 20% FBS) и в присутствии 5 нг/мл ИЛ-3 или 20 нг/мл ИЛ-4 вносили в 96-луночные планшеты в объеме 90 мкл на лунку, 10 тысяч клеток на лунку. В лунку 96-луночного планшета вносили 10 мкл приготовленных 10-кратных растворов соединений. Клетки на 96-луночных планшетах инкубировали с соединениями в течение 72 ч при 37°C, 5% CO₂. Впоследствии жизнеспособность клеток измеряли с использованием набора ATPlite (Perkin Elmer). Для этого в лунку 96-луночного планшета добавляли 50 мкл лизирующего буфера (раствор для лизиса клеток млекопитающих) и планшет инкубировали в течение 10 минут при 25°C в термошейкере для планшетов с орбитальным перемешиванием при 600 об/мин. Затем в лунку 96-луночного планшета добавляли 50 мкл субстрата (раствор субстрата) и инкубировали в течение 15 мин в темноте в термошейкере для планшетов с орбитальным перемешиванием со скоростью 600 об/мин. После инкубации интенсивность люминесценции в лунке измеряли с помощью люминометра Victor x Light (Perkin Elmer, Inc.).

На основании измерений интенсивности люминесценции в лунках, содержащих исследуемые соединения в различных концентрациях, и в контрольных лунках были определены значения EC_{50} . Эти значения были определены с помощью программного обеспечения Graph Pad v. 5.03 путем сопоставления точек с кривой с использованием метода нелинейной регрессии. Каждое соединение исследовали по меньшей мере в 6 повторностях (6 лунок) в двух 96-луночных планшетах, используя по меньшей мере 3 лунки каждого контроля.

Усредненные результаты активности ингибирования жизнеспособности клеток TF-1 в присутствии ИЛ-3 (активация JAK2) или ИЛ-4 (активация JAK1/JAK3) для выбранных соединений согласно настоящему изобретению представлены ниже в табл. 2. Представленные данные показывают, что соединения согласно настоящему изобретению способны ингибировать киназы JAK, и что можно наблюдать более сильное ингибирование киназ JAK1/JAK3 по сравнению с ингибированием киназы JAK2.

Таблица 2

№ примера	JAK2	JAK1,3	JAK2/JAK1,3
	ИЛ-3 [нМ]	ИЛ-4 [нМ]	Соотношение
1	836,9	350,4	2,4
2	1199	242,1	5
3	-	-	-
4	707	69	10,3
5	-	-	-
6	3327	361,4	9,2
7	282,6	36,1	7,8
8	2025	203,4	10
9	-	-	-
10	1285	111,6	11,5
11	451,3	61,13	7,4
12	360,9	31,1	11,6
13	1121	201,7	5,6

Анализ ингибирования выработки $\text{TNF}\alpha$ и $\text{INF}\gamma$ Т-лимфоцитами *in vitro*.

Активность соединений согласно настоящему изобретению исследовали с использованием анализа *in vitro*, описанного ниже.

Исследуемые соединения растворяли в 100% ДМСО и готовили последовательные разведения полученных исходных растворов в среде OptiMEM (среда с пониженной концентрацией сыворотки - Thermo Fisher Scientific). Лимфоциты выделяли из верхнего слоя лейкоцитов, полученного из периферической крови человека. Выделение мононуклеарных клеток периферической крови проводили с использованием метода градиента Ficoll-Paque + Leucosept, с выделением лимфоцитов с применением набора для выделения CD4 + Т-клеток и активации с применением набора для активации/роста Т-клеток (Miltenyi Biotec). Выделенные клетки в культуральной среде (90% RPMI 1640 + 10% FBS) высевали в 12-луночные планшеты по 450 мкл/лунку, 300 тысяч клеток/лунку, и добавляли 50 мкл приготовленных 10-кратных растворов соединений. Через 48 ч супернатант собирали для определения уровня секретируемых цитокинов. Перед определением клетки центрифугировали 10 мин при 1000 g. Определение проводили с помощью проточного цитометра FACS Calibur с применением набора цитокинов человека Th LEGENDplex. Результаты представлены в табл. 3 в виде процента ингибирования цитокинов $\text{TNF}\alpha$ и $\text{INF}\gamma$, секретируемых Т-лимфоцитами, по отношению к контрольным клеткам.

Таблица 3

№ примера	Ингибирование $\text{TNF}\alpha$, %			Ингибирование $\text{INF}\gamma$, %		
	10 нМ	100 нМ	1000 нМ	10 нМ	100 нМ	1000 нМ
4	57,1	78,7	95,3	80,9	86,5	95,6
7	60,6	76,0	98,5	73,6	74,6	98,1
11	57,4	88,1	88,5	88,8	93,5	81,4
12	76,2	75,8	95,4	86,2	88,0	93,0

Анализ ингибирования фосфорилирования STAT6 *in vitro*.

Активность соединений согласно настоящему изобретению исследовали с использованием анализа *in vitro*, описанного ниже.

Исследуемые соединения растворяли в 100% ДМСО, и готовили последовательные разведения полученных исходных растворов в среде OptiMEM (среда с пониженной концентрацией сыворотки - Thermo Fisher Scientific). Клетки TF-1 (№ DSMZ: ACC 334) в культуральной среде (80% RPMI 1640 + 20% FBS) в присутствии ИЛ-4 при 20 нг/мл высевали в 12-луночные планшеты по 900 мкл/лунку, 700 тысяч клеток/лунку. В лунку 12-луночного планшета добавляли 100 мкл приготовленных 10-кратных растворов соединений. Клетки на 12-луночных планшетах инкубировали с исследуемыми соединениями в течение 1 ч при 37°C, 5% CO_2 . Затем клетки промывали в PBS, лизировали в буфере RIPA с добавлением EDTA, ингибиторов протеаз и фосфатаз и инкубировали в течение 5 мин на льду. Концентрацию белка определяли с использованием набора для анализа белка Pierce BCA (Thermo Fisher Scientific). Лизаты белков разделяли методом электрофореза (SDS-PAGE) на 8% полиакриламидных гелях, затем переносили влажным способом на нитроцеллюлозную мембрану и исследуемые белки определяли в соответствии с инструкциями производителя антител.

На основании измерения интенсивности хемилюминесценции проводили денситометрический анализ, и результаты, полученные для клеток, обработанных исследуемыми соединениями в различных концентрациях, сравнивали с результатами, полученными для контрольных клеток, и определяли значения IC_{50} .

Эти значения определяли с помощью программного обеспечения Graph Pad v. 5.03 путем сопоставления точек с кривой с использованием метода нелинейной регрессии. Каждое соединение исследовали по меньшей мере в 3 повторностях.

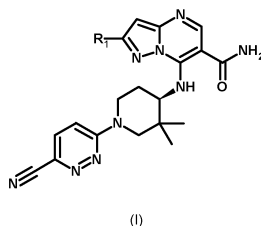
Усредненные результаты активности ингибирования фосфорилирования белка STAT6 в клетках TF-1 в присутствии ИЛ-4 (активация JAK1/JAK3) для выбранных соединений согласно настоящему изобретению представлены ниже в табл. 4.

Таблица 4

№ примера	IC ₅₀ [нМ]
4	442,0
7	115,8
11	114,5
12	149,8
13	214,8

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение общей формулы (I)



где R₁ представляет собой: фенил, замещенный одним или двумя заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена и C₁-C₃ алкокси; или 6-членный гетероарил с 1 или 2 атомами азота, который является незамещенным или замещен заместителем, выбранным из группы, состоящей из NH₂, галогена, алкила C₁-C₄, алкоксила C₁-C₃ и 6-членного гетероцикла, содержащего 1 или 2 гетероатома, выбранных из группы, состоящей из N и O; или его кислотно-аддитивная соль.

2. Соединение по п.1, в котором R₁ представляет собой фенил, замещенный одним или двумя заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена и C₁-C₃ алкоксила.

3. Соединение по п.1, в котором R₁ представляет собой 6-членный гетероарил с 1 или 2 атомами азота, который является незамещенным или замещен заместителем, выбранным из группы, состоящей из NH₂, галогена, алкила C₁-C₄, алкоксила C₁-C₃ и 6-членного гетероцикла, содержащего 1 или 2 гетероатома, выбранных из группы, состоящей из N и O.

4. Соединение по п.3, в котором указанный гетероарил представляет собой пиридинил.

5. Соединение по п.3, в котором указанный гетероарил представляет собой пиримидинил.

6. Соединение по п.4 или 5, в котором указанный гетероарил замещен заместителем, выбранным из группы, состоящей из алкила C₁-C₄, алкоксила C₁-C₃ и 6-членного гетероцикла, содержащего 1 или 2 гетероатома, выбранных из группы, состоящей из N и O.

7. Соединение по п.4, в котором пиридинил, представляющий собой пиридин-2-ил, пиридин-3-ил или пиридин-4-ил, замещен C₁-C₃ алкоксилем.

8. Соединение по п.5, в котором пиримидинил, представляющий собой пиримидин-5-ил, замещен C₁-C₃ алкоксилем.

9. Соединение по п.1, выбранное из группы, состоящей из следующего:

1) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(4-метоксифенил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;

2) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(2-фтор-5-метоксифенил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;

3) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(пиридин-3-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;

4) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-метоксипиридин-3-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;

5) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-этоксипиридин-3-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;

6) (R)-2-(6-аминопиридин-3-ил)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;

7) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-морфолинопиридин-3-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;

8) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(2-метокси-5-пиримидин-5-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;

9) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(2-этокси-5-пиримидин-5-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;

10) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-фторпиридин-3-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;

- 11) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-метоксипиридин-2-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 12) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(2-метилпиридин-4-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 13) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(2-морфолинопиридин-4-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамид;
- 14) (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-метоксипиридин-2-ил)пиразоло[1,5-a]пиримидин-6-карбоксамида гидрохлорид.
10. Соединение по п.9, представляющее собой (R)-7-((1-(6-цианопиридазин-3-ил)-3,3-диметилпиперидин-4-ил)амино)-2-(6-метоксипиридин-2-ил)пиразоло[1,5-a]-пиримидин-6-карбоксамид или его кислотно-аддитивную соль.
11. Применение соединения по любому из пп.1-10 для получения лекарственного средства для лечения хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний.
12. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-10 в качестве активного ингредиента и фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества.
13. Способ лечения хронических воспалительных и аутоиммунных заболеваний у субъекта, представляющего собой млекопитающее, включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-10.

