

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **039660**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.02.24

(21) Номер заявки
202090291

(22) Дата подачи заявки
2014.05.16

(51) Int. Cl. **C07D 403/14** (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(54) ТВЕРДАЯ ФОРМА ПРОИЗВОДНОГО БИПИРАЗОЛА

(31) **61/824,683**

(32) **2013.05.17**

(33) **US**

(43) **2020.05.31**

(62) **201592199; 2014.05.16**

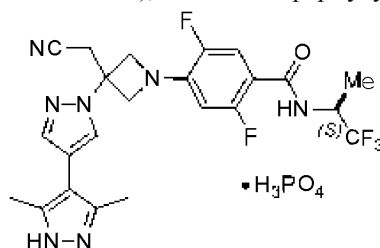
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ИНСАЙТ КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Изобретатель:
**Ли Юнь-Лун, Чжо Цзиньцун, Цянь
Дин-Цюань, Мей Сун, Цао Ганьфэн,
Пань Юнчунь, Ли Цюнь, Цзя
Чжунцзян (US)**

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A1-2012177606
US-A1-2011059951
US-A1-2009233903

(57) Настоящее изобретение относится к твердой форме фосфата 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (фосфат соединения 1), имеющего формулу



причем твердая форма является кристаллической и имеет по меньшей мере два пика XRPD в единицах 2-тета, выбранных из 6,8±0,2, 16,5±0,2, 20,7±0,2 и 23,6±0,2°. Указанная твердая форма ингибирует активность янус-киназы (JAK) и подходит для лечения заболеваний, связанных с активностью JAK.

039660

B1

B1

039660

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США № 61/824683, поданной 17 мая 2013 г., содержание которой включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки.

Область техники

В настоящем изобретении предложена твердая форма фосфата 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида, которая модулирует активность янус-киназ (JAK) и подходит для применения для лечения заболеваний, связанных с активностью JAK, включая, например, воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания, раковые заболевания и другие заболевания.

Уровень техники

Протеинкиназы (PK) регулируют разнообразные биологические процессы, включая клеточный рост, выживаемость, дифференциацию, формирование органов, морфогенез, неоваскуляризацию, восстановление ткани, а также регенерацию среди прочего. Протеинкиназы также играют особую роль в ряде заболеваний человека, включая раковые заболевания. Цитокины, низкомолекулярные полипептиды или гликопротеины регулируют многие сигнальные пути, участвующие в воспалительном ответе носителя на сепсис. Цитокины влияют на дифференцировку, пролиферацию и активацию клеток и могут модулировать провоспалительные и противовоспалительные ответы, для того чтобы позволить организму носителя соответствующим образом реагировать на патогены. Передача сигналов большого ряда цитокинов включает семейства янус-киназ (JAK) протеин-тирозинкиназ и преобразователи сигнала и активаторы транскрипции (STAT). Существует четыре известных JAK млекопитающих: JAK1 (янус-киназа-1), JAK2, JAK3 (также известная как янус-киназа лейкоцита, JAKL и L-JAK) и TYK2 (протеин-тирозинкиназа 2).

Стимулированные цитокинами иммунные и воспалительные ответы влияют на патогенез заболеваний. Такая патология как тяжелый комбинированный иммунодефицит (SCID) возникает в ответ на подавление иммунной системы, в то время как гиперактивный или неадекватный иммунный/воспалительный ответ влияет на патологию аутоиммунных заболеваний (например, астмы, системной красной волчанки, тиреоидита, миокардита) и таких болезней, как склеродермия и остеоартрит (Ortmann R.A., Cheng T. и др. (2000) *Arthritis Res* 2(1):16-32).

Недостаточная экспрессия JAK ассоциирована со многими болезненными состояниями. Например, мыши JAK1 -/- рождаются с дефицитом веса, не берут грудь и умирают в перинатальном возрасте (Rodig S.J., Meraz M.A. и др. (1998) *Cell* 93(3): 373-83). Эмбрионы мышей JAK2 -/- являются анемичными и умирают примерно на 12,5 день после спаривания в связи с отсутствием окончательного эритропоэза.

Сигнальный путь JAK/STAT и, в частности, все четыре JAK, вероятно, играют роль в патогенезе астматического ответа, хронической обструктивной болезни легких, бронхита и других воспалительных заболеваний нижних дыхательных путей.

Многочисленные цитокины, которые передают сигналы посредством JAK, связывают с воспалительными заболеваниями/состояниями верхних дыхательных путей, например, поражающими нос и пазухи (например, ринит и синусит), являющимися как обычными аллергическими реакциями, так и нет. Путь JAK/STAT также вовлечен в воспалительные заболевания/состояния глаза и хронические аллергические реакции.

Активация JAK/STAT при раковых заболеваниях может происходить путем стимуляции цитокинов (например, IL-6 или GM-CSF) или путем ослабления эндогенных супрессоров JAK-сигналинга, таких как SOCS (супрессор сигналинга цитокинов) или PIAS (белок-ингибитор активированного STAT) (Boudny V. и Kovarik J., *Neoplasia*, 49:349-355, 2002). Активацию сигналинга STAT, также как и других путей, расположенных ниже JAK по каскаду регуляторных взаимодействий (например, Akt), соотносят с неблагоприятным прогнозом при многих типах раковых заболеваний (Bowman T. и др. *Oncogene*, 19:2474-2488, 2000). Повышенные уровни циркулирующих цитокинов, которые передают сигнал через JAK/STAT, играют решающую роль в кахексии и/или хронической усталости. Соответственно ингибирование JAK может быть полезным для пациентов с раковыми заболеваниями по причинам, которые выходят за пределы потенциальной противоопухолевой активности.

Тирозинкиназа JAK2 может быть полезной для пациентов с миелопролиферативными нарушениями, например истинной полицитемией (ИП), эссенциальной тромбоцитемией (ЭТ), миелоидной метаплазией с миелофиброзом (МММ) (Levin и др., *Cancer Cell*, v. 7, 2005:387-397). Ингибирование киназы JAK2V617F уменьшает пролиферацию гематопоетических клеток, что наводит на мысль об использовании JAK2 в качестве потенциальной мишени для фармакологического ингибирования у пациентов с ИП, ЭТ и МММ.

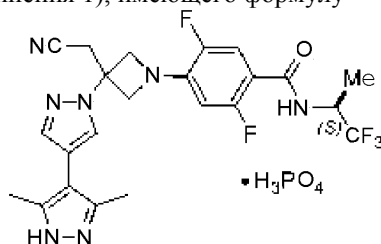
Ингибирование JAK может помочь пациентам, страдающим от иммунных заболеваний кожи, таких как псориаз и увеличение чувствительности кожи. Считается, что сохранение псориаза как болезненного состояния зависит от ряда воспалительных цитокинов в дополнение к различным хемокинам и факторам роста (JCI, 113:1664-1675), многие из которых передают сигнал через JAK (*Adv Pharmacol.* 2000; 47:113-74).

Таким образом, существует постоянная потребность в новых или улучшенных агентах, которые ингибируют такие киназы, как JAK, для разработки новых и более эффективных фармацевтических средств, которые направлены на усиление или подавление иммунных и воспалительных сигнальных пу-

тей (таких как иммуносупрессивные агенты, использующиеся при трансплантации органов), а также агентов для профилактики и лечения аутоиммунных заболеваний, заболеваний, включающих гиперактивный воспалительный ответ (например, экземы), аллергии, раковых заболеваний (например, рака простаты, лейкоза, множественной миеломы) и некоторых иммунных ответов (например, кожной сыпи, или контактного дерматита, или диареи), вызванных другими терапевтическими средствами. Соединения согласно настоящему изобретению, также как и их композиции и способы, описанные в настоящей заявке, направлены на эти и другие потребности.

Краткое описание изобретения

В настоящем изобретении предложена среди прочего твердая форма фосфата 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (фосфат соединения 1), имеющего формулу



где твердая форма является кристаллической, имеющей по меньшей мере два пика XRPD в единицах 2-тета, выбранных из $6,8 \pm 0,2$, $16,5 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$ и $23,6 \pm 0,2^\circ$.

Описание чертежей

На фиг. 1 показана XRPD (порошковая рентгеновская дифрактограмма), характерная для соли из примера 14.

На фиг. 2 показана XRPD, характерная для соли из примера 15.

На фиг. 3 показана XRPD, характерная для соли из примера 16.

На фиг. 4А показана DSC (дифференциальная сканирующая калориметрия) термограмма, характерная для соли из примера 17.

На фиг. 4В показаны данные TGA (термовесовой анализ), характерные для соли из примера 17.

На фиг. 4С показана XRPD, характерная для соли из примера 17.

На фиг. 5А показана DSC термограмма, характерная для соли из примера.

На фиг. 5В показаны данные TGA, характерные для соли из примера.

На фиг. 5С показана XRPD, характерная для соли из примера.

На фиг. 6 показана XRPD, характерная для соли из примера.

На фиг. 7А показана DSC термограмма, характерная для соли из примера.

На фиг. 7В показаны данные TGA, характерные для соли из примера.

На фиг. 7С показана XRPD, характерная для соли из примера.

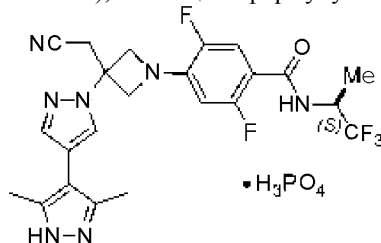
На фиг. 8А показана DSC термограмма, характерная для соли из примера.

На фиг. 8В показана XRPD, характерная для соли из примера.

На фиг. 9 показана XRPD, характерная для соли из примера.

Подробное описание изобретения

В настоящем изобретении предложено, среди прочего, твердая форма фосфата 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (фосфат соединения 1), имеющего формулу



где твердая форма является кристаллической, имеющей по меньшей мере два пика XRPD в единицах 2-тета, выбранных из $6,8 \pm 0,2$, $16,5 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$ и $23,6 \pm 0,2^\circ$.

В некоторых вариантах реализации твердая форма представляет собой соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (соединение 1) и фосфорной кислоты со стехиометрическим соотношением 1:1.

В некоторых вариантах реализации указанная твердая форма имеет по меньшей мере три пика XRPD в единицах 2-тета, выбранных из $6,8 \pm 0,2$, $16,5 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$ и $23,6 \pm 0,2^\circ$.

В некоторых вариантах реализации указанная твердая форма дополнительно имеет по меньшей мере один пик XRPD в единицах 2-тета, выбранных из $11,7 \pm 0,2$, $13,5 \pm 0,2$, $15,9 \pm 0,2$, $18,4 \pm 0,2$ и $19,8 \pm 0,2^\circ$.

В некоторых вариантах реализации указанная твердая форма дополнительно имеет по меньшей ме-

ре два пика XRPD в единицах 2-тета, выбранных из $11,7\pm 0,2$, $13,5\pm 0,2$, $15,9\pm 0,2$, $18,4\pm 0,2$ и $19,8\pm 0,2^\circ$.

В некоторых вариантах реализации указанная твердая форма дополнительно имеет по меньшей мере три пика XRPD в единицах 2-тета, выбранных из $11,7\pm 0,2$, $13,5\pm 0,2$, $15,9\pm 0,2$, $18,4\pm 0,2$ и $19,8\pm 0,2^\circ$.

В некоторых вариантах реализации указанная твердая форма дополнительно имеет по меньшей мере четыре пика XRPD в единицах 2-тета, выбранных из $11,7\pm 0,2$, $13,5\pm 0,2$, $15,9\pm 0,2$, $18,4\pm 0,2$ и $19,8\pm 0,2^\circ$.

В некоторых вариантах реализации указанная твердая форма имеет XRPD-профиль, показанный на фиг. 4С.

В некоторых вариантах реализации указанная твердая форма характеризуется DSC-термограммой, имеющей эндотермический пик при $228\pm 3^\circ\text{C}$.

В некоторых вариантах реализации эндотермический пик имеет начало при $224\pm 3^\circ\text{C}$.

В некоторых вариантах реализации указанная твердая форма имеет DSC-термограмму, показанную на фиг. 4А.

В некоторых вариантах реализации указанная твердая форма имеет DSC-термограмму, показанную на фиг. 4В.

В некоторых вариантах реализации указанная соль представляет собой соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты. В некоторых вариантах реализации указанная соль представляет собой соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты со стехиометрическим соотношением 1:1. В некоторых вариантах реализации указанная соль является кристаллической. В некоторых вариантах реализации указанная соль по существу выделена. В некоторых вариантах реализации указанная соль представляет собой соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и хлористоводородной кислоты.

В некоторых вариантах реализации указанная соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты характеризуется при помощи DSC-термограммы, имеющей эндотермический пик при примерно 228°C . В некоторых вариантах реализации указанная соль фосфорной кислоты имеет DSC-термограмму, по существу представленную на фиг. 4А. В некоторых вариантах реализации указанная соль фосфорной кислоты имеет по меньшей мере один пик XRPD в единицах 2-тета, выбранный из примерно $6,8^\circ$, примерно $16,5^\circ$, примерно $19,8^\circ$, примерно $20,7^\circ$ и примерно $23,6^\circ$. В некоторых вариантах реализации указанная соль фосфорной кислоты имеет по меньшей мере два пика XRPD в единицах 2-тета, выбранных из примерно $6,8^\circ$, примерно $16,5^\circ$, примерно $19,8^\circ$, примерно $20,7^\circ$ и примерно $23,6^\circ$. В некоторых вариантах реализации указанная соль фосфорной кислоты имеет по меньшей мере три пика XRPD в единицах 2-тета, выбранных из примерно $6,8^\circ$, примерно $16,5^\circ$, примерно $19,8^\circ$, примерно $20,7^\circ$ и примерно $23,6^\circ$. В некоторых вариантах реализации указанная соль фосфорной кислоты имеет по меньшей мере четыре пика XRPD в единицах 2-тета, выбранных из примерно $6,8^\circ$, примерно $16,5^\circ$, примерно $19,8^\circ$, примерно $20,7^\circ$ и примерно $23,6^\circ$. В некоторых вариантах реализации указанная соль фосфорной кислоты имеет XRPD-профиль, по существу показанный на фиг. 4С.

Различные кристаллические формы могут иметь различные кристаллические решетки (например, элементарные ячейки) и, как правило, в результате имеют различные физические свойства. Различные формы соли могут быть определены при помощи способов определения характеристик твердого вещества, таких как рентгеновская порошковая дифракция (XRPD). Другие способы определения характеристик, такие как дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC), термогравиметрический анализ (TGA), динамическая сорбция пара (DVS) и другие, помогают дополнительно идентифицировать форму, а также определить стабильность и состав растворителя/воды.

Паттерн отражения (пики) XRPD обычно считается характерным признаком конкретной кристаллической формы. Хорошо известно, что относительные интенсивности пиков XRPD могут сильно варьировать в зависимости от среди прочего методов подготовки образцов, распределения кристаллов по размерам, различных используемых фильтров, процедуры установки образца и конкретного использованного прибора. В некоторых случаях в зависимости от типа или настроек прибора могут наблюдаться новые пики или исчезать существующие пики. Используемый в настоящей заявке термин "пик" относится к отражению, имеющему относительную высоту/интенсивность, составляющую по меньшей мере примерно 4% интенсивности/высоты максимального пика. Кроме того, вариации прибора и другие факторы могут влиять на значения 2-тета. Таким образом, распределение пиков, такое как описано в настоящей заявке, может варьировать в пределах плюс или минус примерно $0,2^\circ$ (2-тета) и предполагается, что термин "по существу" и "примерно", используемый в контексте XRPD в данной заявке, охватывает приведенные выше вариации.

Таким образом, данные температуры в привязке к DSC, TGA или другим температурным экспериментам могут варьировать в пределах $\pm 3^\circ\text{C}$ в зависимости от прибора, конкретных настроек, подготовки образца и т.д. Соответственно кристаллические формы, представленные в настоящей заявке, имеют DSC-

термограмму, "по существу" показанную на любой из фигур, или понимают, что термин "примерно" включает такую вариацию.

В некоторых вариантах реализации указанные соли, описанные в настоящей заявке, по существу выделены. Под термином "выделены по существу" понимают, что соединение по меньшей мере частично или по существу отделено от среды, в которой его получили или обнаружили. Частично разделенная форма может включать, например, композицию, обогащенную солями, описанными в настоящей заявке. Разделенные по существу формы могут включать композиции, содержащие по меньшей мере примерно 50%, по меньшей мере примерно 60%, по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 97% или по меньшей мере примерно 99% по массе солей, описанных в настоящей заявке, или их солей. Способы выделения соединений и их солей широко известны в данной области техники.

Следует понимать, что определенные отличительные признаки изобретения, которые для большей ясности описаны в контексте отдельных вариантов реализации, также могут быть предложены в виде комбинации в одном варианте реализации (несмотря на это предполагается, что варианты реализации могут быть объединены, как если бы они были описаны в виде множественно зависимых форм). И наоборот различные отличительные признаки изобретения, которые для краткости описаны в контексте одного варианта реализации, также могут быть предложены по отдельности или в любой подходящей подкомбинации.

В некоторых вариантах реализации соединения согласно настоящему изобретению или их соли по существу выделены. Под "выделены по существу" понимают, что соединение по меньшей мере частично или по существу отделено от среды, в которой его получили или обнаружили. Частично разделенная форма может включать, например, композицию, обогащенную соединениями согласно настоящему изобретению. По существу разделенные формы могут включать композиции, содержащие по меньшей мере примерно 50%, по меньшей мере примерно 60%, по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 80%, по меньшей мере примерно 90%, по меньшей мере примерно 95%, по меньшей мере примерно 97% или по меньшей мере примерно 99% по массе соединений согласно настоящему изобретению или их солей. Способы выделения соединений и их солей широко известны в данной области техники.

Выражения "температура окружающей среды" и "комнатная температура", используемые в настоящей заявке, являются общепринятыми в данной области техники и относятся в целом к температуре, например к температуре взаимодействия, примерно равной температуре в помещении, в котором проводят реакцию, например к температуре от примерно 20°C до примерно 30°C.

В настоящей заявке также предложен способ получения соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты, включающий взаимодействие 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида с фосфорной кислотой в компоненте-растворителе, содержащем метанол и изопропанол, при температуре от примерно 40°C до примерно 70°C с получением смеси, включающей соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты. В некоторых вариантах реализации указанный способ дополнительно включает добавление к указанной смеси н-гептана при температуре от примерно 40°C до примерно 70°C с образованием второй смеси. В некоторых вариантах реализации взаимодействие осуществляют при температуре от примерно 45°C до примерно 55°C. В некоторых вариантах реализации взаимодействие осуществляют при температуре примерно 50°C.

В некоторых вариантах реализации в настоящей заявке дополнительно предложен способ получения соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты, включающий

(а) растворение соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты в метаноле при температуре от примерно 40°C до примерно 70°C с образованием первой смеси;

(b) добавление н-гептана к первой смеси при температуре от примерно 40°C до примерно 70°C с образованием второй смеси; и

(с) охлаждение второй смеси с получением соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты.

В некоторых вариантах реализации указанный способ согласно предшествующему варианту реализации дополнительно включает дистилляцию по меньшей мере части метанола из первой смеси перед стадией (b). В некоторых вариантах реализации указанный способ согласно предшествующему варианту реализации дополнительно включает дистилляцию по меньшей мере части метанола и/или н-гептана из второй смеси перед стадией (с). В некоторых вариантах реализации стадии (а) и (b) проводят при температуре от примерно 45°C до примерно 55°C. В некоторых вариантах реализации стадии (а) и (b) проводят при температуре примерно 50°C.

Способы.

Твердая форма фосфата 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида согласно настоящему изобретению является селективными ингибиторами JAK1. Селективный ингибитор JAK1 ингибирует активность предпочтительно JAK1 по сравнению с другими янус-киназами. Например, указанная твердая форма согласно настоящему изобретению предпочтительно ингибирует JAK1 по сравнению с одной или более из JAK2, JAK3 и TYK2. В некоторых вариантах реализации указанные твердые формы являются примерно в 10 раз более селективными по отношению к JAK1, чем к JAK2. В некоторых вариантах реализации указанные твердые формы являются примерно в 3 раза, примерно в 5 раз, примерно в 10 раз, примерно в 15 раз или примерно в 20 раз более селективными по отношению к JAK1, чем к JAK2, что вычислено путем измерения IC_{50} при 1 мМ АТР (например, см. пример А).

JAK1 играет главную роль в ряде сигнальных путей цитокинов и факторов роста, которые при нарушении регуляции могут способствовать или приводить к болезненным состояниям. Например, уровни IL-6 повышены при ревматоидном артрите - заболевании, при котором, как предполагается, это оказывает отрицательное воздействие (Fonesca J.E. и др., *Autoimmunity Reviews*, 8:538-42, 2009). Поскольку по меньшей мере часть сигналинга IL-6 осуществляется через JAK1, ожидается, что прямое или не прямое противодействие IL-6 посредством ингибирования JAK1 обеспечит положительный клинический результат (Guschin D.N. и др. *Embo J.* 14:1421, 1995; Smolen, J.S. и др., *Lancet*, 371:987, 2008). Кроме того, при некоторых раковых заболеваниях JAK1 мутирует, приводя к конститутивному нежелательному росту опухолевых клеток и их выживаемости (Mullighan C.G., *Proc Natl Acad Sci USA*, 106:9414-8, 2009; Flex E. и др., *J Exp Med*, 205:751-8, 2008). При других аутоиммунных заболеваниях и раковых заболеваниях повышенные системные уровни воспалительных цитокинов, которые активируют JAK1, могут также влиять на заболевание и/или связанные с ним симптомы. Таким образом, пациентам с такими заболеваниями может помочь ингибирование JAK1. Селективные ингибиторы JAK1 могут быть эффективными, не вызывая ненужных и потенциально нежелательных эффектов от ингибирования других JAK-киназ.

Селективные ингибиторы JAK1 относительно других JAK-киназ могут иметь ряд терапевтических преимуществ по сравнению с менее селективными ингибиторами. Касательно селективности в отношении JAK2 сигналинг ряда важных цитокинов и факторов роста осуществляется через JAK2, включая, например, эритропоэтин (Еро) и тромбопоэтин (Тро) (Parganas E. и др., *Cell*, 93:385-95, 1998). Еро представляет собой ключевой фактор роста при производстве красных кровяных клеток. Следовательно, недостаточность зависимого от Еро сигналинга может приводить к снижению числа красных кровяных клеток и анемии (Kaushansky K., *NEJM*, 354:2034-45, 2006). Тро, являющийся другим примером JAK2-зависимого фактора роста, играет главную роль в контроле пролиферации и созревания мегакариоцитов - клеток, из которых образуются тромбоциты (Kaushansky K., *NEJM*, 354:2034-45, 2006). Соответственно уменьшение сигналинга Тро уменьшит число мегакариоцитов (мегакариоцитопения) и снизит количество циркулирующих тромбоцитов (тромбоцитопения). Это может привести к нежелательному и/или неконтролируемому кровотечению. Снижение ингибирования других JAK, таких как JAK3 и TYK2, также может быть желательным, так как было показано, что люди, у которых отсутствует функциональная версия этих киназ, страдают от многочисленных заболеваний, таких как тяжелый комбинированный иммунодефицит или синдром гипериммунноглобулина Е (Minegishi Y. и др., *Immunity*, 25:745-55, 2006; Mochizuki P. и др., *Nature*, 377:65-8, 1995). Таким образом, ингибитор JAK1 с уменьшенной аффинностью к другим JAK будет иметь значительные преимущества перед менее селективным ингибитором в отношении уменьшения побочных эффектов, включающих подавление иммунитета, анемию и тромбоцитопению.

При использовании фармацевтические средства твердой формы согласно настоящему изобретению можно вводить в форме фармацевтических композиций. Указанные композиции можно получать при помощи способов, хорошо известных в области фармацевтики, и можно вводить различными путями в зависимости от необходимости местного или системного лечения и области, для которой требуется лечение. Введение может быть местным (включая чрескожное, эпидермальное, внутриглазное или введение на слизистые мембраны, включая интраназальную, внутривагинальную и ректальную доставку), внутрилегочным (например, путем ингаляции или инсуффляции порошков или аэрозолей, включая использование небулайзера; внутритрахеальное или интраназальное введение), пероральным или парентеральным. Парентеральное введение включает внутривенное, внутриартериальное, подкожное, интраперитонеальное, внутримышечное или инъекцию или инфузию; или интракраниальное, например интратекальное или внутрижелудочковое, введение. Парентеральное введение может представлять собой введение одной дозы в форме болюса или, например, введение с использованием насоса для непрерывной инфузии. Фармацевтические композиции и составы для местного применения могут включать чрескожные пластыри, мази, лосьоны, кремы, гели, капли, суппозитории, спреи, жидкости и порошки. Применение традиционных фармацевтических носителей, водных, порошковых или масляных основ, загустителей и т.д. может быть необходимым или желательным.

Далее изобретение будет более подробно описано при помощи конкретных примеров. Следующие примеры приведены в целях иллюстрации и не ограничивают изобретение каким-либо образом. Специалистам в данной области техники будут очевидны различные некритические параметры, которые можно

изменять или модифицировать для достижения по существу таких же результатов. Было обнаружено, что соединения, приведенные в примерах, являются ингибиторами JAK в соответствии с по меньшей мере одним анализом, описанным в настоящей заявке.

Примеры

Ниже приведены экспериментальные методики для соединений согласно настоящему изобретению. Очистка некоторых из полученных соединений была проведена при помощи ЖХ-МС со свободным доступом с использованием систем фракционирования с определением массовой концентрации Waters. Базовые настройки оборудования, протоколы и управляющее программное обеспечение для функционирования этих систем ранее были подробно описаны в литературе. См., например, "Two-Pump At Column Dilution Configuration for Preparative LC-MS", K. Blom, J. Combi. Chem., 4, 295 (2002); "Optimizing Preparative LC-MS Configurations and Methods for Parallel Synthesis Purification", K. Blom, R. Sparks, J. Doughty, G. Everlof, T. Haque, A. Combs, J. Combi. Chem., 5, 670 (2003); и "Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Combi. Chem., 6, 874-883 (2004). Разделенные соединения обычно подвергали жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ЖХМС) для очистки при следующих условиях: прибор - Agilent 1100 series, LC/MSD; колонка - Waters Sunfire™ C₁₈ 5 мкм, 2,1×5,0 мм; буферы - подвижная фаза А: 0,025% ТФУ в воде и подвижная фаза В: 0,025% ТФУ в ацетонитриле, градиент от 2 до 80% за 3 мин с расходом 1,5 мл/мин.

Некоторые из полученных соединений были также разделены в препаративном масштабе при помощи высокопроизводительной обращенно-фазной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ) с детектором МС или флэш-хроматографии (силикагель), как показано в примерах. Типичные характеристики препаративной колонки для высокопроизводительной обращенно-фазной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ):

pH 2, очистки: Waters Sunfire™ C₁₈ 5 мкм, колонка 19×100 мм, элюирование подвижной фазой А: 0,1% ТФУ (трифторуксусная кислота) в воде и подвижной фазой В: ацетонитрил; скорость потока составляла 30 мл/мин, разделительный градиент был оптимизирован для каждого соединения с использованием протокола соединение-специфической оптимизации способа (Compound Specific Method Optimization protocol), описанного в литературе [См. "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Comb. Chem., 6, 874-883 (2004)]; обычно с колонкой 30×100 мм использовали скорость потока 60 мл/мин;

pH 10, очистки: Waters XBrodge C₁₈ 5 мкм, колонка 19×100 мм, элюирование подвижной фазой А: 0,15% NH₄OH в воде и подвижной фазой В: ацетонитрил, скорость потока составляла 30 мл/мин, разделительный градиент был оптимизирован для каждого соединения с использованием протокола соединение-специфической оптимизации способа, описанного в литературе [См. "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Comb. Chem., 6, 874-883 (2004)]; обычно с колонкой 30×100 мм использовали скорость потока 60 мл/мин.

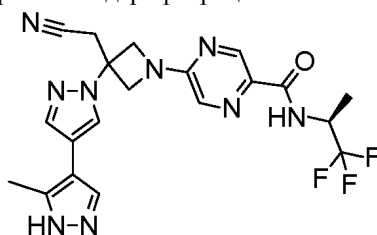
Некоторые из полученных соединений также анализировали при помощи дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC). Типичная конфигурация прибора для DSC: дифференциальный сканирующий калориметр фирмы TA Instruments, модель Q200 с автосэмплером. Основные условия: 30-350°C при 10°C/мин; Т нулевой алюминиевый тигель с образцом и крышка; поток газообразного азота 50 мл/мин.

Некоторые из полученных соединений также анализировали при помощи термогравиметрического анализа (TGA). Типичная конфигурация прибора для TGA указана ниже.

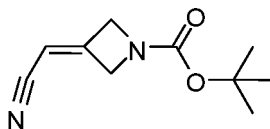
Термогравиметрический анализатор TA Instrument, модель Q500. Основные условия способа: нагрев от 20 до 600°C при 20°C/мин; продувка азотом, поток газа при 40 мл/мин достигается балансировкой потока продувки; продувка образца поток при 60 мл/мин; платиновый тигель с образцом.

Некоторые из полученных соединений также анализировали при помощи порошковой рентгеновской дифракции (XRPD). Типичная конфигурация прибора для XRPD: порошковый рентгеновский дифрактометр (XRPD) Rigaku MiniFlex. Общие экспериментальные методики: рентгеновское излучение меди при 1,054056 Å с K_β фильтром, мощность рентгеновского излучения 30 кВ, 15 мА; порошок образца рассеивается на держателе для образца с нулевым фоном. Основные условия измерения: начальный угол - 3°; конечный угол - 45°; отбор образца - 0,02°; скорость сканирования - 2°/мин.

Пример 1. 5-[3-(Цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамидтрифторацетат.

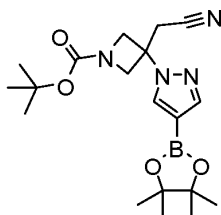


Стадия 1: трет-бутил-3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилат.



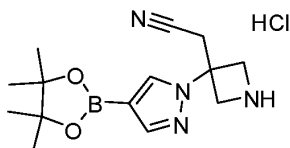
К раствору 1,0 М трет-бутоксиды калия в тетрагидрофуране (30,7 мл, 30,7 ммоль) при 0°C по каплям добавляли раствор диэтилцианометилфосфоната (5,20 мл, 32,2 ммоль) в тетрагидрофуране (39 мл). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, а затем снова охлаждали до 0°C. К указанной реакционной смеси добавляли раствор трет-бутил-3-оксазетидин-1-карбоксилата (5,0 г, 0,029 моль, производства Aldrich) в тетрагидрофуране (8 мл). Реакционную смесь оставляли для нагревания до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. После гашения водой указанную смесь экстрагировали этилацетатом (EtOAc). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, сушили над $MgSO_4$ и упаривали при пониженном давлении. Неочищенную смесь очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-70%) с получением целевого продукта (5,40 г, 95%). ЖХМС вычисляли для $C_{10}H_{14}N_2O_2Na$ ($M+Na$)⁺: $m/z=217,1$. Обнаружено: 217,1.

Стадия 2: трет-бутил-3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилат.



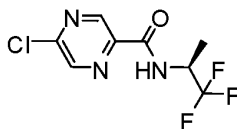
Смесь 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола (0,990 г, 5,10 ммоль), трет-бутил-3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилата (1,00 г, 5,15 ммоль) и 1,8-дизабицикло[5,4,0]ундец-7-ена (0,38 мл, 2,6 ммоль) в ацетонитриле (20 мл) нагревали до 60°C в течение 2 ч. После охлаждения растворитель удаляли под пониженным давлением. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-60%) с получением целевого продукта (1,68 г, 84,8%). ЖХМС вычисляли для $C_{15}H_{22}BN_4O_4$ ($M-55$)⁺: m/z . Обнаружено: 333,1.

Стадия 3: {3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила гидрохлорид.



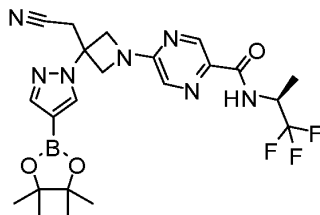
4,0 н. HCl в 1,4-диоксане (2,0 мл) добавляли к раствору трет-бутил-3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилата (1,68 г, 4,33 ммоль) в метиленхлориде (10 мл). Указанную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи и затем концентрировали при пониженном давлении с получением целевого продукта в виде соли HCl, которую непосредственно использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС вычисляли для $C_{14}H_{22}BN_4O_2$ ($M+1$)⁺: $m/z=289,2$. Обнаружено: 289,1.

Стадия 4: 5-хлор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид.



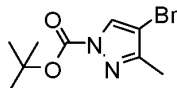
N,N-диизопропилэтиламин (1,3 мл, 7,5 ммоль) добавляли к смеси 5-хлорпиразин-2-карбоновой кислоты (0,40 г, 2,5 ммоль), гексафторфосфата N,N,N',N'-тетраметил-O-(7-азабензотриазол-1-ил)урония (1,0 г, 2,8 ммоль) и (2S)-1,1,1-трифторпропан-2-амин (0,28 г, 2,5 ммоль) в метиленхлориде (10 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь выделяли при помощи насыщенного водного $NaHCO_3$ и экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои промывали солевым раствором, сушили над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на колонке с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-15%) с получением целевого продукта (0,47 г, 73%). ЖХМС вычисляли для $C_8H_8ClF_3N_3O$ ($M+1$)⁺: $m/z=254,0$. Обнаружено: 253,9.

Стадия 5: 5-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид.



Смесь 5-хлор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид (254 мг, 1,00 ммоль), HCl соли {3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (325 мг, 1,00 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (401 мкл, 2,30 ммоль) в 1,4-диоксане (5,0 мл) нагревали до 100°C в течение 2 ч. После охлаждения смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексане (градиент: 20-80%) с получением целевого продукта (0,49 г, 97%). ЖХМС вычисляли для $C_{22}H_{28}BF_3N_7O_3$ (M+1)⁺: m/z=506,2. Обнаружено: 506,1.

Стадия 6: трет-бутил-4-бром-3-метил-1H-пиразол-1-карбоксилат.

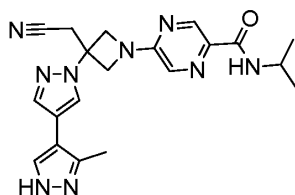


Смесь 4-бром-3-метил-1H-пиразола (0,2 г, 1 ммоль), ди-трет-бутилдикарбоната (0,30 г, 1,4 ммоль), 4-диметиламинопиридина (0,02 г, 0,1 ммоль) и триэтиламина (0,26 мл, 1,9 ммоль) в ацетонитриле (2 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали и очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-15%) с получением целевого продукта (0,32 г). ЖХМС вычисляли для $C_5H_6BrN_2O_2$ (M-55)⁺: m/z=205,0. Обнаружено: 204,9.

Стадия 7: 5-[3-(цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид трифторацетат.

Смесь 5-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид (27,0 мг, 0,0533 ммоль), трет-бутил-4-бром-3-метил-1H-пиразол-1-карбоксилата (15 мг, 0,059 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладия(0) (3,1 мг, 0,0027 ммоль) и карбоната натрия (17,0 мг, 0,160 ммоль) в 1,4-диоксане (1,6 мл) и воде (0,8 мл) перемешивали в атмосфере азота при 100°C в течение ночи. Реакционную смесь фильтровали и очищали при помощи обращенно-фазовой ВЭЖХ (при pH 2) с получением целевого продукта в виде соли ТФУ. ¹H ЯМР (300 МГц, CD₃OD) δ 8,73 (d, J=1,4 Гц, 1H), 8,18 (d, J=0,6 Гц, 1H), 7,98 (d, J=1,4 Гц, 1H), 7,91-7,79 (m, 2H), 4,84 (m, 1H), 4,81 (d, J=10,2 Гц, 2H), 4,60 (d, J=10,2 Гц, 2H), 3,59 (s, 2H), 2,44 (s, 3H), 1,43 (d, J=7,1 Гц, 3H) ppm. ЖХМС вычисляли для $C_{20}H_{21}F_3N_9O$ (M+1)⁺: m/z=460,2. Обнаружено: 460,0.

Пример 2. 5-[3-(Цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид трифторацетат.



Стадия 1: 5-хлор-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид.

N,N-диизопропилэтиламин (2,6 мл, 15 ммоль) добавляли к смеси 5-хлорпиразин-2-карбоновой кислоты (0,80 г, 5,0 ммоль), гексафторфосфата бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)фосфония (2,46 г, 5,56 ммоль) и 2-пропанамина (0,47 мл, 5,6 ммоль) в метиленхлориде (20 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь обрабатывали при помощи насыщенного водного NaHCO₃ и экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Осадок очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-15%) с получением целевого продукта. ЖХМС вычисляли для $C_8H_{11}ClN_3O$ (M+1)⁺: m/z=200,1. Обнаружено: 200,1.

Стадия 2: 5-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид.

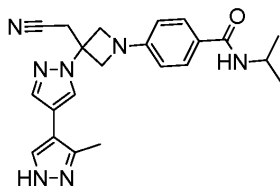
Смесь 5-хлор-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид (200 мг, 1,00 ммоль), HCl соли {3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (325 мг, 1,00 ммоль, пример 1, стадия 3) и N,N-диизопропилэтиламина (401 мкл, 2,30 ммоль) в 1,4-диоксане (5,0 мл) нагревали до 100°C в течение 2 ч. После охлаждения смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексане

(градиент: 20-80%) с получением целевого продукта (0,26 г, 58%). ЖХМС вычисляли для $C_{22}H_{31}BN_7O_3$ $(M+1)^+$: $m/z=452,3$. Обнаружено: 452,2.

Стадия 3: 5-[3-(цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид трифторацетат.

Смесь трет-бутил-4-бром-3-метил-1H-пиразол-1-карбоксилата (15,7 мг, 0,0600 ммоль), 5-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид (25,8 мг, 0,0571 ммоль), комплекса [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II) с дихлорметаном (1:1) (2,3 мг, 0,0028 ммоль) и фосфата калия (0,036 г, 0,17 ммоль) в диоксане (0,5 мл) и воде (0,2 мл) дегазировали и герметично закрывали. Указанную смесь нагревали до 110°C в течение 3 ч. После охлаждения смесь разбавляли метанолом, фильтровали и очищали при помощи обращенно-фазовой ВЭЖХ (при pH 2) с получением целевого продукта в виде соли ТФУ. ЖХМС вычисляли для $C_{20}H_{24}N_9O$ $(M+1)^+$: $m/z=406,2$. Обнаружено: 406,1.

Пример 3. 4-[3-(Цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилбензамида трифторацетат.



Стадия 1: этил-4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)бензоат.

Смесь этил-4-фторбензоата (0,841 г, 5,00 ммоль, производства Aldrich), азетидин-3-олгидрохлорида (0,438 г, 4,00 ммоль, производства Aldrich) и карбоната калия (1,38 г, 9,98 ммоль) в диметилсульфоксиде (4 мл) нагревали до 180°C в течение 2 ч. После охлаждения указанную смесь разбавляли этилацетатом (50 мл), и промывали водой и соевым раствором. Органический слой сушили над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали под пониженным давлением. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на колонке с силикагелем, элюруя этилацетатом в гексане (0-50%) с получением целевого продукта (0,643, 72,6%). ЖХМС вычисляли для $C_{12}H_{16}NO_3$ $(M+1)^+$: $m/z=222,1$. Обнаружено: 222,1.

Стадия 2: 4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)бензойная кислота.

Смесь 1-[4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)фенил]-2-метоксиэтанола (1,33 г, 6,00 ммоль) и моногидрата гидроксида лития (504 мг, 12,0 ммоль) в воде (4 мл), метаноле (3 мл) и ТГФ (6 мл) перемешивали при 40°C в течение ночи. Указанную смесь нейтрализовали при помощи водного раствора 3 н. HCl (~4 мл) до pH примерно 7, экстрагировали при помощи этилацетата. Объединенные органические слои сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением указанного неочищенного продукта (1,10 г, 94,9%), который напрямую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС вычисляли для $C_{10}H_{12}NO_3$ $(M+1)^+$: $m/z=194,1$. Обнаружено: 194,1.

Стадия 3: 4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)-N-изопропилбензамид.

Бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)фосфония гексафторфосфат (4,64 г, 10,5 ммоль, производства Aldrich) добавляли к смеси 4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)бензойной кислоты (1,93 г, 10,0 ммоль), 2-пропанамина (4,26 мл, 50,0 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (3,88 г, 30,0 ммоль) в дихлорметиле (10 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и разбавляли дихлорметаном. Смесь промывали водным $NaHCO_3$ и соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали под пониженным давлением. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексане (градиент: 0-50%) с получением целевого продукта (2,21 г, 94,3%). ЖХМС вычисляли для $C_{13}H_{19}N_2O_2$ $(M+1)^+$: $m/z=235,1$. Обнаружено: 235,1.

Стадия 4: N-изопропил-4-(3-оксоазетидин-1-ил)бензамид.

К охлажденному (-78°C) раствору оксалилхлорида (1,05 мл, 12,4 ммоль) в дихлорметиле (20 мл) по каплям добавляли диметилсульфоксид (1,71 мл, 24,1 ммоль). Указанную смесь перемешивали 10 мин при -78°C. Затем добавляли суспензию 4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)-N-изопропилбензамида (1,72 г, 7,34 ммоль) в дихлорметиле (20 мл). Полученную смесь перемешивали при -78°C в течение 1 ч и затем добавляли триэтиламин (7,04 мл, 50,5 ммоль). Указанную смесь перемешивали дополнительные 1,5 ч при -78°C. Полученную смесь промывали водн. $NaHCO_3$ и соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали под пониженным давлением. Осадки промывали эфиром и собирали путем фильтрации с получением целевого продукта (1,32 г, 77%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС вычисляли для $C_{13}H_{17}N_2O_2$ $(M+1)^+$: $m/z=233,1$. Обнаружено: 233,1.

Стадия 5: 4-[3-(цианометил)азетидин-1-ил]-N-изопропилбензамид.

К охлажденному (до -6-0°C) раствору 1,0 М трет-бутоксид калия в тетрагидрофуране (7,10 мл, 7,10 ммоль) добавляли по каплям раствор диэтилцианометилфосфоната (1,20 мл, 7,43 ммоль, производства Aldrich) в тетрагидрофуране (10 мл) в течение 10 мин периода и при от -6 до 0°C. Указанную смесь нагревали и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь вновь охлаждали до -6°C. Затем к указанной реакционной смеси добавляли раствор N-изопропил-4-(3-оксоазетидин-

1-ил)бензамида (1,30 г, 5,60 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) в течение периода 10 мин. На протяжении указанного времени температура указанной реакционной смеси составляла от -5 до 0°C. Реакционную смесь оставляли для нагревания до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч. Реакционную смесь фильтровали через слой силикагеля и промывали этилацетатом. Фильтрат концентрировали и обрабатывали осадок эфиром. Сформировавшиеся осадки собирали при помощи фильтрации с получением 0,60 г целевого продукта. Маточную жидкость концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексане (градиент: 30-80%) с получением целевого продукта (0,21 г). Общий выход составлял 0,81 г (57%). ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 7,91 (d, J=7,8 Гц, 1H), 7,74 (d, J=8,7 Гц, 2H), 6,53 (d, J=8,7 Гц, 2H), 5,88 (p, J=2,3 Гц, 1H), 4,77-4,67 (m, 2H), 4,62 (dt, J=5,1, 2,6 Гц, 2H), 4,06 (m, 1H), 1,12 (d, J=6,6 Гц, 6H) ppm. ЖХМС вычисляли для C₁₅H₁₈N₃O (M+1)⁺: m/z=256,1. Обнаружено: 256,1.

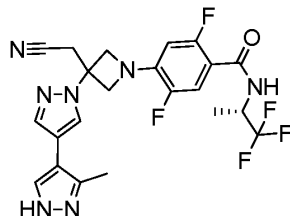
Стадия 6: 4-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилбензамид.

Смесь 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола (2,98 г, 15,3 ммоль), 4-[3-(цианометил)азетидин-1-ил]-N-изопропилбензамида (4,00 г, 15,7 ммоль) и 1,8-дизабицикло[5.4.0]ундец-7-ена (1,17 г, 7,68 ммоль) в изопропиловом спирте (10 мл) нагревали до 70°C в течение 1 ч. Смесь охлаждали до 35°C. К суспензии добавляли 30 мл метил-трет-бутилового эфира (МТБЕ) и перемешивали при комнатной температуре 1 ч. Сформировавшиеся осадки собирали при помощи фильтрации, промывали МТБЕ и высушивали при пониженном давлении с получением целевого продукта (6,2 г, 89,8%). ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,35 (s, 1H), 7,90 (d, J=7,8 Гц, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,73 (d, J=8,7 Гц, 2H), 6,52 (d, J=8,7 Гц, 2H), 4,40 (d, J=8,6 Гц, 2H), 4,20 (d, J=8,6 Гц, 2H), 4,05 (m, 1H), 3,65 (s, 2H), 1,24 (s, 12H), 1,12 (d, J=6,6 Гц, 6H) ppm. ЖХМС вычисляли для C₂₄H₃₃BN₅O₃ (M+1)⁺: m/z=450,3. Обнаружено: 450,3.

Стадия 7: 4-[3-(цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилбензамида трифторацетат.

Смесь трет-бутил-4-бром-3-метил-1H-пиразол-1-карбоксилата (15,7 мг, 0,0600 ммоль), 4-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилбензамида (25,7 мг, 0,0571 ммоль), фосфата калия (36,4 мг, 0,171 ммоль) и комплекса [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II) с дихлорметаном (1:1) (2,33 мг, 0,00286 ммоль) в диоксане (0,5 мл) и воде (0,2 мл) дегазировали и герметично запечатывали. Указанную смесь нагревали до 110°C в течение 3 ч. После охлаждения смесь разбавляли метанолом, фильтровали и очищали при помощи обращенно-фазовой ВЭЖХ (при pH 2) с получением целевого продукта в виде соли ТФУ. ЖХМС вычисляли для C₂₂H₂₆N₇O (M+1)⁺: m/z=404,2. Обнаружено: 404,1.

Пример 4. 4-[3-(Цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил) азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида трифторацетат.



Стадия 1: 2,4,5-трифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.

К раствору 2,4,5-трифторбензойной кислоты (5,00 г, 28,4 ммоль) в ацетонитриле (50 мл) добавляли N,N-диметилформамид (40 мкл) с последующим добавлением оксалилхлорида (3,60 мл, 42,6 ммоль). Через 90 мин удаляли летучие вещества при пониженном давлении. Осадок упаривали с ацетонитрилом (50 мл). Затем осадок растворяли в метиленхлориде (50 мл). Этот раствор добавляли по каплям в охлажденную (ледяная баня) смесь гидрохлорида (2S)-1,1,1-трифторпропан-2-амин (5,52 г, 36,9 ммоль) (производства Synquest, 98% ee) в толуоле (100 мл) и 0,5 М водном растворе гидроксида натрия (142 мл, 71,0 ммоль). После завершения добавления ледяную баню удаляли, и позволяли реакционной смеси нагреться до комнатной температуры. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи. Органический слой отделяли. Водный слой экстрагировали метиленхлоридом (50 мл). Объединенные органические слои промывали 20% соевым раствором (75 мл) и водой (2x75 мл), сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением указанного целевого продукта (6,49 г, 84%), который напрямую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 9,01 (d, J=7,6 Гц, 1H), 7,92-7,50 (m, 2H), 4,76 (m, 1H), 1,31 (d, J=7,0 Гц, 3H) ppm. ЖХМС вычисляли для C₁₀H₈F₆NO (M+1)⁺: m/z=272,0. Обнаружено: 272,0.

Стадия 2: 2,5-дифтор-4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.

Смесь 2,4,5-трифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (6,39 г, 23,6 ммоль), азетидин-3-олгидрохлорида (3,19 г, 28,3 ммоль) и 1,8-дизабицикло[5.4.0]ундец-7-ена (8,81 мл, 58,9 ммоль) в ацетонитриле (25 мл) перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Указанную реакционную смесь разбавляли EtOAc (75 мл) и промывали 1 н. HCl (50 мл), 1H NaHCO₃ (60 мл), 20% соевым раствором (50 мл) и водой (75 мл).

Водные слои подвергали экстракции посредством EtOAc (100 мл). Органические слои объединяли, сушили над MgSO_4 , фильтровали при пониженном давлении с получением целевого продукта (7,59 г, 91,8%). ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 8,38 (dd, $J=8,9$, 1,9 Гц, 1H), 7,27 (dd, $J=12,8$, 6,5 Гц, 1H), 6,38 (dd, $J=12,3$, 7,5 Гц, 1H), 5,71 (d, $J=6,4$ Гц, 1H), 4,74 (dp, $J=15,3$, 7,6 Гц, 1H), 4,62-4,46 (m, 1H), 4,30-4,15 (m, 2H), 3,71 (m, 2H), 1,29 (d, $J=7,1$ Гц, 3H) ppm. ЖХМС вычисляли для $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{F}_5\text{N}_2\text{O}_2$ ($\text{M}+1$) $^+$: $m/z=325,1$. Обнаружено: 325,1.

Стадия 3: 2,5-дифтор-4-(3-оксоазетидин-1-ил)-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.

К раствору 2,5-дифтор-4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (7,57 г, 23,3 ммоль) в метиленхлориде (93 мл) добавляли диацетат йодбензола (9,40 г, 29,2 ммоль) и свободный радикал 2,2,6,6-тетраметил-1-пиперидинилокси (1,82 г, 11,7 ммоль) (ТЕМПО) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Указанную смесь разбавляли EtOAc (100 мл), промывали 0,5 н. NaHCO_3 (2 $\times$ 80 мл), 20% соевым раствором (100 мл) и водой (100 мл). Водные слои экстрагировали этилацетатом (75 мл). Органические экстракты объединяли, сушили над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали под пониженным давлением. Осадок очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя от 0 к 5% этилацетата в метиленхлориде с получением неочищенного продукта, который перекристаллизовывали из МТВЕ (50 мл) и гептана (100 мл) с получением целевого продукта (5,44 г, 72%) в виде бесцветного твердого вещества. ^1H ЯМР (300 МГц, DMSO-d_6) δ 8,52 (d, $J=8,0$ Гц, 1H), 7,36 (dd, $J=12,5$, 6,5 Гц, 1H), 6,63 (dd, $J=12,1$, 7,6 Гц, 1H), 4,90 (d, $J=2,1$ Гц, 4H), 4,86-4,68 (m, 1H), 1,31 (d, $J=7,1$ Гц, 3H) ppm. ЖХМС вычисляли для $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{F}_5\text{N}_2\text{O}_2$ ($\text{M}+1$) $^+$: $m/z=323,1$. Обнаружено: 323,0.

Стадия 4: 4-[3-(цианометил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.

Диэтилцианометилфосфонат (1,95 мл, 11,8 ммоль) по каплям добавляли к охлажденному (ледяная баня) раствору 1,0 М трет-бутоксид калия в ТГФ (11,8 мл, 11,8 ммоль), который разбавляли тетрагидрофураном (12 мл). Баню удаляли и нагревали реакционную смесь до комнатной температуры и перемешивали в течение 90 мин. Раствор реакционной смеси вновь охлаждали при помощи ледяной бани. Затем полученный выше раствор добавляли в течение 12 мин к охлажденному (ледяная баня) раствору 2,5-дифтор-4-(3-оксоазетидин-1-ил)-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (4,00 г, 12,4 ммоль) в тетрагидрофуране (50 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин. Ледяную баню удаляли и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, затем гасили добавлением 20% солевого раствора (75 мл) и этилацетата (75 мл). Органический слой отделяли. Водный слой экстрагировали этилацетатом (50 мл). Объединенные органические слои сушили над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-30%) с получением целевого продукта (2,6 г). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 8,59-8,37 (m, 1H), 7,33 (dd, $J=12,5$, 6,4 Гц, 1H), 6,59 (dd, $J=12,0$, 7,4 Гц, 1H), 5,88 (m, 1H), 4,94-4,75 (m, 4H), 4,76 (m, 1H), 1,31 (d, $J=7,1$ Гц, 3H) ppm. ЖХМС вычисляли для $\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{F}_5\text{N}_3\text{O}$ ($\text{M}+1$) $^+$: $m/z=346,1$. Обнаружено: 346,1.

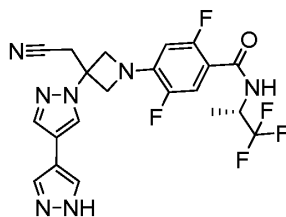
Стадия 5: 4-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.

Смесь 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола (1,00 г, 5,15 ммоль), 4-[3-(цианометил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (1,78 г, 5,15 ммоль) и 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена (0,31 мл, 2,1 ммоль) в ацетонитриле (20,2 мл) нагревали до 50°C в течение ночи. После охлаждения растворитель удаляли под пониженным давлением. Полученный осадок использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС вычисляли для $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{BF}_5\text{N}_5\text{O}_3$ ($\text{M}+1$) $^+$: $m/z=540,2$. Обнаружено: 540,1.

Стадия 6: 4-[3-(цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида трифторацетат.

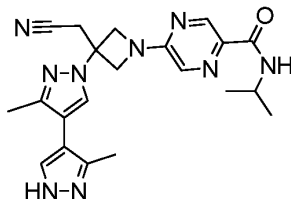
Смесь 4-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (28,8 мг, 0,0533 ммоль), трет-бутил-4-бром-5-метил-1H-пиразол-1-карбоксилата (15 мг, 0,059 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладия(0) (3,1 мг, 0,0027 ммоль) и карбоната натрия (17,0 мг, 0,160 ммоль) в 1,4-диоксане (1,6 мл) и воде (0,8 мл) перемешивали в атмосфере азота в течение ночи при 100°C. Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи обращенно-фазовой ВЭЖХ (при pH 2) с получением целевого продукта в виде соли ТФУ. ЖХМС вычисляли для $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{F}_5\text{N}_7\text{O}$ ($\text{M}+1$) $^+$: $m/z=494,2$. Обнаружено: 494,0.

Пример 5. 4-[3-(1H,1'H-4,4'-Бипиразол-1-ил)-3-(цианометил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида трифторацетат.



Указанное соединение получали при помощи способов, аналогичных тем, что описаны в примере 4, стадия 6, начиная с 4-бром-1H-пиразола и 4-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида. ЖХМС вычисляли для $C_{21}H_{19}F_5N_7O$ ($M+1$)⁺: $m/z=480,2$. Обнаружено: 480,0.

Пример 6. 5-[3-(Цианометил)-3-(3,3'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида трифторацетат.



Стадия 1: трет-бутил-3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилат.

Смесь 3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола (1,06 г, 5,10 ммоль), трет-бутил-3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилата (1,00 г, 5,15 ммоль) и 1,8-дизабицикло[5.4.0]ундец-7-ена (0,38 мл, 2,6 ммоль) в ацетонитриле (20 мл) нагревали до 60°C в течение 2 ч. После охлаждения растворитель удаляли под пониженным давлением. Осадок очищали при помощи флэш-хроматографии на колонке с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-60%) с получением целевого продукта. ЖХМС вычисляли для $C_{16}H_{24}BN_4O_4$ ($M-55$)⁺: $m/z=347,2$. Обнаружено: 347,1.

Стадия 2: {3-[3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила гидрохлорид 4,0 н. HCl в диоксане (3 мл) добавляли к раствору трет-бутил-3-(цианометил)-3-[3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилата в метиленхлориде (10 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Смесь концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта в виде HCl соли. ЖХМС вычисляли для $C_{15}H_{24}BN_4O_2$ ($M+1$)⁺: $m/z=303,2$. Обнаружено: 303,1.

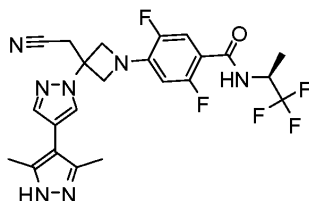
Стадия 3: 5-{3-(цианометил)-3-[3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида.

Смесь HCl соли {3-[3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (0,43 г, 1,3 ммоль), 5-хлор-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида (0,24 г, 1,2 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (0,63 мл, 3,6 ммоль) в трет-бутиловом спирте (12 мл, 120 ммоль) нагревали при 100°C в течение 4 ч. После охлаждения растворитель удаляли под пониженным давлением. Осадок очищали при помощи флэш-хроматографии на колонке с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-60%) с получением целевого продукта. ЖХМС вычисляли для $C_{23}H_{33}BN_7O_3$ ($M+1$)⁺: $m/z=466,3$. Обнаружено: 466,2.

Стадия 4: 5-[3-(цианометил)-3-(3,3'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида трифторацетат.

Указанное соединение получали при помощи способов, аналогичных тем, что описаны в примере 4, стадия 6, начиная с 4-бром-3-метил-1H-пиразола и 5-{3-(цианометил)-3-[3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида. ЖХМС вычисляли для $C_{21}H_{26}N_9O$ ($M+1$)⁺: $m/z=420,2$. Обнаружено: 420,1.

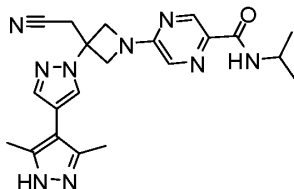
Пример 7. 4-[3-(Цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.



Смесь 4-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (329 мг, 0,610 ммоль, пример 4, стадия 5), 4-бром-3,5-диметил-1H-пиразола (206 мг, 1,18 ммоль), тетра-кис(трифенилфосфин)палладия(0) (110 мг, 0,098 ммоль) и карбоната натрия (320 мг, 3,0 ммоль) в

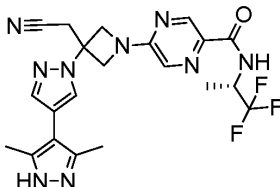
1,4-диоксане (10 мл)/вода (5 мл) продували азотом и перемешивали при 110°C в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли EtOAc, промывали водой и соевым раствором, концентрировали. Осадок сначала очищали при помощи силикагеля (элюирование 0-100% EtOAc/гексанами и затем 10% метанола/дихлорметана), и затем при помощи преп. ЖХМС (колонка XBridge C18, элюирование градиентом ацетонитрил/вода, содержащим 0,1% гидроксид аммония, при скорости потока 60 мл/мин) с получением целевого продукта (30 мг, 9,7%). ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 12,17 (1H, s), 8,45 (1H, d, $J=8,0$ Гц), 8,10 (1H, s), 7,70 (1H, s), 7,34 (1H, m), 6,61 (1H, s), 4,77 (1H, m), 4,62 (2H, d, $J=9,0$ Гц), 4,39 (1H, d, $J=9,0$ Гц), 3,64 (2H, s), 2,22 (6H, s), 1,31 (6H, d, $J=7,0$ Гц) ppm. ЖХМС вычисляли для $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{N}_7\text{O}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: $m/z=508,2$. Обнаружено: 508,0.

Пример 8. 5-[3-(Цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид.



Смесь 5-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид (256 мг, 0,567 ммоль, пример 2, стадия 2), 4-бром-3,5-диметил-1H-пиразола (119 мг, 0,681 ммоль), дициклогексил(2',4',6''-триизопропилбифенил-2-ил)фосфин-(2'-аминобифенил-2-ил)(хлор)палладия (1:1) (67 мг, 0,085 ммоль) и карбоната цезия (550 мг, 1,7 ммоль) в 1,4-диоксане (2 мл)/воде (1 мл) три раза продували азотом. Смесь нагревали до 53°C в течение 2 ч. Смесь разбавляли EtOAc, промывали соевым раствором, концентрировали. Полученный остаток сначала очищали при помощи силикагеля (элюирование 0-100% EtOAc/гексанов и затем 10% метанолом/дихлорметаном) и затем при помощи преп. ЖХМС (колонка XBridge C18, элюирование градиентом ацетонитрил/вода, содержащим 0,1% гидроксид аммония, со скоростью потока 60 мл/мин) с получением целевого продукта (0,1 г, 40%). ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO-d_6) δ 8,64 (1H, d, $J=1,5$ Гц), 8,12 (1H, s), 8,06 (1H, d, $J=8,0$ Гц), 7,96 (1H, d, $J=1,0$ Гц), 7,71 (1H, s), 4,72 (2H, d, $J=9,5$ Гц), 4,49 (1H, d, $J=9,5$ Гц), 4,08 (1H, m), 3,68 (2H, s), 2,22 (6H, s), 1,16 (6H, d, $J=6,5$ Гц) ppm. ЖХМС вычисляли для $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_9\text{O}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: $m/z=420,2$. Обнаружено: 420,0.

Пример 9. 5-[3-(Цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид трифторацетат.



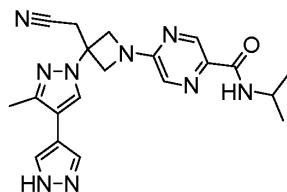
Стадия 1: [3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-3-ил]ацетонитрила гидрохлорид.

Смесь трет-бутил-3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилата (381 мг, 0,981 ммоль, пример 1, стадия 2), 4-бром-3,5-диметил-1H-пиразола (206 мг, 1,18 ммоль), тетраис(трифенилфосфин)палладия(0) (110 мг, 0,098 ммоль) и карбоната натрия (310 мг, 2,9 ммоль) в 1,4-диоксане (10 мл) и воде (5 мл) продували N_2 и перемешивали при 110°C в течение 2 ч. Реакционную смесь фильтровали, разбавляли EtOAc, затем промывали водой. Органический слой концентрировали и очищали на силикагеле (элюирование 0-100% EtOAc/гексаны, затем 0-10% MeOH/дихлорметан) с получением трет-бутил-3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-карбоксилата (90 мг, 26%). ЖХМС вычисляли для $\text{C}_{18}\text{H}_{25}\text{N}_6\text{O}_2$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: $m/z=357,2$. Обнаружено: 357,2. Указанное промежуточное соединение обрабатывали 4,0 М хлористым водородом в диоксане (1,2 мл, 4,9 ммоль) в метилхлориде (1 мл) при к.т. в течение 2 ч. Смесь концентрировали досуха с получением целевого продукта. ЖХМС вычисляли для $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_6$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: $m/z=257,1$. Обнаружено: 257,1.

Стадия 2: 5-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид трифторацетат.

Смесь [3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-3-ил]ацетонитрила гидрохлорида (13 мг, 0,039 ммоль), 5-хлор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразина-2-карбоксамид (11 мг, 0,043 ммоль, пример 1, стадия 4) и N,N-диизопропилэтиламина (28 мкл, 0,16 ммоль) в трет-бутиловом спирте (1 мл) нагревали до 100°C в течение 2 ч. После охлаждения смесь разбавляли MeOH и очищали при помощи преп. ЖХМС (при pH 2) с получением целевого продукта в виде соли ТФУ (4,1 мг, 22%). ЖХМС вычисляли для $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{N}_9\text{O}$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: $m/z=474,2$. Обнаружено: 474,0.

Пример 10. 5-[3-(Цианометил)-3-(3-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид трифторацетат.



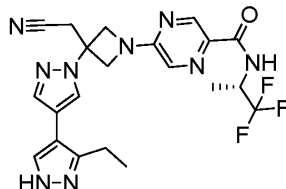
Стадия 1: трет-бутил-4-бром-1H-пиразол-1-карбоксилат.

Указанное соединение получали при помощи способов, аналогичных тем, что описаны в примере 1, стадия 6, начиная с 4-бром-1H-пиразола. ЖХМС вычисляли для $C_4H_4BrN_2O_2$ ($M+55$)⁺: $m/z=191,0$. Обнаружено: 190,9.

Стадия 2: 5-[3-(цианометил)-3-(3-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида трифторацетат.

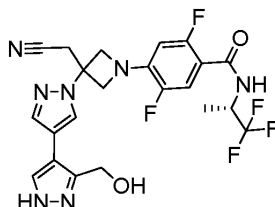
Указанное соединение получали в виде соли ТФУ при помощи способов, аналогичных тем, что описаны в примере 4, стадия 6, начиная с трет-бутил-4-бром-1H-пиразол-1-карбоксилата и 5-{3-(цианометил)-3-[3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида. ЖХМС вычисляли для $C_{20}H_{24}N_9O$ ($M+1$)⁺: $m/z=406,2$. Обнаружено: 406,1.

Пример 11. 5-[3-(Цианометил)-3-(3'-этил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамида трифторацетат.



Указанное соединение получали в виде соли ТФУ при помощи способов, аналогичных тем, что описаны в примере 4, стадия 6, начиная с 5-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамида (пример 1, стадия 5) и 4-бром-3-этил-1H-пиразола. ЖХМС вычисляли для $C_{21}H_{23}F_3N_9O$ ($M+1$)⁺: $m/z=474,2$. Обнаружено: 474,0.

Пример 12. 4-{3-(Цианометил)-3-[3'-(гидроксиметил)-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида трифторацетат.



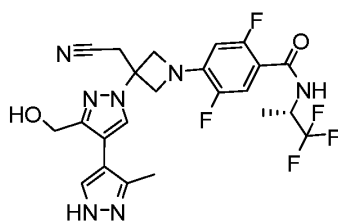
Стадия 1: (4-бром-1H-пиразол-5-ил)метанол.

Тетрагидроборат натрия (0,13 г, 3,4 ммоль) добавляли к раствору 4-бром-1H-пиразол-5-карбальдегида (0,30 г, 1,7 ммоль, производства Maybridge) в тетрагидрофуране (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 1 ч. Реакционную смесь гасили с помощью насыщенного водного $NaHCO_3$ и экстрагировали этилацетатом (3×20 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением указанного неочищенного продукта, который напрямую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС вычисляли для $C_4H_6BrN_2O$ ($M+1$)⁺: $m/z=177,0$. Обнаружено: 176,9.

Стадия 2: 4-{3-(цианометил)-3-[3'-(гидроксиметил)-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида трифторацетат.

Указанное соединение получали в виде соли ТФУ при помощи способов, аналогичных тем, что описаны в примере 4, стадия 6, начиная с 4-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и (4-бром-1H-пиразол-3-ил)метанола. ЖХМС вычисляли для $C_{22}H_{21}F_5N_7O_2$ ($M+1$)⁺: $m/z=510,2$. Обнаружено: 510,0.

Пример 13. 4-{3-(Цианометил)-3-[3-(гидроксиметил)-3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.



Стадия 1: этил-4-бром-1-{3-(цианометил)-1-[2,5-дифтор-4-({[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]амино} карбонил)фенил]азетидин-3-ил}-1H-пиразол-3-карбоксилат.

В пробирку для микроволнового реактора добавляли изопропиловый спирт (10 мл), этил 4-бром-1H-пиразол-3-карбоксилат (производства ChemBridge) (788 мг, 3,60 ммоль), 1,8-дизабицикло[5.4.0]ундец-7-ен (48,9 мкл, 0,327 ммоль) и 4-[3-(цианометил) азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид (пример 4, стадия 4, 1,13 г, 3,27 ммоль).

Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. После охлаждения до комнатной температуры, растворитель удаляли в вакууме. Осадок очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем (элюирование 0-35% этилацетатом в гексанах) с получением целевого продукта в виде белой пены. ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО) δ 8,61 (s, 1H), 8,47 (d, J=8,7 Гц, 1H), 7,34 (dd, J=12,5 и 6,3 Гц, 1H), 6,62 (dd, J=11,9 и 7,3 Гц, 1H), 4,76 (dt, J=15,5 и 7,8 Гц, 1H), 4,61 (d, J=9,2 Гц, 2H), 4,39 (d, J=8,0 Гц, 2H), 4,32 (q, J=7,1 Гц, 2H), 3,68 (s, 2H), 1,31 (m, 6H) ppm. ЖХМС вычисляли для C₂₁H₂₀BrF₅N₅O₃ (M+H)⁺: m/z=564,1. Обнаружено: 563,8.

Стадия 2: этил-1-{3-(цианометил)-1-[2,5-дифтор-4-({[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]амино} карбонил)фенил]азетидин-3-ил}-3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-3-карбоксилат.

В пробирку для микроволнового реактора помещали трет-бутиловый спирт (1,2 мл) и воду (1,2 мл), фторид цезия (683 мг, 4,50 ммоль), этил-4-бром-1-{3-(цианометил)-1-[2,5-дифтор-4-({[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]амино} карбонил)фенил]азетидин-3-ил}-1H-пиразол-3-карбоксилат (725 мг, 1,28 ммоль) и 3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол (401 мг, 1,93 ммоль), затем добавляли Pd-127 (49 мг, 0,064 ммоль) (производства Johnson Mathew). Реакционную смесь нагревали до 85°C в течение 48 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, затем разбавляли водой и этилацетатом. Полученный водный слой экстрагировали этилацетатом. Органический слой высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали. Полученный осадок очищали при помощи флэш-хроматографии (элюирование 30-100% этилацетатом в гексанах) с получением целевого продукта в виде масла. ЖХМС вычисляли для C₂₅H₂₅F₅N₇O₃ (M+H)⁺: m/z=566,2. Обнаружено: 566,0.

Стадия 3: 4-{3-(цианометил)-3-[3-(гидроксиметил)-3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.

К раствору этил-1-{3-(цианометил)-1-[2,5-дифтор-4-({[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]амино} карбонил)фенил]азетидин-3-ил}-3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-3-карбоксилата (35 мг, 0,062 ммоль) в ТГФ (0,5 мл) добавляли 2,0 М тетрагидроборат лития в ТГФ (0,12 мл, 0,25 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакцию медленно гасили водой. Водный слой экстрагировали этилацетатом. Органический слой концентрировали. Полученный осадок очищали при помощи преп. ЖХМС (колонка XBridge C18, элюировали с градиентом ацетонитрил/вода, содержащим 0,1% гидроксида аммония, при скорости потока 60 мл/мин) с получением целевого продукта. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,79-7,68 (m, 2H), 7,61 (s, 1H), 6,65 (m, 1H), 6,20 (m, 1H), 4,99-4,89 (m, 1H), 4,68 (s, 2H), 4,60 (d, J=8,5 Гц, 2H), 4,45 (dd, J=8,9 и 2,0 Гц, 2H), 3,38 (s, 2H), 2,34 (s, 3H), 1,41 (d, J=7,0 Гц, 3H). ЖХМС вычисляли для C₂₃H₂₃F₅N₇O₂ (M+H)⁺: m/z=524,2. Обнаружено: 524,0.

Пример 14. Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты (методика 1).

К 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамиду (24,8 мг, 0,0489 ммоль) добавляли этанол (0,3 мл) и полученную смесь перемешивали до образования прозрачного раствора. Добавляли фосфорную кислоту в изопропанол (0,064 мл, 1 М, 0,064 ммоль, 1,3 экв.) и полученную смесь перемешивали 2 мин с получением суспензии. Указанную суспензию затем перемешивали при комнатной температуре непрерывно в течение ночи. Указанную смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали метил-трет-бутиловым эфиром (МТБЕ). Указанный осадок на фильтре сушили на воздухе с получением указанной титульной соли (26,3 мг, 88,9%). Дифрактограмму рентгеновской порошковой дифракции (XRPD) определяли для соли фосфорной кислоты; она показана на фиг. 1. Перечень пиков 2-тета приведен в табл. 1 ниже.

Таблица 1

2-Тета	Высота	Н%
6,848	841	64,7
8,225	135	10,4
11,778	214	16,5
12,854	378	29,1
13,577	543	41,7
14,741	157	12,1
15,967	589	45,3
16,557	1061	81,6
17,425	216	16,6
18,021	299	23
19,907	1139	87,6
20,791	1300	100
21,267	248	19,1
22,556	168	12,9
23,77	949	73
24,667	716	55,1
25,698	913	70,2
26,159	434	33,4
27,392	140	10,8
28,647	199	15,3
29,667	251	19,3
30,411	333	25,6
31,213	141	10,9
32,115	84	6,5
32,893	170	13,1
33,572	109	8,4
34,449	108	8,3
35,264	82	6,3
35,741	78	6
36,709	170	13,1
37,381	103	7,9
38,828	63	4,9
39,443	117	9
40,559	88	6,8
41,227	88	6,8
43,396	61	4,7
44,1	90	6,9

Пример 15. Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты (методика 2).

К 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамиду (24,6 мг, 0,0485 ммоль) добавляли этанол (0,3 мл) и полученную смесь перемешивали до образования прозрачного раствора. Добавляли фосфорную кислоту в изопропанол (0,063 мл, 1 М, 0,063 ммоль, 1,3 экв.) и полученную смесь перемешивали в течение 2 ч с получением суспензии, которую затем непрерывно перемешивали в течение ночи. Указанную смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали метил-трет-бутиловым эфиром. Указанный осадок на фильтре сушили на воздухе с получением указанной титульной соли (26,27 мг, 89,5%). Дифрактограмма XRPD определена для соли фосфорной кислоты и показана на фиг. 2. Перечень пиков 2-тета приведен в табл. 2 ниже.

Таблица 2

2-Тета	Высота	H°
6,884	499	54,1
8,305	90	9,7
11,868	165	17,9
12,945	302	32,8
13,685	411	44,6
14,831	125	13,6
16,116	368	40
16,656	818	88,8
17,528	184	19,9
18,135	278	30,1
20,003	845	91,7
20,898	921	100
21,335	178	19,3
22,409	139	15,1
22,701	135	14,6
23,894	711	77,2
24,796	535	58,1
25,821	778	84,4
26,266	245	26,6
27,483	122	13,2
28,742	160	17,4
29,761	208	22,6
30,539	237	25,7
31,331	111	12
32,176	55	5,9
33,026	134	14,5
33,714	88	9,5
34,542	69	7,5
35,263	60	6,5
35,829	48	5,3
36,838	108	11,8
37,369	64	7
38,956	53	5,8
39,631	89	9,7
40,7	75	8,2
41,298	71	7,7
43,504	54	5,9
44,228	76	8,3

Пример 16. Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты (методика 3).

К 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамиду (98,93 мг, 0,195 ммоль) добавляли изопропанол (1,23 мл) и полученную смесь перемешивали до образования прозрачного раствора. Добавляли фосфорную кислоту в изопропанол (0,273 мл, 1 М, 0,273 ммоль, 1,4 экв.) и полученную смесь перемешивали 1 ч при 70°C с получением суспензии. Полученную суспензию охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Указанную смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали метил-трет-бутиловым эфиром. Указанный осадок на фильтре сушили на воздухе с получением указанной титульной соли

(109,1 мг, 92,4%). Дифрактограмма XRPD определена для соли фосфорной кислоты и показана на фиг. 3. Перечень пиков 2-тета приведен в табл. 3 ниже.

Таблица 3

2-Тета	Высота	Н%
6,856	1268	100
8,237	133	10,5
11,765	209	16,5
12,859	343	27
13,596	472	37,2
14,74	127	10
15,931	403	31,8
16,569	912	72
17,425	177	13,9
17,964	80	6,3
18,495	117	9,2
19,926	876	69
20,783	865	68,2
21,274	197	15,6
22,561	152	12
23,727	634	50
24,637	370	29,2
25,706	443	35
26,157	290	22,9
27,597	117	9,3
28,627	120	9,5
29,682	151	11,9
30,389	186	14,6
31,186	103	8,1
32,128	55	4,3
32,872	98	7,7
33,483	72	5,7
34,435	87	6,8
35,257	42	3,3
35,742	56	4,4
36,667	95	7,5
37,413	84	6,7
39,574	56	4,4
41,182	60	4,8
44,124	64	5

Пример 17. Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты (методика 4).

Стадия 1: соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты (неочищенная).

К прозрачному раствору 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (405,0 г, 798,1 ммоль) в метаноле (520,0 мл) и изопропанол (2550,0 мл) при 50°C добавляли водный раствор 85% фосфорной кислоты (119,65 г, 1037,8 ммоль) в изопропанол (120,0 мл) в течение 18 мин с образованием суспензии. Полученную суспензию перемешивали при 50°C в течение 1 ч. Затем к суспензии добавляли н-гептан (4050,0 мл) в течение 40 мин при поддержании внутренней температуры суспензии между 46 и 53°C. После добавления н-гептана суспензию постепенно охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение 19 ч при комнатной температуре. Твердое вещество собирали путем фильтрации, промывали смесью изопро-

панола и н-гептана (3:10 по объему, 2×700 мл) и затем н-гептаном (3×550 мл) и высушивали под вакуумом при комнатной температуре в с получением неочищенной соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-Н-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты (434,6 г, выход 89,9%).

Стадия 2: соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-Н-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты (очищенная).

В круглодонную колбу вместимостью 22 л, оснащенную подвесным перемешивающим механизмом и термопарой, покрытой тефлоном, добавляли соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-Н-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты со стадии 1 (958,3 г, 1583 ммоль) и метанол (MeOH, 9583,0 мл) при комнатной температуре. Полученную суспензию нагревали до 50°C с получением прозрачного, светло-оранжевого раствора. Раствор дополнительно фильтровали, переносили обратно в колбу 22 л и нагревали до кипения для отгонки метанола (4793 г, 6090 мл) в течение 70 мин. Затем в колбу добавляли изопропанол (7700 мл) в течение 30 мин при поддержании температуры раствора между 50 и 65°C. После завершения добавления изопропанола по порциям добавляли н-гептан (14400 мл) при сохранении осторожной дистилляции смеси растворителей (MeOH, IPA и н-гептан) в течение 2,5 ч. В общей сложности дистиллировали 10818 г (15000 мл) смеси растворителей. Полученную суспензию постепенно охлаждали до комнатной температуры и затем перемешивали в течение 17 ч при комнатной температуре. Твердое вещество собирали путем фильтрации, промывали смесью изопропанола и н-гептана (1:5 по объему, 3000 мл) с последующей промывкой н-гептаном (3×4000 мл) и сушили под вакуумом при комнатной температуре с получением титульного соединения в виде кристаллического порошка грязно-белого цвета (925,7 г, выход 96,6%).

При помощи XRPD подтвердили, что указанная соль фосфорной кислоты является 1:1 солью по показателям ¹H ЯМР, и показали степень кристалличности. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9,35 (br. s, 4H), 8,50 (d, J=8,9 Гц, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,34 (dd, J=12,5, 6,4 Гц, 1H), 6,61 (dd, J=12,0, 7,4 Гц, 1H), 4,86-4,69 (m, 1H), 4,61 (d, J=8,9 Гц, 2H), 4,38 (d, J=8,9 Гц, 2H), 3,64 (s, 2H), 2,21 (s, 6H), 1,30 (d, J=7,1 Гц, 3H); ¹³C ЯМР (100 МГц, DMSO-d₆) δ 162,8, 156,7 (d, J_{CF}=246,5 Гц), 146,9 (d, J_{CF}=236,1 Гц), 141,6 (dd, J_{CF}=13,0, 11,7 Гц), 140,3, 138,3, 125,8 (q, J_{CF}=281,8 Гц), 125,6, 117,2, 116,4 (dd, J_{CF}=22,3, 4,6 Гц), 115,1, 111,3 (dd, J_{CF}=15,7, 5,8 Гц), 107,7, 102,0 (dd, J_{CF}=29,5, 4,5 Гц), 62,3, 57,7, 57,7, 45,8 (q, J_{CF}=30,5 Гц), 27,0, 13,3 (d, J_{CF}=1,7 Гц), 11,7. C₂₃H₂₂F₅N₇O (вычисляли MW 507,46). ЖХМС: (EI) m/e 508,1 (M⁺+H). DSC демонстрирует острый пик плавления на примерно 227,62°C (начало на 224,45°C), как показано на фиг. 4А. Титульное соединение демонстрирует потерю массы на 0,129% вплоть до 200°C, как показано на фиг. 4В. Дифрактограмма XRPD определена для соли фосфорной кислоты и показана на фиг. 4С. Перечень пиков 2-тета приведен в табл. 4 ниже.

Таблица 4

2-Тета	Высота	Н%
6,805	8160	100
7,278	56	0,7
8,164	230	2,8
11,065	68	0,8
11,685	1060	13
12,798	260	3,2
13,512	920	11,3
14,667	110	1,3
15,923	686	8,4
16,49	2186	26,8
17,022	236	2,9
17,292	111	1,4
17,991	137	1,7
18,448	703	8,6
19,827	1407	17,2
20,677	2119	26
21,236	199	2,4
22,079	275	3,4
22,421	406	5

23,592	2119	26
24,635	424	5,2
25,317	296	3,6
25,64	674	8,3
26,161	363	4,5
27,284	94	1,2
27,989	198	2,4
28,628	118	1,4
29,63	135	1,7
30,419	455	5,6
32,099	60	0,7
32,832	148	1,8
33,346	166	2
34,436	447	5,5
35,711	117	1,4
36,719	295	3,6
37,349	135	1,7
38,802	53	0,6
39,585	108	1,3
40,565	64	0,8
41,224	260	3,2
42,44	68	0,8

Пример А. Анализ JAK-киназы *in vitro*.

Соединения, описанные в настоящей заявке, проверяли на активность ингибирования JAK-мишеней в соответствии со следующим анализом *in vitro*, описанным в Park и др., Analytical Biochemistry 1999, 269, 94-104. Каталитические домены JAK1 (а.к. 837-1142), JAK2 (а.к. 828-1132) и JAK3 (а.к. 781-1124) человека с His-тэгом на N-конце экспрессировали в клетках насекомых с использованием бакуловируса и очищали. Каталитическую активность JAK1, JAK2 или JAK3 анализировали путем измерения фосфорилирования биотинилированного пептида. Фосфорилированный пептид выявляли при помощи гомогенной флуоресценции с временным разрешением (HTRF). IC₅₀ соединений измеряли для каждой киназы в 40 мкл реакционных смесях, которые содержали фермент, АТФ и 500 нМ пептида в 50 мМ Трис (pH 7,8) буфера с 100 мМ NaCl, 5 мМ DTT и 0,1 мг/мл (0,01%) BSA. Для измерений 1 мМ IC₅₀ использовали концентрацию АТФ в реакционных смесях, равную 1 мМ. Реакции проводили при комнатной температуре в течение 1 ч и затем останавливали при помощи 20 мкл 45 мМ EDTA, 300 нМ SA-APC, 6 нМ Eu-Py20 в буфере для анализа (Perkin Elmer, Бостон, Массачусетс). Связывание с антителами, помеченными европием, проводили в течение 40 мин и сигнал HTRF измеряли на считывателе со слитыми пластинами (Fusion plate reader, Perkin Elmer, Бостон, Массачусетс). См. табл. 5 для данных, относящихся к соединениям из примеров.

Таблица 5
Данные IC₅₀ для анализа ферментов JAK (при 1 мМ АТФ)

Пример №	JAK1 IC ₅₀ (нМ) *	JAK2 IC ₅₀ (нМ) *	JAK2/ JAK1
1	+	++++	>10
2	+	++	>10

3	+	+++	>10
4	+	++	>10
5	++	+++	>10
6	+	+++	>10
7	+	++	>10
8	+	++	>10
9	+	++	>10
10	++	+++	
11	++	+++	
12	++	+++	
13	+	+++	>10
17	+	++	>10

* 300 нМ или меньше (+);
 >300 нМ до 1000 нМ (++);
 >1000 нМ (+++);
 >700 нМ (++++).

Пример В. Анализы клеток.

Линии раковых клеток, зависящих от цитокинов и, следовательно, передачи сигнала по пути JAK/STAT, для роста можно высевать при плотности покрытия 6000 клеток на лунку (формат 96-луночного планшета) в RPMI 1640, 10% FBS и 1 нг/мл подходящего цитокина. Соединения можно добавить к указанным клеткам в ДМСО/среде (конечная концентрация 0,2% ДМСО) и инкубировать в течение 72 ч при 37°C, 5% CO₂. Влияние соединения на жизнеспособность клеток оценивают при помощи люминесцентного анализа жизнеспособности клеток CellTiter-Glo (Promega) с последующим количественным анализом при помощи TopCount (Perkin Elmer, Бостон, Массачусетс). Потенциальные побочные эффекты соединений измеряют параллельно с использованием клеточной линии без JAK с тем же аналитическим считыванием. Все эксперименты, как правило, выполняют в двух повторностях.

Вышеуказанные клеточные линии также можно использовать для изучения влияния соединений на фосфорилирование JAK-киназ или потенциальных расположенных ниже по каскаду субстратов, таких как белки STAT, Akt, Shp2 или Erk. Эти эксперименты можно проводить после цитокинового голодания в течение ночи и следующей за ним краткой предварительной инкубации с соединением (2 ч или меньше) и стимуляции цитокинами в течение примерно 1 ч или менее. Затем белки экстрагируют из клеток и анализируют при помощи способов, хорошо известных специалисту в данной области, включая Вестерн-блоттинг или ELISA с использованием антител, которые могут различать фосфорилированный и общий белок. В этих экспериментах, чтобы исследовать активность соединений в отношении биологии выживания опухолевых клеток или медиаторов воспалительного заболевания, можно использовать нормальные или раковые клетки. Например, в отношении медиаторов воспалительного заболевания, для того чтобы стимулировать активацию JAK, приводящую к фосфорилированию STAT-белка(ов) и, возможно, изменению транскрипционных профилей (оценка при помощи микрочипов или технологии количественной ПЦР) или производства и/или секреции белков, таких как IL-17, можно использовать такие цитокины, как IL-6, IL-12, IL-23 или IFN. Способность соединений ингибировать эффекты, опосредованные данными цитокинами, можно измерить с использованием стандартных методов, известных специалистам в данной области техники.

Соединения, описанные в настоящей заявке, также можно проверять на клеточных моделях, предназначенных для оценки их действия и активности в отношении мутантных JAK, например мутации JAK2V617F, обнаруживаемой при миелоидных пролиферативных нарушениях. В этих экспериментах часто используют зависимые от цитокинов гематологические клеточные линии (например, BaF/3), в которые эктопически экспрессируют дикие или мутантные формы JAK-киназ (James C. и др., Nature 434:1144-1148; Staerk, J. и др., JBC 280:41893-41899). Конечные точки включают влияние соединений на выживаемость клеток, пролиферацию и фосфорилированные белки JAK, STAT, Akt или Erk.

Некоторые соединения, описанные в настоящей заявке, можно оценивать с точки зрения их активности в отношении ингибирования пролиферации Т-клеток. Таким анализом можно считать анализ пролиферации, стимулируемой вторичными цитокинами (т.е. JAK), а также упрощенный анализ иммунного подавления или ингибирования иммунной активации. Ниже приводится краткое описание того, как можно проводить подобные эксперименты. Мононуклеары периферической крови (PBMC) получают из образцов цельной крови человека при помощи способа разделения Ficoll Нураке, а Т-клетки (фракция 2000) можно получить из PBMC при помощи элютации. Свежевыделенные Т-клетки человека можно поддерживать в культуральной среде (RPMI 1640, дополненная 10% эмбриональной бычьей сывороткой,

100 ед. акт./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина) при плотности 2×10^6 клеток/мл при 37°C до 2 дней. Для анализа клеточной пролиферации, стимулированной IL-2, Т-клетки сначала обрабатывали фитогемагглютинином (РНА) в конечной концентрации 10 мкг/мл в течение 72 ч. После одной промывки PBS клетки помещали в 96-луночный планшет при плотности 6000 клеток/лунку и обрабатывали соединениями при различных концентрациях в культуральной среде в присутствии 100 ед. акт./мл IL-2 человека (ProSpec-Tany TechnoGene; Реховот, Израиль). Планшеты инкубировали при 37°C в течение 72 ч и индекс пролиферации измеряли при помощи реагентов CellTiter-Glo Luminescent в соответствии с протоколом производителя (Promega; Мэдисон, Висконсин).

Пример С. Противоопухолевая эффективность *in vivo*.

Соединения, описанные в настоящей заявке, можно оценивать на модели ксенотрансплантата опухоли человека на мышах с нарушенным иммунитетом. Например, опухолеобразующий вариант клеточной линии плазмоцитомы INA-6 можно использовать для подкожной прививки мышам SCID (Burger R. и др., *Nematol J.* 2:42-53, 2001). Животных, имеющих опухоли, затем можно случайно разделить на группы, получающие лекарственное средство или получающие плацебо, и можно вводить различные дозы соединений через любое количество обычных путей введения, включая пероральное введение, интраперитонеальное введение или непрерывную инфузию с помощью имплантируемых насосов. Рост опухоли с течением времени отслеживают при помощи циркуля. Кроме того, образцы опухолей можно собирать для анализа, как описано выше (пример В), в любой момент времени после начала лечения, чтобы оценить воздействие соединения на активность JAK и сигнальных путей, расположенных ниже по каскаду. Кроме того, селективность соединения(ий) можно оценивать при помощи ксенотрансплантатов моделей опухолей, обусловленных другими киназами (например, Bcr-Abl), например модели опухоли K562.

Пример D. Кожная реакция гиперчувствительности замедленного типа на мышах.

Соединения, описанные в настоящей заявке, также можно тестировать на предмет их эффективности (ингибирования JAK-мишеней) на модели реакции гиперчувствительности замедленного типа, обусловленной Т-клетками. Ответ гиперчувствительности замедленного типа (DTH) на контакт с кожей у мышей считается действительной моделью клинического контактного дерматита и других опосредованных Т-лимфоцитами иммунных заболеваний кожи, таких как псориаз (*Immunol Today.* 1998 Jan; 19(1):37-44). DTH мыши разделяет несколько характеристик с псориазом, в том числе иммунный инфильтрат, сопровождающийся увеличением количества воспалительных цитокинов и гиперпролиферацией кератиноцитов. Кроме того, многие классы агентов, которые являются эффективными в клинической практике лечения псориаза, также являются эффективными ингибиторами DTH-ответа у мышей (*Agents Actions.* 1993 Jan; 38(1-2):116-21).

На 0 и 1 день мышей Balb/c сенсibilизируют путем местного применения антигена 2,4, динитрофторбензола (DNFB) в очищенный от шерсти живот. На 5-й день измеряют толщину ушей при помощи инженерного микрометра. Это измерение записывают и используют в качестве исходного уровня. Оба уха животных затем иммунизируют путем местного применения DNFB в общем количестве 20 мкл (10 мкл на внутреннюю ушную раковину и 10 мкл на наружную ушную раковину) в концентрации 0,2%. Через 24-72 ч после иммунизации уши снова измеряют. Обработка тестируемыми соединениями проводится в течение фаз сенсibilизации и иммунизации (от 1 до 7 дня) или до и во время фазы иммунизации (обычно в дневное время с дня 4 до дня 7). Тестируемые соединения (в различных концентрациях) вводят либо системно, либо местно (местное применение при обработке ушей). На эффективность тестируемых соединений указывает уменьшение отека уха по сравнению с ситуацией без лечения. Соединения, вызывающие уменьшение на 20% и более, считали эффективными. В некоторых экспериментах мышей иммунизировали, но не сенсibilизировали (отрицательный контроль).

Ингибирующий эффект (ингибирование активации путей JAK-STAT) в тестовых соединениях можно подтвердить при помощи иммуногистохимического анализа. Активация пути (путей) JAK-STAT приводит к образованию и перемещению функциональных транскрипционных факторов. Кроме того, миграция иммунных клеток и увеличение пролиферации кератиноцитов должны также обеспечить уникальные изменения профиля экспрессии в ухе, которые могут быть исследованы и количественно оценены. Срезы фиксированных формалином и заключенных в парафин ушей (собранные после фазы иммунизации в модели DTH) подвергают иммуногистохимическому анализу с использованием антитела, которое специфически взаимодействует с фосфорилированным STAT3 (клон 58E12, Cell Signaling Technologies). Уши мышей обрабатывали тестируемыми соединениями, плацебо или дексаметазоном (клинически эффективное средство для лечения псориаза) или в модели DTH для сравнения без обработки. Тестируемые соединения и дексаметазон могут приводить к сходным качественным и количественным изменениям в транскрипции, и тестируемые соединения и дексаметазон могут уменьшать количество инфильтрующих клеток. Системное и местное введение тестируемых соединений может приводить к ингибирующим эффектам, т.е. снижению числа инфильтрующих клеток и ингибированию изменений в транскрипции.

Пример E. Противовоспалительная активность *in vivo*.

Соединения, описанные в настоящей заявке, могут быть оценены на моделях грызунов или не грызунов, предназначенных для репликации одиночного или комплексного воспалительного ответа. Например, модели артрита на грызунах можно использовать для оценки терапевтического потенциала соеди-

нений в профилактических или терапевтических дозировках. Эти модели включают, без ограничения, индуцированный коллагеном артрит мышей или крыс, индуцированный адьювантом артрит крыс и артрит, индуцированный антителами против коллагена. Аутоиммунные заболевания, включая, без ограничения, множественный склероз, сахарный диабет типа I, увеоретинит, тиреоидит, тяжелую миастению, иммуноглобулиновые нефропатии, миокардит, сенсibilизацию дыхательных путей (астма), волчанку или колит, также могут быть использованы для оценки терапевтического потенциала соединений, описанных в настоящей заявке. Эти модели хорошо зарекомендовали себя в научном сообществе и известны специалистам в данной области техники (Current Protocols in Immunology, v. 3, Coligan, J.E. и др., Wiley Press.; Methods in Molecular Biology, v. 225, Inflammation Protocols., Winyard P.G. и Willoughby D.A., Humana Press, 2003.).

Пример F. Модели на животных для лечения синдрома сухого глаза, увеитов и конъюнктивитов.

Агенты можно оценивать на одной или нескольких доклинических моделях сухого глаза, известных специалистам в данной области техники, включая, без ограничения, модель конканавалина A (ConA) на слезной железе кролика, модель скополамина на мышши (подкожная или трансдермальная), модель Botulinum на слезной железе мышши или любой из ряда спонтанных аутоиммунных моделей на грызунах, которые приводят к дисфункции глазной железы (например, NOD-SCID, MRL/lpr или NZB/NZW) (Barabino и др., Experimental Eye Research, 2004, 79, 613-621; и Schrader и др., Developmental Ophthalmology, Karger, 2008, 41, 298-312, содержание каждой из которых включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки). Конечные точки этих моделей могут включать гистопатологию глазных желез и глаз (роговицы и т.д.) и, возможно, классический тест Ширмера или его модифицированные варианты (Barabino и др.), с помощью которых измеряют выработку слезы. Активность может быть определена при помощи дозирования через множественные пути введения (например, системные или местные), которое можно начать перед или после появления измеряемых проявлений заболевания.

Агенты можно оценивать на одной или нескольких доклинических моделях увеитов, известных специалистам в данной области техники. К ним относятся, без ограничения, модели экспериментальных аутоиммунных увеитов (EAU) и индуцированных эндотоксином увеитов (EIU). Эксперименты EAU можно проводить на кроликах, крысах или мышшах, и эти эксперименты могут включать пассивную или активную иммунизацию. Например, любой из ряда антигенов сетчатки можно использовать для сенсibilизирования животных к соответствующему иммуногену, после чего глаза животных можно иммунизировать тем же антигеном. Модель EIU является более острой и включает местное или системное введение липополисахаридов в сублетальных дозах. Конечные точки для обеих моделей EIU и EAC могут включать изучение глазного дна и среди прочего гистопатологию. Эти модели рассматриваются Smith и др. (Immunology and Cell Biology, 1998, 76, 497-512, содержание которой включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки). Активность определяют при помощи дозирования через разные пути введения (например, системные или местные), которое можно начать перед или после появления измеряемых проявлений заболевания. Некоторые модели, перечисленные выше, могут также развивать склерит/эписклерит, хориоидит, циклит или ирит и, следовательно, полезны при изучении потенциальной активности соединений для терапевтического лечения этих заболеваний.

Агенты можно также оценивать в одной или нескольких доклинических моделях конъюнктивитов, известных специалистам в данной области техники. Указанные модели включают, без ограничения, модели на грызунах с использованием морской свинки, крысы или мышши. Модели на морской свинке включают модели, при которых используют активную или пассивную иммунизацию и/или иммунные протоколы иммунизации антигенами, такими как овальбумин или амброзия (рассмотрено в Groneberg, D.A. и др., Allergy, 2003, 58, 1101-1113, содержание которой включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки). Модели на крысах и мышшах в целом сходны с моделями на морской свинке (также рассмотрено Groneberg). Активность может быть определена при помощи дозирования через множественные пути введения (например, системные или местные), которое можно начать перед или после появления измеряемых проявлений заболевания. Конечные точки для таких исследований могут включать в себя, например, гистологический, иммунологический, биохимический или молекулярный анализ глазных тканей, например, конъюнктивы.

Пример G. Защита кости in vivo.

Соединения можно оценивать в различных доклинических моделях остеопении, остеопороза или резорбции кости, известных специалистам в данной области техники. Например, грызунов после овариэктомии можно использовать для оценки способности соединений влиять на признаки и маркеры ремоделирования и/или плотности кости (Jee W.S.S. и Yao W., J Musculoskel. Nueron. Interact., 2001, 1(3), 193-207, содержание которой включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки). Кроме того, плотность и архитектуру костной ткани можно оценивать у контрольных или получающих соединение грызунов на моделях остеопении, вызванной терапией (например, глюкокортикоидами) (Yao и др. Arthritis and Rheumatism, 2008, 58(6), 3485-3497; и id. 58(11), 1674-1686, содержание которых включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки). Кроме того, воздействие соединений на резорбцию и плотность кости может быть оценено на моделях артрита на грызунах, описанных выше (пример E). Конечные точки для всех этих моделей могут отличаться, но часто включают в себя гистоло-

гические и радиологические оценки, а также иммуногистологию и соответствующие биохимические маркеры костного ремоделирования.

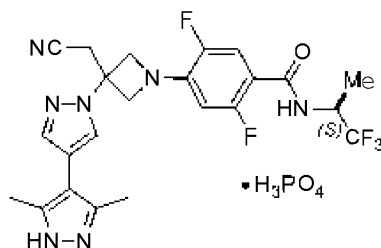
Пример Н. Модель на трансгенных мышах S100A9.

Ранее было показано, что трансгенные мыши S100A9 обнаруживают накопление MDSC в костном мозге, что сопровождается развитием прогрессивной мультилинейной цитопении и цитологической дисплазии, аналогичной МДС. Кроме того, раннее принудительное созревание MDSC, вызванное либо полностью трансретиноевой кислотой, либо прерывание CD33 сигналинга активного иммунорецептора тирозинзависимой активации, основанного на мотиве (ITAM-основанная) адаптерного белка (DAP12), позволяло сохранить гематологический фенотип и обеспечивало смягчение заболевания. Эта система может быть полезной для оценки влияния на ингибирование JAK1 при МДС-подобном заболевании в доклинической модели. *J. Clin. Invest.*, 123 (11):4595-4611 (2013), Соответственно селективный ингибитор JAK1 дозируется через желудочный зонд. Способность соединений уменьшать цитопении и цитологическую дисплазию наблюдали на трансгенных мышах S100A9.

Специалистам в данной области техники после изучения приведенного выше описания будут понятны различные модификации изобретения помимо тех, которые описаны в настоящей заявке. Предполагается, что указанные модификации также входят в объем прилагаемой формулы изобретения. Содержание каждого документа, приведенного в настоящей заявке, включая все патенты, патентные заявки и публикации, полностью включено в настоящую заявку посредством ссылок.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Твердая форма фосфата 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (фосфат соединения 1), имеющего формулу



где твердая форма является кристаллической, имеющей по меньшей мере два пика XRPD в единицах 2-тета, выбранных из $6,8 \pm 0,2$, $16,5 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$ и $23,6 \pm 0,2^\circ$.

2. Твердая форма по п.1, представляющая собой соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (соединение 1) и фосфорной кислоты со стехиометрическим соотношением 1:1.

3. Твердая форма по п.1 или 2, имеющая по меньшей мере три пика XRPD в единицах 2-тета, выбранных из $6,8 \pm 0,2$, $16,5 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$ и $23,6 \pm 0,2^\circ$.

4. Твердая форма по любому из пп.1-3, дополнительно имеющая по меньшей мере один пик XRPD в единицах 2-тета, выбранных из $11,7 \pm 0,2$, $13,5 \pm 0,2$, $15,9 \pm 0,2$, $18,4 \pm 0,2$ и $19,8 \pm 0,2^\circ$.

5. Твердая форма по любому из пп.1-3, дополнительно имеющая по меньшей мере два пика XRPD в единицах 2-тета, выбранных из $11,7 \pm 0,2$, $13,5 \pm 0,2$, $15,9 \pm 0,2$, $18,4 \pm 0,2$ и $19,8 \pm 0,2^\circ$.

6. Твердая форма по любому из пп.1-3, дополнительно имеющая по меньшей мере три пика XRPD в единицах 2-тета, выбранных из $11,7 \pm 0,2$, $13,5 \pm 0,2$, $15,9 \pm 0,2$, $18,4 \pm 0,2$ и $19,8 \pm 0,2^\circ$.

7. Твердая форма по любому из пп.1-3, дополнительно имеющая по меньшей мере четыре пика XRPD в единицах 2-тета, выбранных из $11,7 \pm 0,2$, $13,5 \pm 0,2$, $15,9 \pm 0,2$, $18,4 \pm 0,2$ и $19,8 \pm 0,2^\circ$.

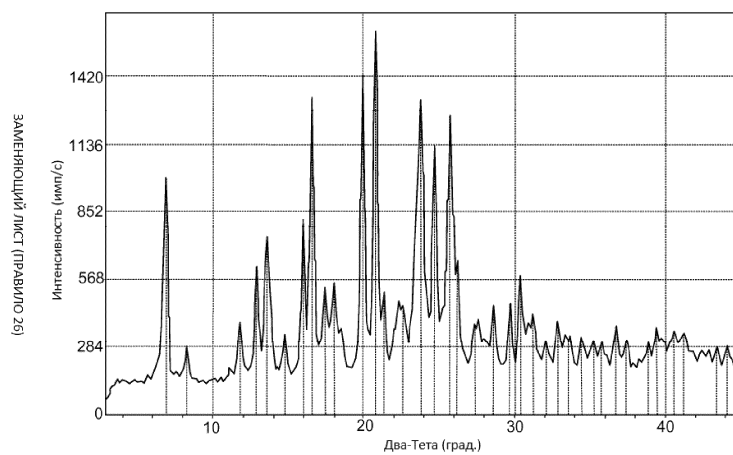
8. Твердая форма по любому из пп.1-7, имеющая XRPD-профиль, показанный на фигуре 4С.

9. Твердая форма по п.1, характеризующаяся DSC-термограммой, имеющей эндотермический пик при $228 \pm 3^\circ\text{C}$.

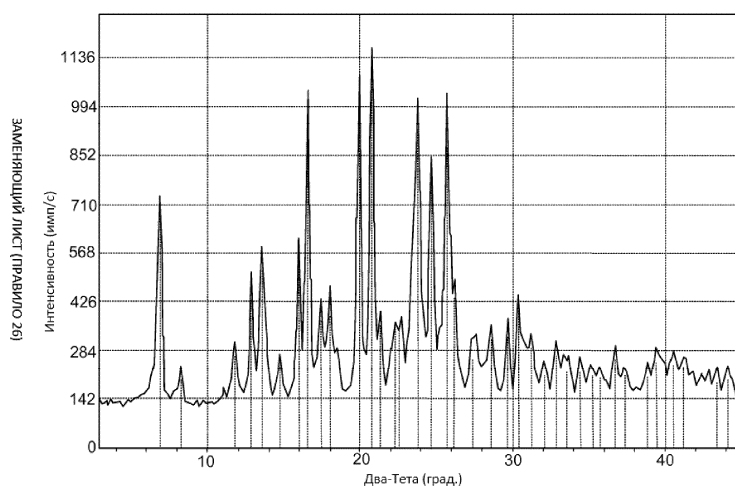
10. Твердая форма по п.9, где эндотермический пик имеет начало при $224 \pm 3^\circ\text{C}$.

11. Твердая форма по п.1, имеющая DSC-термограмму, показанную на фиг. 4А.

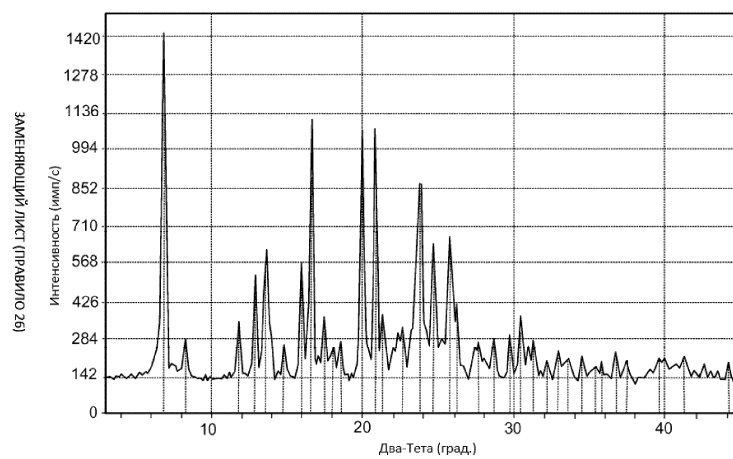
12. Твердая форма по п.1, имеющая DSC-термограмму, показанную на фиг. 4В.



Фиг. 1

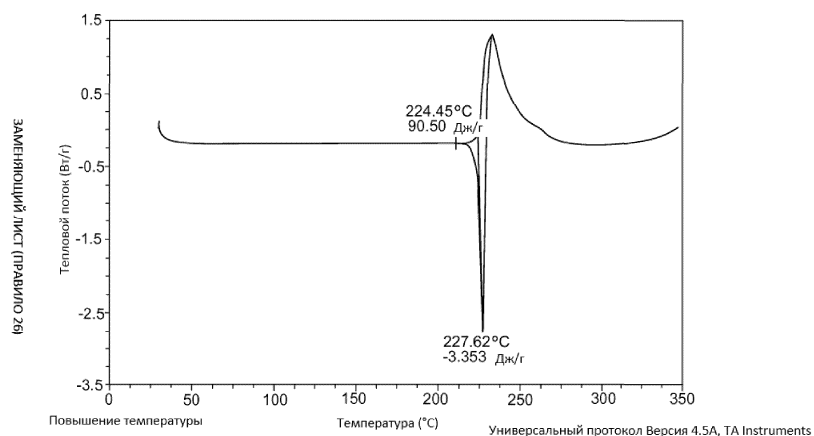


Фиг. 2

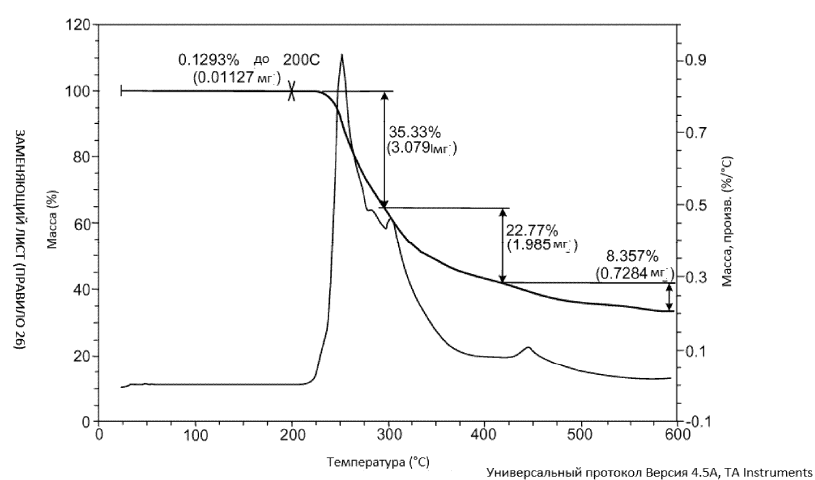


Фиг. 3

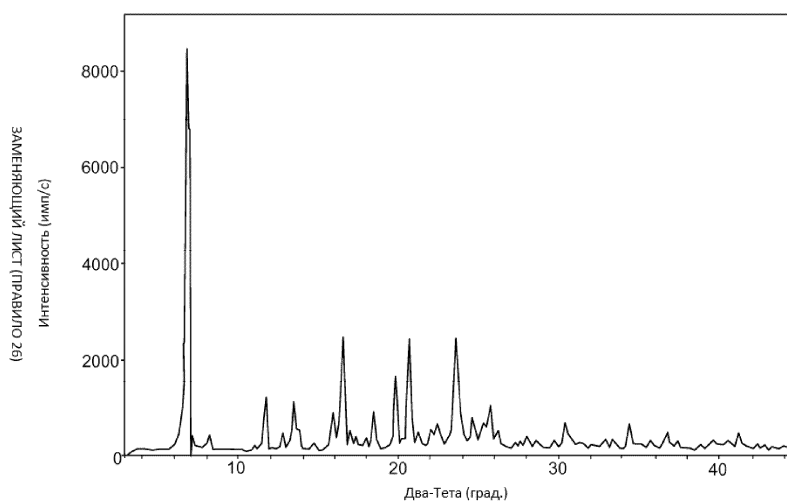
039660



Фиг. 4А

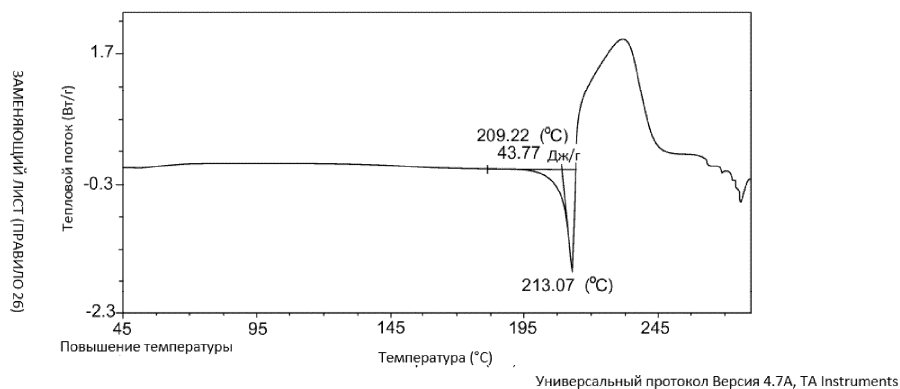


Фиг. 4В

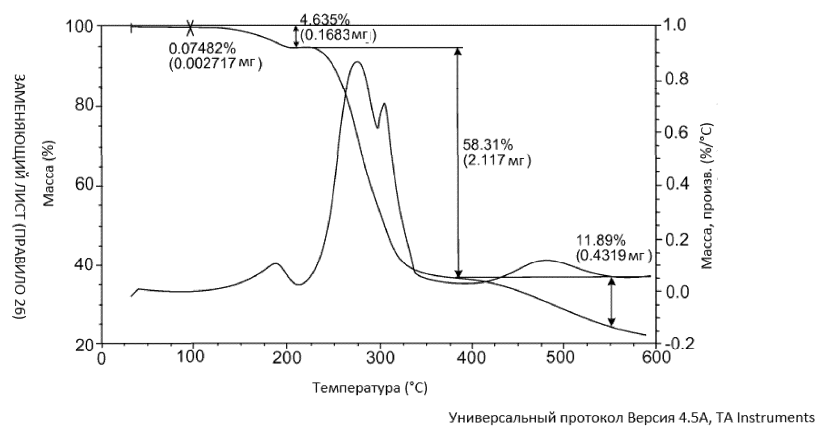


Фиг. 4С

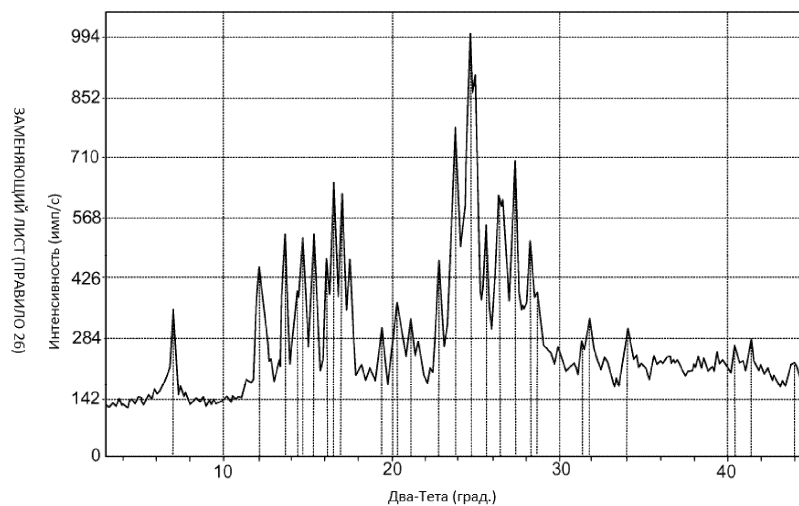
039660



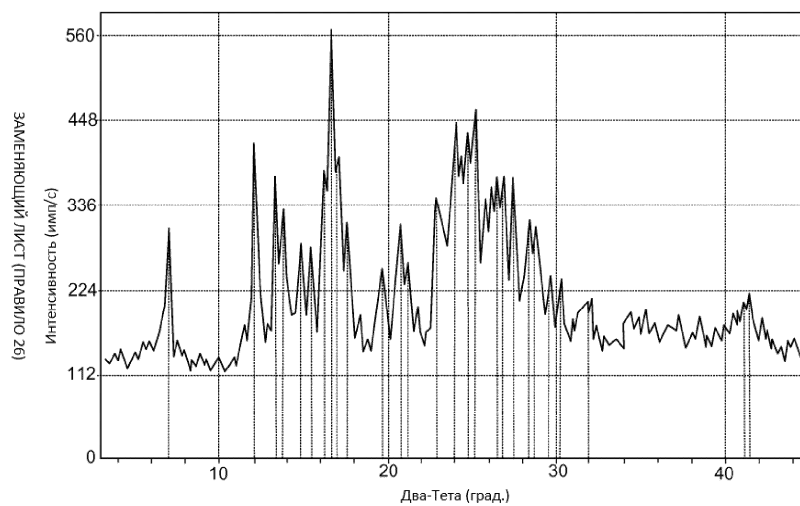
Фиг. 5A



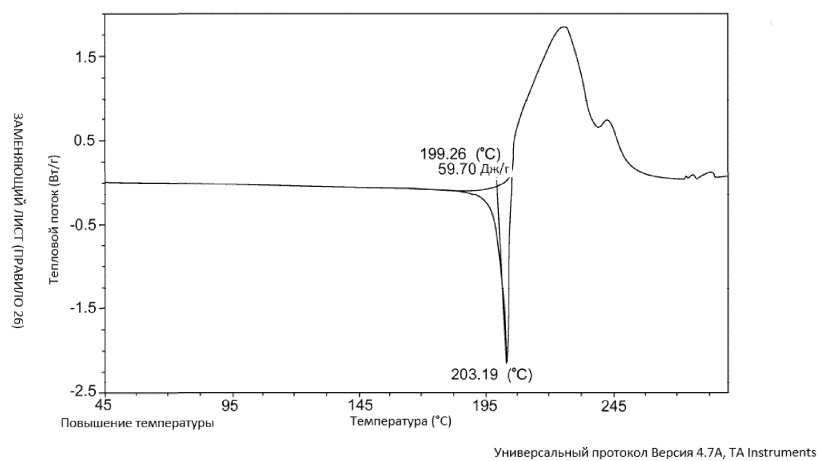
Фиг. 5B



Фиг. 5C

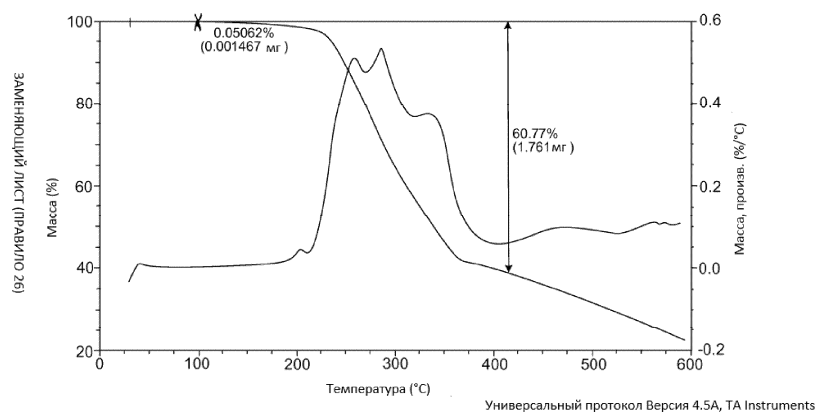


Фиг. 6



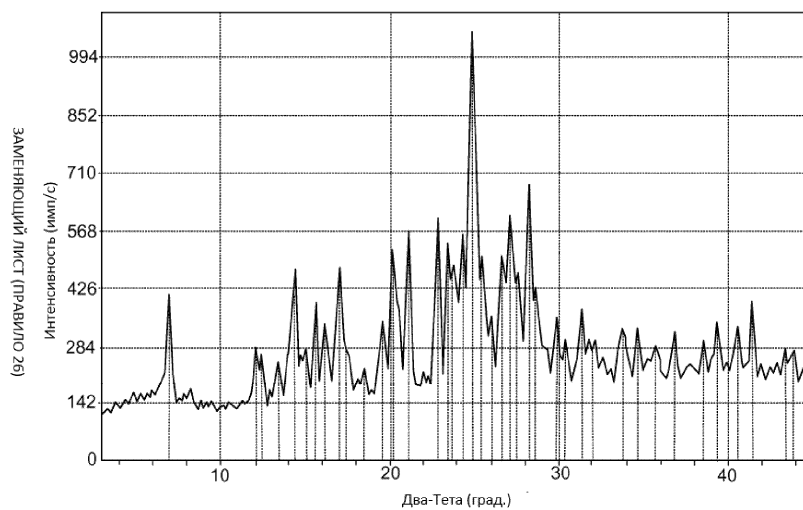
Универсальный протокол Версия 4.7A, TA Instruments

Фиг. 7А

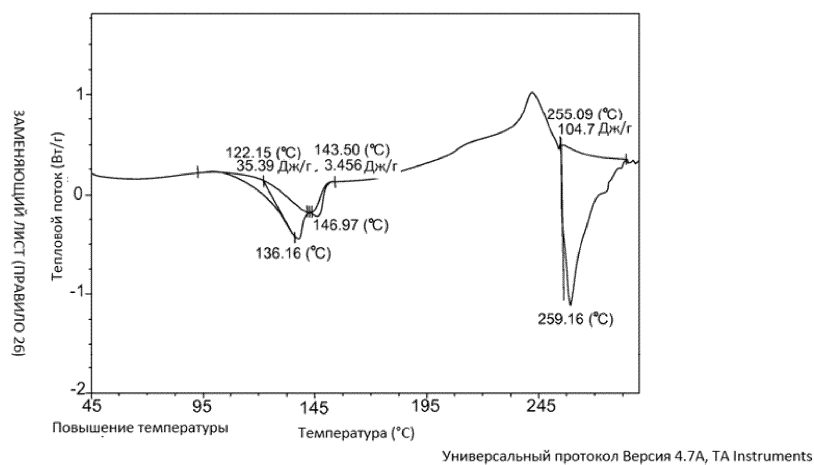


Универсальный протокол Версия 4.5A, TA Instruments

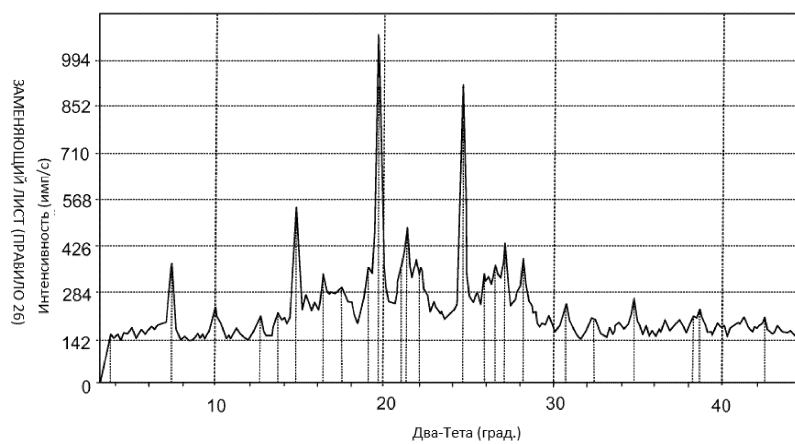
Фиг. 7В



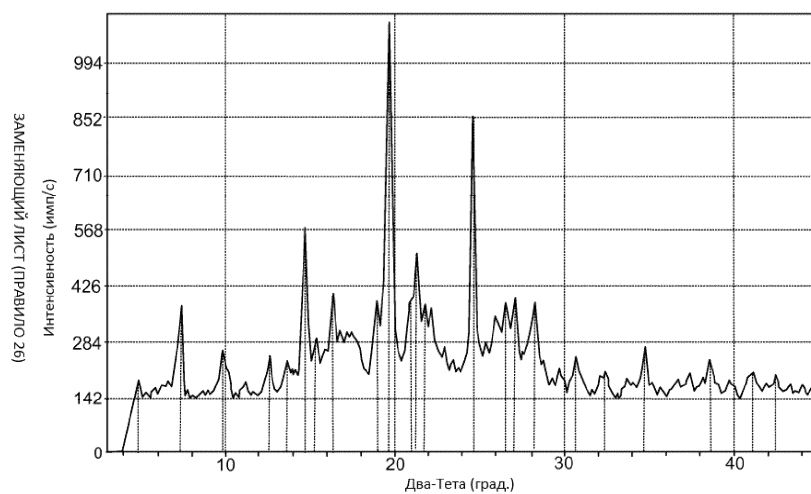
Фиг. 7С



Фиг. 8А



Фиг. 8В



Фиг. 9



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2