

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(11) 041836

(13) B1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
2022.12.08

(21) Номер заявки  
201891157

(22) Дата подачи заявки  
2014.03.05

(51) Int. Cl. C07D 487/04 (2006.01)  
C07D 401/14 (2006.01)  
C07F 5/02 (2006.01)  
C07F 5/04 (2006.01)

## (54) СПОСОБЫ И ПРОМЕЖУТОЧНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ИНГИБИТОРА JAK

(31) 61/773,659

(32) 2013.03.06

(33) US

(43) 2019.02.28

(62) 201591650; 2014.03.05

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

ИНСАЙТ ХОЛДИНГС  
КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Изобретатель:

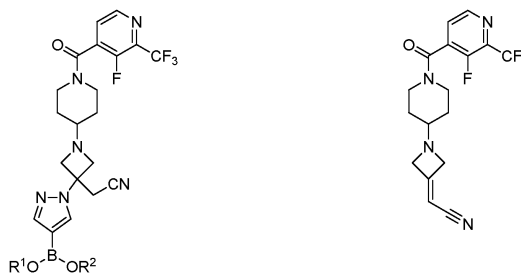
Лю Пинли, Ван Дэнцинь, У Юнчжун,  
Цао Ганьфэн, Ксиа Майкл (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A1-2011112662  
WO-A1-2009114512  
WO-A1-2011130146  
WO-A1-2009064835

(57) Изобретение относится к соединениям формул VII и VIII или их солям



где R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> каждый независимо представляет собой H или C<sub>1-6</sub>-алкил; или R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> вместе с двумя атомами кислорода, к которым они присоединены, и атомом бора, к которому присоединены атомы кислорода, образуют 5- или 6-членное гетероциклоалкильное кольцо, которое необязательно замещено 1, 2, 3 или 4 C<sub>1-4</sub>-алкильными группами. Изобретение также относится к способам получения соединений формул VII и VIII или их солей, которые являются промежуточным соединением для изготовления ингибиторов JAK, используемых при лечении заболеваний, связанных с активностью киназы Януса (JAK), включая воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания, рак, а также других заболеваний.

B1

041836

041836

B1

### Область техники

Данное изобретение относится к способам и промежуточным продуктам при получении {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила, который является полезным при лечении заболеваний, связанных с активностью Янус-киназы (JAK), включая воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания, рак и другие заболевания.

### Уровень техники

Протеинкиназы (ПК) регулируют различные биологические процессы, в том числе среди прочего рост, выживание и дифференциацию клеток, формирование органов, морфогенез, неоваскуляризацию, репарацию и регенерацию ткани. Кроме того, протеинкиназы играют особую роль в огромном количестве заболеваний человека, включая рак. Цитокины, низкомолекулярные полипептиды или гликопротеины, регулируют множество путей, вовлеченных в воспалительную реакцию хозяина на сепсис. Цитокины влияют на дифференциацию, пролиферацию и активацию клеток и могут модулировать провоспалительные и противовоспалительные реакции, что позволяет реципиенту надлежащим образом реагировать на патогенные факторы. Проведение сигнала широкого спектра цитокинов включает семейство Янус-киназы (JAK) протеин-тирозинкиназ, а также сигнальные трансдукторы и активаторы транскрипции (STAT). Существуют четыре известных JAK млекопитающих: JAK1 (Янус-киназа-1), JAK2, JAK3 (также известная как Янус-киназа лейкоцитарная; JAKL и L-JAK) и TYK2 (протеин-тирозинкиназа 2).

Стимулированные цитокином иммунные и воспалительные ответы способствуют патогенезу заболеваний: патологиям, таким как тяжелый комбинированный иммунодефицит (SCID), которые являются результатом подавления иммунной системы, в то время как гиперактивная или неадекватная иммунная/воспалительная реакция способствует патологии аутоиммунных заболеваний (например, астма, системная красная волчанка, тиреоидит, миокардит) и болезням, таким как склеродерма и остеоартрит (Ortmann, R.A., Cheng, T. et al. (2000), *Arthritis Res.*, 2(1):16-32).

Недостаточная экспрессия JAK ассоциируется со многими патологическими состояниями. Например, мыши Jak1-/- рождаются карликовыми, не в состоянии сосать и гибнут в перинатальном периоде (Rodig, S.J., Meraz, M.A. et al. (1998), *Cell*, 93(3):373-83). Эмбрионы мышей Jak2-/- анемичны и гибнут в районе 12,5 дней после коитуса из-за отсутствия развитого эритропоэза.

Метаболический путь JAK/STAT и, в частности, все четыре JAKs, как полагают, играют определенную роль в патогенезе астматической реакции, хронической обструктивной болезни легких, бронхита и других, связанных с воспалительными заболеваниями нижних дыхательных путей. Множество цитокинов, которые проводят сигнал через JAK, связаны с воспалительными заболеваниями/состояниями верхних отделов дыхательных путей, например, поражающими нос и придаточные пазухи носа (например, ринит и синусит) независимо от того, являются они классическими аллергическими реакциями или нет. Метаболический путь JAK/STAT также вовлечен в воспалительные заболевания/состояния глаза и хронические аллергические реакции.

Активация JAK/STAT в раковых заболеваниях может происходить путем стимуляции цитокинов (например, IL-6 или GM-CSF) или путем снижения эндогенных супрессоров JAK сигнализации, например SOCS (супрессорной или цитокиновой сигнализации) или PIAS (белковый ингибитор активированного STAT) (Boudny, V., Kovarik, J., *Neoplasms*, 49:349-355, 2002). Активация сигнализации STAT, а также других метаболических путей ниже JAKs (например, Akt), коррелировала с неблагоприятным прогнозом при многих типах рака (Bowman, T. et al., *Oncogene*, 19:2474-2488, 2000). Повышенные уровни цитокинов в кровотоке, которые проводят сигнал через JAK/STAT, играют определяющую роль в кахексии и/или хронической усталости. Как таковое, ингибирование JAK может быть благоприятным для раковых пациентов по причине дополнительного усиления потенциальной противоопухолевой активности.

JAK2 тирозинкиназа может быть полезной для пациентов с миелопролиферативными заболеваниями, например истинной полицитемией (ИП), идиопатической тромбоцитемией (ИТ), миелоидной метаплазией с миелофиброзом МММ (Levin et al., *Cancer Cell*, vol. 7, 2005, 387-397). Ингибирование киназы JAK2V617F уменьшает пролиферацию гемопоэтических клеток, предполагая JAK2 как потенциальную цель для фармакологического ингибирования у пациентов с ИП, ИТ и МММ.

Ингибирование JAKs может принести пользу пациентам, страдающим от кожных иммунных расстройств, таких как псориаз и сенсibilизация кожи. Поддержание псориаза, как полагают, зависит от ряда воспалительных цитокинов в дополнение к различным хемокинам и факторам роста (JCI, 113:1664-1675), многие из которых передают сигнал через JAKs (*Adv Pharmacol.*, 2000, 47:113-74).

JAK1 играет центральную роль в ряде сигнальных путей цитокинов и факторов роста, которые, когда дисрегулированы, могут привести к или способствуют болезненным состояниям. Например, уровни IL-6 растут при ревматоидном артрите - болезни, в которой, как полагают, это имеет пагубные последствия (Fonesca, J.E. et al., *Autoimmunity Reviews*, 8:538-42, 2009). Поскольку IL-6 передает сигнал, по меньшей мере частично, через JAK1, противодействие IL-6 прямо или опосредованно через ингибирование JAK1, как ожидается, может обеспечить благоприятный клинический эффект (Guschin, D.N. et al., *Embo J.*, 14:1421, 1995; Smolen, J.S. et al., *Lancet*, 371:987, 2008). Кроме того, в некоторых видах рака JAK1 в результате мутировал, что привело к нежелательному росту опухолевых клеток и их выживаемо-

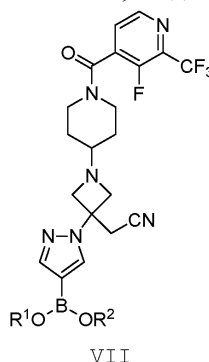
сти (Mullighan C.G., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 106:9414-8, 2009; Flex E. et al., J. Exp. Med., 205:751-8, 2008). В других аутоиммунных заболеваниях и при раке увеличивались системные уровни воспалительных цитокинов, которые активируют JAK1, которые также могут способствовать болезни и/или связанным с ними симптомам. Следовательно, пациенты с такими заболеваниями могут получать пользу от ингибирования JAK1. Селективные ингибиторы JAK1 могут быть эффективными, пока возможно предотвращение ненужных и потенциально нежелательных эффектов ингибирования других киназ JAK.

Селективные ингибиторы JAK1, относящиеся к другим киназам JAK, могут иметь несколько терапевтических преимуществ по сравнению с менее селективными ингибиторами. В отношении селективности по отношению к JAK2 ряд важных цитокинов и факторов роста передают сигнал через JAK2, в том числе, например, эритропоэтин (Epo) и тромбопоэтин (Tpo) (Parganas E. et al., Cell, 93:385-95, 1998). Epo является ключевым фактором роста для производства красных кровяных телец; следовательно, недостаток Epo-зависимой сигнализации может привести к сокращению числа красных кровяных клеток и анемии (Kaushansky K., NEJM, 354:2034-45, 2006). Tpo - другой пример JAK2, которая зависит от фактора роста, которая играет центральную роль в контроле пролиферации и созревания мегакариоцитов - клеток, из которых производятся тромбоциты (Kaushansky K., NEJM, 354:2034-45, 2006). Таким образом, снижение сигнализации Tpo будет уменьшать количество мегакариоцитов (мегакариоцитопения) и снижать количество циркулирующих тромбоцитов (тромбоцитопения). Это может привести к нежелательному и/или не поддающемуся контролю кровотечению. Снижение ингибирования других JAK, таких как JAK3 и Tyk2, также может быть желательным, так как у людей, не имеющих функциональную версию этих киназ, как было показано, страдают от многочисленных болезней, таких как тяжелый комбинированный иммунодефицит или синдромом гипериммуноглобулина E (Minegishi, Y. et al., Immunity, 25:745-55, 2006; Macchi, P. et al., Nature, 377:65-8, 1995). Следовательно, ингибитор JAK1 с пониженной аффинностью к другим JAK будет иметь значительные преимущества по сравнению с менее селективным ингибитором в отношении снижения побочных эффектов, включая подавление иммунитета, анемию и тромбоцитопению.

Благодаря полезности ингибиторов JAK существует необходимость в разработке новых способов получения ингибиторов JAK. Данное изобретение направлено на удовлетворение этой и других потребностей.

### Сущность изобретения

В данном изобретении предложены, в частности, соединения формулы VII

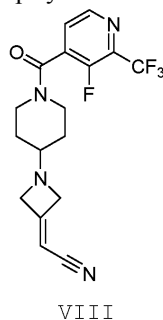


или его соли,

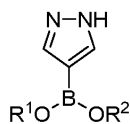
где R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> каждый независимо представляет собой H или C<sub>1-6</sub>-алкил; или

R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> вместе с двумя атомами кислорода, к которым они присоединены, и атомом бора, к которому присоединены атомы кислорода, образуют 5- или 6-членное гетероциклоалкильное кольцо, которое необязательно замещено 1, 2, 3 или 4 C<sub>1-4</sub>-алкильными группами.

Настоящее изобретение также относится к способам получения соединения формулы VII, который включает приведение в контакт соединения формулы VIII



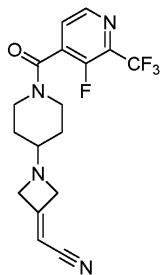
с соединением формулы IX



IX

в присутствии агента связывания с получением соединения по п.1, где  $R^1$  и  $R^2$  каждый независимо представляет собой H или  $C_{1-6}$ -алкил; или  $R^1$  и  $R^2$  вместе с двумя атомами кислорода, к которым они присоединены, и атомом бора, к которому присоединены атомы кислорода, образуют 5- или 6-членное гетероциклоалкильное кольцо, которое необязательно замещено 1, 2, 3 или 4  $C_{1-4}$ -алкильными группами.

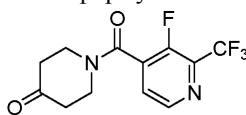
В данном изобретении дополнительно предложено соединение формулы VIII



VIII

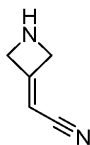
или его соль.

В данном изобретении дополнительно предложен способ получения соединения формулы VIII, включающий приведение в контакт соединения формулы VI



VI

с соединением формулы X



X

или его соль в присутствии восстанавливающего агента.

#### Подробное описание сущности изобретения

В различных местах в данном описании заместители соединений изобретения описаны в группах или в диапазонах. В частности это подразумевает, что настоящее изобретение включает в себя каждые отдельные подкомбинации указанных членов таких групп и диапазонов. Например, термин " $C_{1-6}$ -алкил" специально предназначен, чтобы описать по отдельности метил, этил,  $C_3$ -алкил,  $C_4$ -алкил,  $C_5$ -алкил и  $C_6$ -алкил.

Это дополнительно подразумевает, что определенные признаки изобретения, которые для ясности описаны в контексте отдельных вариантов реализации изобретения, также могут быть представлены в комбинации в одном варианте реализации изобретения. Наоборот, различные признаки изобретения, которые для краткости описаны в контексте одного варианта изобретения, также могут быть представлены отдельно или в любой подходящей подкомбинации.

Как используют в данном документе, фраза "необязательно замещенный" означает незамещенный или замещенный. Как используют в данном документе, термин "замещенный" означает, что атом водорода удален и заменен заместителем. Понятно, что замещение при любом взятом атоме ограничена валентностью.

Как используют в данном документе, термин "алкил", используемый отдельно или в комбинации с другими терминами, относится к насыщенной углеводородной группе, которая может быть линейной или разветвленной цепью. В некоторых вариантах реализации изобретения алкильная группа содержит от 1 до 12, от 1 до 8 или от 1 до 6 атомов углерода. Примеры алкильных фрагментов включают, но не ограничиваются ими, химические группы, такие как метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, трет-бутил, изобутил, втор-бутил; высшие гомологи, такие как 2-метил-1-бутил, н-пентил, 3-пентил, н-гексил, 1,2,2-триметилпропил, н-гептил, н-октил и подобные. В некоторых вариантах реализации изобретения алкильный фрагмент представляет собой метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, трет-

бутил, н-пентил, изопентил, неопентил, н-гексил или 2,4,4-триметилпентил. В некоторых вариантах реализации изобретения алкильный фрагмент представляет собой метил.

Как используют в данном документе "гетероциклоалкил" относится к неароматическому моноциклическому кольцу, включая циклизованные алкильные или алкенильные группы, где один или более из образующих кольцо атомов углерода заменен гетероатомом, таким как O, N, S или атомом В.

Способы, описанные в данном документе, могут быть проверены в соответствии с любым подходящим методом, известным в данной области техники. Например, образование продукта можно контролировать с помощью спектроскопических методов, таких как спектроскопия ядерного магнитного резонанса (например,  $^1\text{H}$  или  $^{13}\text{C}$ ), инфракрасная спектроскопия, или спектрофотометрия (например, УФ-видимая); или с помощью хроматографии, такой как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) или тонкослойная хроматография (ТСХ) или других связанных с ними методов.

Как используют в данном документе термин "приведение в контакт" используют так, как известно в данной области техники, и обычно он относится к приведению в контакт реагентов таким образом, чтобы сделать возможным их взаимодействие на молекулярном уровне для достижения химического или физического превращения. В некоторых вариантах реализации изобретения приведение в контакт включает два реагента, причем один или более эквивалентов второго реагента используют по отношению к первому реагенту. Этапы приведения в контакт способов, описанных в данном документе, могут быть проведены в течение времени и в условиях, подходящих для получения идентифицированного продукта.

Получение соединений может включать защиту и удаление защиты различных химических групп. Необходимость защиты, снятия защиты и выбора соответствующих защитных групп может быть легко определена специалистом в данной области техники. Химию защитных групп можно найти, например, Greene, et al., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 4d. ed., Wiley & Sons, 2007, которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки. Подбор защитных групп и способов их образования и расщепления, описанных в данном документе, могут быть скорректированы по мере необходимости с учетом различных заместителей.

Реакции способов, описанных в данном документе, могут быть выполнены в подходящих растворителях, которые могут быть легко выбраны специалистом в области органического синтеза. Подходящие растворители могут быть существенно нереакционноспособными с исходными веществами (реагентами), промежуточными продуктами при температурах, при которых проходит реакции, например, температуры, которые могут варьироваться от температуры замерзания растворителя до температуры кипения растворителя. Любая выбранная реакция может быть осуществлена в одном растворителе или в смеси более чем одного растворителя. В зависимости от конкретной стадии реакции могут быть выбраны подходящие растворители для конкретной стадии реакции. В некоторых вариантах осуществления реакции можно проводить в отсутствие растворителя, например, когда по крайней мере один из реагентов является жидкостью или газом.

Подходящие растворители могут включать галогенированные растворители, такие как четыреххлористый углерод, бромдихлорметан, дибромхлорметан, бромформ, хлороформ, бромхлорметан, дибромметан, бутил хлорид, дихлорметан, тетрачлорэтилен, трихлорэтилен, 1,1,1-трихлорэтан, 1,1,2-трихлорэтан, 1,1-дихлорэтан, 2-хлорпропан,  $\alpha,\alpha,\alpha$ -трифтортолуол, 1,2-дихлорэтан, 1,2-дибромэтана, гексафторбензол, 1,2,4-трихлорбензол, 1,2-дихлорбензол, хлорбензол, фторбензол, их смеси и т.п.

Подходящие эфирные растворители включают диметоксиметан, тетрагидрофуран, 1,3-диоксан, 1,4-диоксан, фуран, диэтиловый эфир, диметиловый эфир этиленгликоля, диэтиловый эфир этиленгликоля, диметиловый эфир диэтиленгликоля, диэтиловый эфир диэтиленгликоля, диметиловый эфир триэтиленгликоля, анизол, трет-бутилметиловый эфир, их смеси и т.п.

Подходящие протонные растворители могут включать в качестве примера и без ограничения воду, метанол, этанол, 2-нитроэтанол, 2-фторэтанол, 2,2,2-трифторэтанол, этиленгликоль, 1-пропанол, 2-пропанол, 2-метоксиэтанол, 1-бутанол, 2-бутанол, изобутиловый спирт, трет-бутиловый спирт, 2-этоксиэтанол, диэтиленгликоль, 1-, 2-, 3- или пентанол, неопентиловый спирт, трет-пентиловый спирт, диэтиленгликоль монометиловый эфир, моноэтиловый эфир диэтиленгликоля, циклогексанол, бензиловый спирт, фенол или глицерин.

Подходящие апротонные растворители могут включать в качестве примера и без ограничения тетрагидрофуран (ТГФ), N,N-диметилформамид (ДМФА), N,N-диметилацетамид (ДМА), 1,3-диметил-3,4,5,6-тетрагидро-2 (1H)-пиримидинон (DMPU), 1,3-диметил-2-имидазолидинон (ДМИ), N-метилпирролидинон (NMP), формамид, N-метилацетамид, N-метилформамид, ацетонитрил, диметилсульфоксид, пропионитрил, этилформиат, метилацетат, гексахлорацетон, ацетон, этилметилкетон, этилацетат, сульфолан, N,N-диметилпропионамид, тетраметилмочевину, нитрометан, нитробензол или гексаметилфосфорамид.

Подходящие углеводородные растворители включают бензол, циклогексан, пентан, гексан, толуол, циклогептан, метилциклогексан, гептан, этилбензол, m-, o- или p-силлол, октан, индан, нонан или нафталин.

Реакции способов, описанных в данном документе, могут быть выполнены при соответствующих температурах, которые могут быть легко определены специалистом в данной области техники. Температура реакции будет зависеть от, например, температуры плавления и кипения реагентов и растворителя,

если он присутствует; термодинамики реакции (например, может потребоваться проведение сильно экзотермических реакций при пониженных температурах); и кинетики реакции (например, повышенные температуры может потребоваться для преодоления высокой активации энергетического барьера). "Повышенная температура" относится к температуре выше комнатной температуры (около 22°C).

Реакции способов, описанных в данном документе, могут быть проведены на воздухе или в инертной атмосфере. Как правило, реакции, которые содержат реагенты или продукты, которые существенно вступают во взаимодействие с воздухом, могут быть проведены, используя чувствительные к воздействию воздуха методики синтеза, которые хорошо известны специалистам в данной области техники.

В некоторых вариантах реализации изобретения получение соединений может включать добавление кислот или оснований для осуществления, например, катализа желаемой реакции или образования солевых форм, таких как кислотно-аддитивные соли.

Например кислоты могут быть неорганические и органические. Неорганические кислоты включают хлористоводородную кислоту, бромистоводородную кислоту, серную кислоту, фосфорную кислоту и азотную кислоту. Органические кислоты включают муравьиную кислоту, уксусную кислоту, пропионовую кислоту, бутановую кислоту, бензойную кислоту, 4-нитробензойную кислоту, метансульфоновую кислоту, п-толуолсульфоновую кислоту, бензолсульфоновую кислоту, винную кислоту, трифторуксусную кислоту, пропиоловую кислоту, масляную кислоту, 2-бутиновую кислоту, винилуксусную кислоту, пентановую кислоту, гексановую кислоту, гептановую кислоту, октановую кислоту, нонановую кислоту и декановую кислоту.

Примеры оснований включают гидроксид лития, гидроксид натрия, гидроксид калия, карбонат лития, карбонат натрия, карбонат калия, и бикарбонат натрия. Некоторые примеры сильных оснований включают, но не ограничиваются ими, гидроксид, алкоксиды, амиды металлов, гидриды металлов, диалкиламиды металлов и ароматические амины, причем алкоксиды включают соли лития, натрия и калия метил-, этил- и трет-бутил оксидов; амиды металлов включают амид натрия, амид калия и амид лития; гидриды металлов включают гидрид натрия, гидрид калия и гидрид лития; и диалкиламиды металлов включают натриевые и калиевые соли метил-, этил-, н-пропил, изопропил, н-бутил, трет-бутил, триметилсилил и циклогексил замещенных амидов.

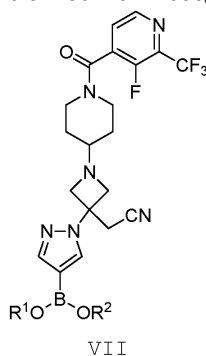
Промежуточные соединения и продукты могут также включать соли соединений описанных в данном документе. Как используется в данном документе, термин "соль" относится к соли, образованной добавлением приемлемой кислоты или основания к соединению, описанному в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения соли представляют собой фармацевтически приемлемые соли. Как использовано в данном документе, выражение "фармацевтически приемлемый" относится к веществу, которое приемлемо для использования в фармацевтической промышленности с токсикологической точки зрения и не оказывает вредного взаимодействия с активным ингредиентом. Фармацевтически приемлемые соли, в том числе моно- и би- соли, включают, но не ограничиваются ими, соли, полученные из органических и неорганических кислот, таких как, но не ограничиваясь ими, уксусная, молочная, лимонная, коричная, винная, янтарная, фумаровая, малеиновая, малоновая, миндальная, яблочная, щавелевая, пропионовая, хлористоводородная, бромистоводородная, фосфорная, азотная, серная, гликолевая, пировиноградная, метансульфоновая, этансульфоновая, толуолсульфоновая, салициловая, бензойная и подобные известные приемлемые кислоты. Списки подходящих солей можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418; и Journal Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977), каждая из которых включен в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

При получении соединений согласно способам, описанным в данном документе, могут быть использованы обычные действия по выделению и очистке, такие как концентрация, фильтрация, экстракция, твердофазная экстракция, перекристаллизация, хроматография и т.п., чтобы выделить требуемый продукт.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединения, описанные в данном документе, и их соли в существенной степени выделены. Под "в существенной степени выделенный" подразумевают, что соединение по меньшей мере частично или существенно отделено от среды, в которой оно образовано, или обнаружено. Частичное разделение может включать, например, композицию обогащенную соединением по данному изобретению. Существенное разделение может включать композиции, которые содержат по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95%, по меньшей мере около 97%, или по меньшей мере около 99% по весу соединения данного изобретения, или его соль. Методы выделения соединений и их солей являются обычными в данной области техники.

Способы и соединения.

Соответственно настоящее изобретение относится к соединению формулы VII

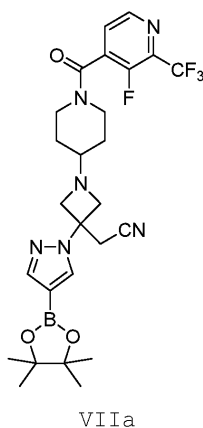


или его соли,

где R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> каждый независимо представляет собой H или C<sub>1-6</sub>-алкил; или

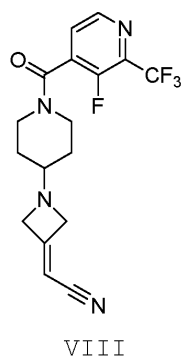
R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> вместе с двумя атомами кислорода, к которым они присоединены, и атомом бора, к которому присоединены атомы кислорода, образуют 5- или 6-членное гетероциклоалкильное кольцо, которое необязательно замещено 1,2,3 или 4 C<sub>1-4</sub>-алкильными группами.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение представляет собой соединение, имеющее формулу VIIa

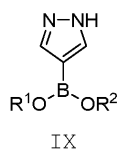


или его соль.

Настоящее изобретение относится к способу получения соединения формулы VII, который включает приведение в контакт соединения формулы VIII



с соединением формулы IX



в присутствии агента связывания,

где R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> каждый независимо представляет собой H или C<sub>1-6</sub>-алкил; или

R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> вместе с двумя атомами кислорода, к которым они присоединены, и атомом бора, к которому присоединены атомы кислорода, образуют 5- или 6-членное гетероциклоалкильное кольцо, которое необязательно замещено 1, 2, 3 или 4 C<sub>1-4</sub>-алкильными группами.

В некоторых вариантах реализации изобретения агент связывания представляет собой

1,8-диазабицикло[5,4,0]ундецен.

В некоторых вариантах реализации изобретения применяют от 1,05 до 1,2 эквивалента агента связывания исходя из соединения формулы VIII.

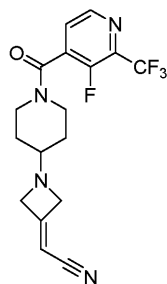
В некоторых вариантах реализации изобретения приведение в контакт соединения формулы VIII с соединением формулы IX

(a) проводится в компоненте растворителя, который содержит ацетонитрил;

(b) проводится в компоненте растворителя, который содержит ацетонитрил, при температуре от 40 до 60°C.

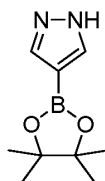
В некоторых вариантах реализации изобретения условия реакции применяют 1-1,2 эквивалента соединения формулы IX исходя из соединения формулы VIII.

В некоторых вариантах реализации изобретения условия реакции включают приведение в контакт соединения формулы VIII



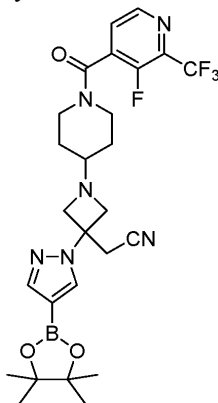
VIII

с соединением формулы IXa



IXa

в присутствии агента связывания с получением соединения формулы VIIa



VIIa.

В некоторых вариантах реализации изобретения агент связывания представляет собой 1,8-диазабицикло[5,4,0]ундецен.

В некоторых вариантах реализации изобретения условия реакции применяют от 1,05 до 1,2 эквивалента агента связывания исходя из соединения формулы VIII.

В некоторых вариантах реализации изобретения условия реакции включают приведение в контакт соединения формулы VIII с соединением формулы IXa

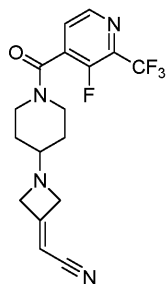
(a) проводится в компоненте растворителя, который содержит ацетонитрил; или

(b) проводится в компоненте растворителя, который содержит ацетонитрил, при температуре от 40 до 60°C.

В некоторых вариантах реализации изобретения применяют 1-1,2 эквивалента соединения формулы IXa исходя из соединения формулы VIII.



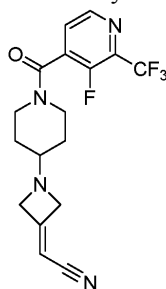
Настоящее изобретение также относится к соединению формулы VIII



VIII

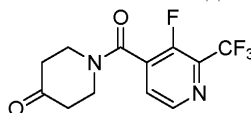
или его соли.

Настоящее изобретение также относится к способу получения соединения формулы VIII



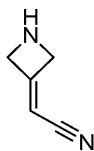
VIII

или его соли, включающему приведение в контакт соединения формулы VI



VI

с соединением формулы X



X

или его солью в присутствии восстанавливающего агента.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение формулы X или его соль представляет собой 2-(азетидин-3-илиден)ацетонитрил гидрохлорид.

В некоторых вариантах реализации изобретения восстанавливающий агент представляет собой цианоборгидрид натрия или триацетоксиборгидрид натрия.

В некоторых вариантах реализации изобретения используют от 1,5 до 2,5 эквивалентов восстанавливающего агента исходя из соединения формулы X или его соли; или используют 2 эквивалента восстанавливающего агента исходя из соединения формулы X или его соли.

В некоторых вариантах реализации изобретения условия реакции включают приведение в контакт соединения формулы VI и соединения формулы X или его соли в компоненте растворителя, который содержит дихлорметан.

### Примеры

Данное изобретение будет описано более подробно с помощью конкретных примеров. Следующие примеры представлены с целью иллюстрации и не предназначены для ограничения изобретения каким-либо образом. Специалисты в данной области техники легко поймут различные не критические параметры, которые могут быть изменены или модифицированы, чтобы привести по существу к тем же самым результатам.

Пример 1. Синтез 2-(3-(4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил адипата (9).

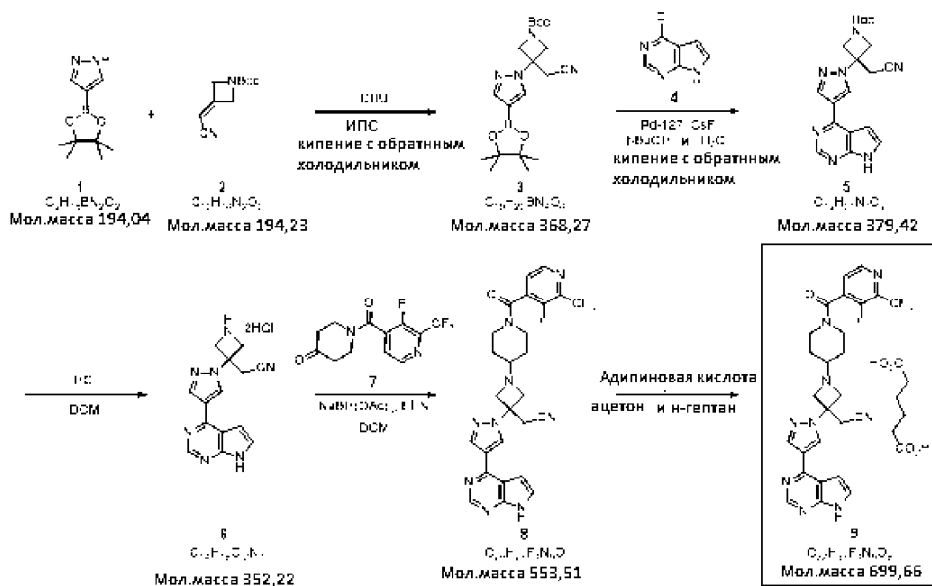


Схема I

трет-Бутил 3-(цианметил)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил)азетидин-1-карбоксилат (3).

В 1 л колбу, снабженную впускным отверстием для азота, термопарой и механической мешалкой последовательно добавляли изопропанол (ИПС, 200 мл), 1,8-диазабицикло[5,4,0]ундецен (ДБУ, 9,8 г, 64,4 ммоль, 0,125 экв.), 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол (1, 101 г, 520,51 ммоль, 1,01 экв.) и трет-бутил-3-(цианметил)азетидин-1-карбоксилат (2, 100 г, 514,85 ммоль) при комнатной температуре, чтобы генерировать реакционную смесь в виде суспензии. Полученную реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 30 мин с получением гомогенного раствора и смесь выдерживали при кипячении с обратным холодильником в течение дополнительных 2-3 ч. После того как реакция была завершена, контроль осуществляли по ВЭЖХ, н-гептан (400 мл) постепенно добавляли к реакционной смеси в течение 45 мин при поддержании кипения смеси с обратным холодильником. Сухой остаток осаждали во время добавления н-гептана. После завершения добавления н-гептана смесь постепенно охлаждали до комнатной температуры и перемешивали при температуре окружающей среды в течение дополнительного 1 ч. Твердый остаток был собран при фильтрации, промыт н-гептаном (200 мл) и высушен под вакуумом при 50°C с установлением равновесия с азотом до постоянной массы с получением трет-бутил-3-(цианметил)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил)азетидин-1-карбоксилата (3, 181 г, 199,9 г теоретический, 90,5%) в виде от белого до бледно-желтого твердого вещества.

Для 3:  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  8,31 (с, 1H), 7,74 (с, 1H), 4,45-4,23 (м, 2H), 4,23-4,03 (м, 2H), 3,56 (с, 2H), 1,38 (с, 9H), 1,25 (с, 12H) м.д.;

$^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  155,34, 145,50, 135,88, 116,88, 107,08 (уш.), 83,15, 79,36, 58,74 (уш.), 56,28, 27,96, 26,59, 24,63 м.д.;

$\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{BN}_4\text{O}_4$  (мол. масса 388,27), ВЖМС (EI)  $m/e$  389 ( $\text{M}^+\text{+H}$ ).

трет-Бутил-3-(4-(7Н-пирроло [2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил)-3-(цианметил)-азетидин-1-карбоксилат (5).

В 1-литровую колбу, снабженную впускным отверстием для азота, термопарой и механической мешалкой добавляли 4-хлоро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин (4, 39,6 г, 257,6 ммоль), трет-бутил-3-(цианметил)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил)азетидин-1-карбоксилат (3, 100 г, 257,6 ммоль, 1,0 экв.), фторид цезия (136,9 г, 901,4 ммоль, 3,5 экв.), трет-бутанол (250 мл), воду (250 мл), и [1,1'-бис(дициклогексилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (Pd-127, 351,4 мг, 0,46 ммоль, 0,0018 экв.) при комнатной температуре. Полученную реакционную смесь дегазировали и заполняли азотом 3 раза, прежде чем нагрели до температуры кипения и выдерживали при кипении с обратным холодильником в атмосфере азота в течение 20-24 ч. Когда данные ВЭЖХ показали, что реакция завершена, реакционную смесь охлаждали до 45-55°C 30 мин, произошло разделение на две фазы, водную фазу отбрасывали. В органическую фазу добавляли н-гептан (125 мл) в течение 30 мин при 45-55°C. Полученную смесь медленно охлаждали до температуры окружающей среды в течение 1 ч и перемешивали при температуре окружающей среды в течение дополнительных 2 ч. Твердый остаток собирали фильтрованием, промывали н-гептаном (100 мл) и сушили под вакуумом при 50°C с установлением равновесия с азотом до постоянной массы с получением трет-бутил-3-(4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил)-3-

(цианметил)-азетидин-1-карбоксилата (5,96,8 г, 97,7 г теоретический, 99%) в виде бледно-желтого твердого вещества.

Для 5:  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  8,89 (с, 1H), 8,68 (с, 1H), 8,44 (с, 1H), 7,60 (д,  $J=3,5$  Гц, 1H), 7,06 (д,  $J=3,6$  Гц, 1H), 4,62-4,41 (м, 2H), 4,31-4,12 (м, 2H), 3,67 (с, 2H), 1,39 (с, 9H) м.д.;

$^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  155,40, 152,60, 150,63, 149,15, 139,76, 129,53, 127,65, 122,25, 116,92, 113,21, 99,71, 79,45, 58,34 (уш.), 56,80, 27,99, 26,83 м.д.;

$\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_7\text{O}_2$  (мол. масса 379,4), ВЖМС (EI)  $m/e$  380 ( $\text{M}^+\text{H}$ ).

2-(3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил дигидрохлорид (6).

В 0,5-литровую колбу, снабженную впускным отверстием для азота, термопарой, воронкой дополнительный, и механической мешалкой были добавлены трет-бутил-3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-3-(цианметил)азетидин-1-карбоксилат (5, 15 г, 39,5 ммоль), вода (7,5 мл, 416 ммоль) и дихлорметан (75 мл) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при температуре окружающей среды до получения суспензии. К суспензии был добавлен раствор 5 М хлорида водорода ( $\text{HCl}$ ) в изопропанол (55 мл, 275 ммоль, 7,0 экв.) в течение 5 мин. Полученную реакционную смесь нагревали при слабом кипении и выдерживают при кипении в течение 3-4 ч. После того как реакция была завершена, что контролировали с помощью ВЭЖХ, трет-бутилметилловый эфир (ТВМЕ, 45 мл) добавляли к реакционной суспензии. Смесь постепенно охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 ч. Твердый остаток собирали фильтрованием, промывали трет-бутилметилловым эфиром (ТВМЕ, 45 мл) и сушили под вакуумом при  $50^\circ\text{C}$  с установлением равновесия с азотом до постоянной массы с получением дигидрохлоридной соли 2-(3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрила (6, 13,6 г, 13,9 г теоретический, 98%) в виде от почти белого до светло-желтого твердого вещества.

Для 6:  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  8,96 (с, 1H), 8,81 (с, 1H), 8,49 (с, 1H), 7,78 (д,  $J=3,8$  Гц, 1H), 7,09 (д,  $J=3,7$  Гц, 1H), 4,93 (д,  $J=12,8$  Гц, 2H), 4,74 (д,  $J=12,5$  Гц, 2H), 3,74 (с, 2H) м.д.;

$^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  151,35, 143,75, 143,33, 141,33, 132,03, 131,97, 115,90, 114,54, 113,85, 103,18, 59,72, 54,45 (2C), 27,02 м.д.;

$\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_7$  ( $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_7$  для свободного основания, мол. масса 279,30), ВЖМС (EI)  $m/e$  280 ( $\text{M}^+\text{H}$ ).

2-(3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил (8, свободное основание).

В 0,5-литровую колбу, снабженную впускным отверстием для азота, термопарой, дополнительной воронкой, и механической мешалкой были добавлены дигидрохлоридная соль 2-(3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил (6, 20 г, 5 6,78 ммоль), дихлорметан (200 мл) и триэтиламин (TEA, 16,62 мл, 119,2 ммоль, 2,1 экв.) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при температуре окружающей среды 30 мин до добавления 1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоизоникотиноил)пиперидин-4-она (7, 17,15 г, 57,91 ммоль, 1,02 экв.) к смеси. Затем смесь обрабатывали триацетоксиборгидридом натрия (25,34 г, 113,6 ммоль, 2,0 экв.) в течение 5 мин при температуре окружающей среды (ниже  $26^\circ\text{C}$ ). Полученную реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды 2 ч. После того как реакция была завершена, что контролировали с помощью ВЭЖХ, реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором  $\text{NaHCO}_3$  (200 мл). Две фазы разделяли и водную фазу экстрагировали хлористым метиленом (200 мл). Объединенную органическую фазу промывали 4% солевым раствором (100 мл) с последующей заменой растворителя хлористого метилена на ацетон путем перегонки. Полученный раствор желаемого сырого продукта (8) в ацетоне использовали непосредственно для последующего получения соли адипиновой кислоты. Небольшую часть раствора очищали с помощью колоночной хроматографии ( $\text{SiO}_2$ , 0-10%  $\text{MeOH}$  в  $\text{EtOAc}$  градиентное элюирование) с получением аналитически чистого 2-(3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрила (8 свободное основание) в виде почти белого твердого вещества.

Для 8:  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  12,17 (д,  $J=2,8$  Гц, 1H), 8,85 (с, 1H), 8,70 (м, 2H), 8,45 (с, 1H), 7,93 (т,  $J=4,7$  Гц, 1H), 7,63 (дд,  $J=3,6, 2,3$  Гц, 1H), 7,09 (дд,  $J=3,6, 1,7$  Гц, 1H), 4,10 (м, 1H), 3,78 (д,  $J=7,9$  Гц, 2H), 3,61 (т,  $J=7,9$  Гц, 1H), 3,58 (с, 2H), 3,46 (м, 1H), 3,28 (т,  $J=10,5$  Гц, 1H), 3,09 (ддд,  $J=13,2, 9,5, 3,1$  Гц, 1H), 2,58 (м, 1H), 1,83-1,75 (м, 1H), 1,70-1,63 (м, 1H), 1,35-1,21 (м, 2H) м.д.;

$^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  160,28, (153,51, 150,86), 152,20, 150,94, 149,62, (146,30, 146,25), 139,48, (134,78, 134,61), (135,04, 134,92, 134,72, 134,60, 134,38, 134,26, 134,03, 133,92), 129,22, 127,62, 126,84, 121,99, 122,04, (124,77, 122,02, 119,19, 116,52), 117,39, 113,00, 99,99, 61,47, 60,49, 57,05, 44,23, 28,62, 27,88, 27,19 м.д.;

$\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{F}_4\text{N}_9\text{O}$  (мол. масса 553,51), ВЖМС (EI)  $m/e$  554,1 ( $\text{M}^+\text{H}$ ).

2-(3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил адипат (9).

В 0,5-литровую колбу, снабженную механической мешалкой, термопарой, капельной воронкой и крапом ввода азота, был добавлен раствор неочищенного 2-(3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-

пирозол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрила (8 свободное основание, 31,38 г, 56,7 ммоль) в ацетоне (220 мл) и адипиновая кислота (8,7 г, 59,53 ммоль, 1,05 экв.) при комнатной температуре. Затем реакционную смесь нагревали с обратным холодильником для получения раствора. н-Гептан (220 мл) постепенно добавляли к реакционной смеси при 40-50°C в течение 1 ч. Полученную смесь постепенно охлаждали до комнатной температуры в течение 1 ч и перемешивали при температуре окружающей среды в течение дополнительных 16 ч. Твердый остаток собирали фильтрованием, промывали н-гептаном (2×60 мл) и сушили под вакуумом при 50°C с установлением равновесия с азотом до постоянной массы с получением 2-(3-(4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пирозол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил адипата (9, 34,0 г, 39,7 г теоретической, 85,6% для двух стадий) в виде от белого до совсем белого твердого вещества.

Для 9:  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  12,16 (с, 1Н), 12,05 (уш. с, 2Н), 8,85 (с, 1Н), 8,72 (с, 1Н), 8,69 (д,  $J=4,7$  Гц, 1Н), 8,45 (с, 1Н), 7,93 (т,  $J=4,7$  Гц, 1Н), 7,63 (дд,  $J=3,6, 2,3$  Гц, 1Н), 7,09 (дд,  $J=3,6, 1,7$  Гц, 1Н),  $\delta$  4,11 (дт,  $J=11,0, 4,4$  Гц, 1Н), 3,77 (д,  $J=7,8$  Гц, 2Н), 3,60 (т,  $J=7,8$  Гц, 2Н), 3,58 (с, 2Н), 3,44 (дт,  $J=14,4, 4,6$  Гц, 1Н), 3,28 (т,  $J=10,4$  Гц, 1Н), 3,09 (ддд,  $J=13,2, 9,6, 3,2$  Гц, 1Н), 2,58 (тт,  $J=8,6, 3,5$  Гц, 1Н), 2,28-2,17 (м, 4Н), 1,83-1,74 (м, 1Н), 1,67 (д,  $J=11,0$  Гц, 1Н), 1,59-1,46 (м, 4Н), 1,37-1,21 (м, 2Н) м.д.;

$^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  174,38, 160,29, (153,52, 150,87), 152,20, 150,94, 149,63, (146,30, 146,25), 139,48, (134,79, 134,62), (135,08, 134,97, 134,74, 134,62, 134,38, 134,28, 134,04, 133,93), 129,21, 127,62, 126,84, 122,05, (124,75, 122,02, 119,29, 116,54), 117,39, 113,01, 99,99, 61,47, 60,50, 57,06, 44,24, 33,42, 30,70, 28,63, 27,89, 27,20, 24,07 м.д.;

$\text{C}_{32}\text{H}_{33}\text{F}_4\text{N}_9\text{O}_5$  (мол. масса 699,66;  $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{F}_4\text{N}_9\text{O}$  для свободного основания, мол. масса, 553,51), ВЖМС (EI)  $m/e$  554,0 ( $\text{M}^+\text{+H}$ ).

Пример 2. Альтернативный синтез 2-(3-(4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пирозол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрила.

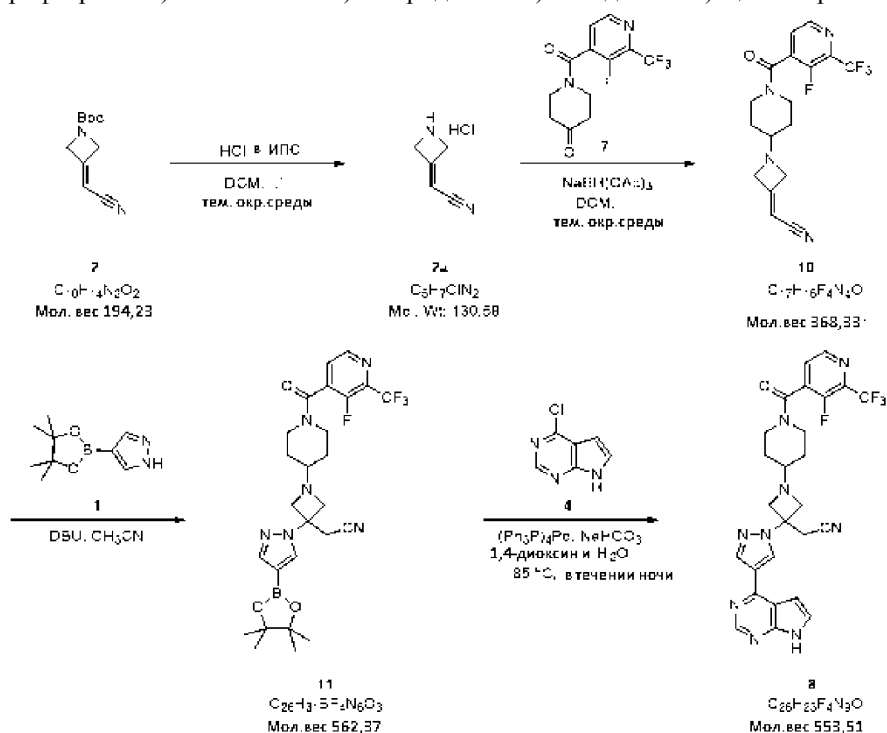


Схема II

2-(Азетидин-3-илиден)ацетонитрил гидрохлорид (2а).

В 0,5-литровую колбу, снабженную впускным отверстием для азота, термопарой и механической мешалкой, были добавлены трет-бутил-3-(цианметил)азетидин-1-карбоксилат (2,30 г, 154,46 ммоль) и метилхлорид (300 мл) при температуре окружающей среды. Затем раствор обрабатывали раствором 5 М хлористого водорода (HCl) в раствора изопропанола (2 94,2 мл, 1,54 моль, 10 экв.) при температуре окружающей среды и полученную реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 18 ч. После завершения реакции, что определяли с помощью ВЭЖХ, добавляли суспензию трет-бутилметилового эфира (ТБМЭ, 150 мл) и смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 2 ч. Твердый остаток собирали фильтрованием, промывали н-гептаном (2×100 мл) и сушили на фильтровальной воронке при температуре окружающей среды в течение 3 ч для получения 2-(азетидин-3-илиден)ацетонитрил гидрохлорида (2а, 13,7 г, 20,2 г теоретической, 67,8%) в виде белого твердого вещества.

Для 2а:  $^1\text{H}$  ЯМР (500 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  9,99 (с, 2H), 5,94 (п,  $J=2,5$  Гц, 1H), 4,85-4,80 (м, 2H), 4,77-4,71 (м, 2H) м.д.;

$^{13}\text{C}$  ЯМР (126 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  155,65, 114,54, 94,78, 55,26, 54,63 м.д.;

$\text{C}_5\text{H}_7\text{ClN}_2$  (мол. масса 130,58;  $\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2$  для свободного основания, мол. масса 94,11), ВЖМС (EI)  $m/e$  95 ( $\text{M}^+\text{H}$ ).

2-(1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-илиден)ацетонитрил (10).

В 0,25-литровую колбу, снабженную впускным отверстием для азота, термопарой и магнитной мешалкой, были добавлены 2-(азетидин-3-илиден)ацетонитрил гидрохлорид (2а, 4,5 г, 34,46 ммоль), 1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-он (7, 10 г, 34,46 ммоль, 1,0 экв.) и метиленхлорид (100 мл) при температуре окружающей среды и полученную смесь затем обрабатывали триацетоксиборгидридом натрия (14,6 г, 68,93 ммоль, 2,0 экв.) при температуре окружающей среды. Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды 2 ч перед гашением насыщенным раствором бикарбоната натрия ( $\text{NaHCO}_3$ ) в воде (50 мл). Две фазы разделили и водную фазу экстрагировали дихлорметаном (200 мл). Объединенную органическую фазу промывали водой (50 мл) и насыщенным раствором соли (50 мл) и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого продукта (10), который очищали с помощью колоночной хроматографии ( $\text{SiO}_2$ , 0-10% этилацетат в гексане при градиентном элюировании) с получением 2-(1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-илиден)ацетонитрила (10, 9,5 г, 12,7 г теоретический, 74,8%) в виде белого твердого вещества.

Для 10:  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,57 (д,  $J=4,7$  Гц, 1H), 7,54 (т,  $J=4,6$  Гц, 1H), 5,29 (п,  $J=2,4$  Гц, 1H), 4,18-4,08 (м, 1H), 4,08-4,03 (м, 2H), 3,98-3,94 (м, 2H), 3,57-3,39 (м, 2H), 3,17-3,04 (м, 1H), 2,56 (тт,  $J=7,4, 3,5$  Гц, 1H), 1,86-1,77 (м, 1H), 1,75-1,64 (м, 1H), 1,54-1,43 (м, 1H), 1,43-1,31 (м, 1H) м.д.;

$^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  161,34, 160,73, 152,62 (д,  $J=269,1$  Гц), 145,75 (д,  $J=6,1$  Гц), 136,73 (qd,  $J=36,1, 12,0$  Гц), 134,56 (д,  $J=16,9$  Гц), 126,89, 120,58 (кв. д.,  $J=275,0, 4,9$  Гц), 115,11, 92,04, 62,05, 60,57 (2С), 44,47, 39,42, 29,38, 28,47 м.д.;

$\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{F}_4\text{N}_4\text{O}$  (мол. масса 368,33), ВЖМС (EI)  $m/e$  369 ( $\text{M}^+\text{H}$ ).

2-(1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил (11).

В колбу 25 мл, снабженную впускным отверстием для азота, термопарой и магнитной мешалкой, были добавлены 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол (1, 210 мг, 1,08 ммоль, 1,08 экв.), 2-(1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-илиден)ацетонитрил (10, 370 мг, 1,0 ммоль) и ацетонитрил (3 мл) при температуре окружающей среды. Затем раствор обработали 1,8-дизабицикло[5,4,0]ундецен (ДБУ, 173 мг, 0,17 мл, 1,12 ммоль, 1,12 экв.) при температуре окружающей среды и полученную реакционную смесь нагревали до  $50^\circ\text{C}$  и перемешивали при  $50^\circ\text{C}$  в течение ночи. Когда реакция была завершена, что определялось с помощью ВЭЖХ, реакционную смесь перенесли прямо на силикагельную колонку для хроматографического очищения (0-2,5%  $\text{MeOH}$  в этилацетате градиентное элюирование) с получением 2-(1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрила (11, 263 мг, 562,4 мг теоретический, 46,7%) в виде белого твердого вещества.

Для 11:  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  8,64 (д,  $J=4,7$  Гц, 1H), 8,22 (д,  $J=0,6$  Гц, 1H), 7,88 (дд,  $J=4,7$  Гц, 1H), 7,69 (с, 1H), 4,10-3,99 (м, 1H), 3,58 (д,  $J=7,8$  Гц, 2H), 3,52-3,42 (м, 2H), 3,44 (с, 2H), 3,41-3,33 (м, 1H), 3,28-3,15 (м, 1H), 3,03 (ддд,  $J=12,9, 9,2, 3,2$  Гц, 1H), 2,51-2,44 (м, 1H), 1,77-1,66 (м, 1H), 1,64-1,54 (м, 1H), 1,28-1,17 (м, 2H), 1,24 (с, 12H) м.д.;

$^{13}\text{C}$  ЯМР (101 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  160,22, 152,13 (д,  $J=265,8$  Гц), 146,23 (д,  $J=5,7$  Гц), 145,12, 135,41, 134,66 (д,  $J=16,9$  Гц), 134,43 (qd,  $J=35,0, 11,7$  Гц), 127,58, 120,61 (qd,  $J=274,4, 4,6$  Гц), 117,35, 106,59 (уш.), 83,10, 61,40, 60,53 (2С), 56,49, 44,17, 38,99, 28,55, 27,82, 27,02, 24,63 м.д.;

$\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{BF}_4\text{N}_6\text{O}_3$  (мол. масса 562,37), ВЖМС (EI)  $m/e$  563 ( $\text{M}^+\text{H}$ ).

2-(3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил (8).

В колбу 25 мл, снабженную впускным отверстием для азота, термопарой и магнитной мешалкой, были добавлены 2-(1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)-изоникотиноил)пиперидин-4-ил)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил (11, 307 мг, 0,546 ммоль), 4-хлор-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин (4, 84,8 мг, 0,548 ммоль, 1,0 экв.), бикарбонат натрия ( $\text{NaHCO}_3$ , 229 мг, 2,72 ммоль, 5,0 экв.), вода (1,6 мл) и 1,4-диоксин (1,6 мл) при комнатной температуре. Смесь затем обрабатывали тетраakis(трифенилфосфин)палладием (0) (12,8 мг, 0,011 ммоль, 0,02 экв.) при температуре окружающей среды и полученную реакционную смесь дегазировали и наполняли азотом 3 раза перед нагревом до  $85^\circ\text{C}$ . Реакционная смесь перемешивалась при  $85^\circ\text{C}$  в атмосфере азота в течение ночи. Когда реакция была завершена, что определялось с помощью ВЭЖХ, реакционную смесь концентрировали досуха при пониженном давлении, и желаемый продукт, 2-(3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил (8 свободное основание, 135 мг, 302,2 мг теоретический, 44,6%), был получен в виде не совсем белого твердого

вещества при непосредственном очищении на силикагельной ( $\text{SiO}_2$ ) хроматографической колонке (0-10% этилацетат в гексане градиентное элюирование) высушенной реакционной смеси. Соединение полученное таким способом синтеза, идентично во всех сопоставимых аспектах соединению 8, полученному при применении способа синтеза, описанного выше в примере 1.

Пример 3. Синтез (3-фтор-2-(трифторметил)пиридин-4-ил) (1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)метанона.

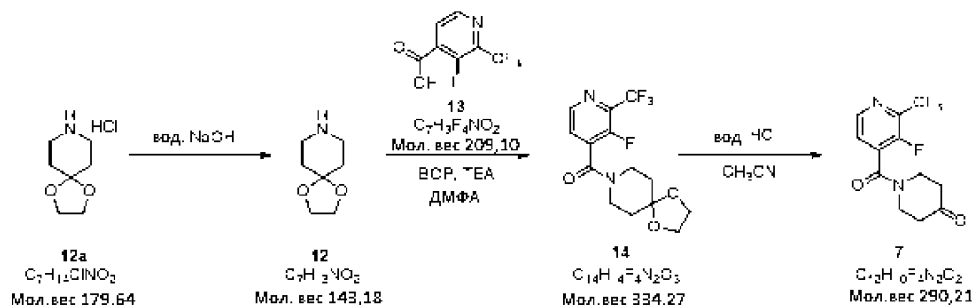


Схема III

(3-фтор-2-(трифторметил)пиридин-4-ил) (1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)метанон (14).

В 30-литровый реактор, оснащенный механической мешалкой, капельной воронкой и септой, загружали гидроксид натрия ( $\text{NaOH}$ , 1,4 кг, 35 моль, 2,0 экв.) и воду (7 л) и полученный раствор обработали 1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан гидрохлоридом (3,13 кг, 17,43 моль) при температуре окружающей среды. Затем полученную смесь перемешивали при температуре окружающей среды 30 мин перед насыщением твердым хлоридом натрия (1,3 кг) и экстрагировали 2-метил-тетрагидрофураном (3×7 л). Объединенную органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 1,3 кг) и концентрировали при пониженном давлении (70 мм рт.ст.) при  $50^\circ\text{C}$  после удаления осушающего реагента, сульфата натрия ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), фильтрованием. Полученное таким образом желтое масло перегнали при пониженном давлении (80 мм рт.ст., точка кипения от  $115$  до  $120^\circ\text{C}$ ) с получением 1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декана (2,34 кг, 2,496 кг теоретический, 93,8%) в виде прозрачного масла, которое непосредственно применяют в последующей реакции кросс-сочетания.

В сухой 100-литровый реактор, оснащенный механической мешалкой, капельной воронкой, термометром и вакуумным выпускным отверстием, загружали 3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиновую кислоту (13, 3,0 кг, 14,35 моль), бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)фосфония гексафторфосфат (реагент BOP, 7,6 кг, 17,2 моль, 1,2 экв.), 1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан (2,34 кг, 16,36 моль, 1,14 экв.) и  $N,N$ -диметилформамид (DMF, 18 л) при комнатной температуре. Полученный раствор перемешивали при температуре окружающей среды в течение 20 мин перед охлаждением от  $5$  до  $10^\circ\text{C}$ . Затем триэтиламин ( $\text{Et}_3\text{N}$ , 4 л, 28,67 моль, 2,0 экв.) добавляли в реакционную смесь в течение 1 ч и внутренняя температура поддерживалась в пределах от  $5$  и  $10^\circ\text{C}$  во время добавления триэтиламина. Полученный таким образом темно-коричневый раствор перемешивали в течение 12 ч при температуре окружающей среды (приблизительно  $20^\circ\text{C}$ ) и затем охлаждали до около  $10^\circ\text{C}$ . При интенсивном перемешивании 18 л насыщенного водного раствора бикарбоната натрия ( $\text{NaHCO}_3$ ) и 36 л воды последовательно добавляли к охлажденной реакционной смеси и выдерживали внутреннюю температуру до  $15^\circ\text{C}$ . Осадок (осадок на фильтре), полученный таким образом собирают фильтрацией. Водную фазу затем насыщают 12 кг твердого хлорида натрия ( $\text{NaCl}$ ) и экстрагируют  $\text{EtOAc}$  (2×18 л). Объединенный органический слой последовательно промывали насыщенным бикарбонатом натрия ( $\text{NaHCO}_3$ ) водным раствором (18 л) и водой (2×18 л). Собранный осадок на фильтре затем растворяли обратно в органической фазе и полученный темно-коричневый раствор промывали водой (2×18 л), а затем концентрировали при пониженном давлении ( $40$ - $50^\circ\text{C}$ , 30 мм рт.ст.) с получением приблизительно 5,0 кг неочищенного целевого продукта (14) в виде вязкого масла коричневого цвета. Неочищенный продукт, полученный выше, затем растворяли в  $\text{EtOH}$  (8,15 л) при  $50^\circ\text{C}$  и полученный раствор обрабатывали водой (16,3 л) в течение 30 мин при приблизительно  $50^\circ\text{C}$ . Коричневый раствор был отобран, перед тем как постепенно охлажден до температуры окружающей среды (около  $20^\circ\text{C}$ ) в течение 3 ч при перемешивании и перемешивали при температуре окружающей среды в течение 12 ч. Твердые вещества собирали фильтрованием, промывали смесью этанола и воды ( $\text{EtOH}$ :  $\text{H}_2\text{O}$ =1: 20, 2 л) и сушили при пониженном давлении (50 мм рт.ст.) при температуре приблизительно  $60^\circ\text{C}$  в течение 24 ч с получением (3-фтор-2-(трифторметил) пиридин-4-ил) (1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)метанона (14, 3,98 кг, 4,797 кг теоретический, 83,0%) в виде белого твердого вещества.

Для 14:  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  8,64 (д,  $^3J_{\text{HH}}=4,68$  Гц, 1H, NCH в пиридине), 7,92 (дд,  $^3J_{\text{HH}}=4,68$  Гц,  $^4J_{\text{HF}}=4,68$  Гц, 1H, NCSH в пиридине), 3,87-3,91 (м, 4H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}$ ), 3,70 (уш. с, 2H, один протон  $\text{NCH}_2$  в пиперидиновом кольце, один протон другого  $\text{NCH}_2$  в пиперидиновом кольце, оба в аксиальном положении), 3,26 (т,  $^3J_{\text{HH}}=5,86$  Гц, 2H, один протон  $\text{NCH}_2$  в пиперидиновом кольце, один протон

другого  $\text{NCH}_2$  в пиперидиновом кольце, оба в экваториальном положении), 1,67 (д,  $^3J_{\text{HH}}=5,86$  Гц, 2H, один протон  $\text{NCCCH}_2$  в пиперидиновом кольце, один протон другого  $\text{NCCCH}_2$  в пиперидиновом кольце, оба в экваториальном положении), 1,58 (уш. с, 2H, один протон  $\text{NCCCH}_2$  в пиперидиновом кольце, один протон другого  $\text{NCCCH}_2$  в пиперидиновом кольце, оба в аксиальном положении) м.д.;

$^{13}\text{C}$  ЯМР (75 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  161,03 (N-C=O), 151,16 (д,  $^1J_{\text{CF}}=266,03$  Гц, C-F), 146,85 (д,  $^4J_{\text{CF}}=4,32$  Гц, NCH в пиридине), 135,24 (д,  $^2J_{\text{CF}}=11,51$  Гц, C-C=O), 135,02 (квартет,  $^2J_{\text{CF}}=34,57$  Гц,  $\text{NCCF}_3$ ), 128,24 (д,  $^4J_{\text{CF}}=7,48$  Гц,  $\text{NCCCH}$  в пиридине), 119,43 (д×квартет,  $^1J_{\text{CF}}=274,38$  Гц,  $^3J_{\text{CF}}=4,89$  Гц,  $\text{CF}_3$ ), 106,74 ( $\text{OCCO}$ ), 64,60 ( $\text{OCCO}$ ), 45,34 (NC в пиперидиновом кольце), 39,62 (NC в пиперидиновом кольце), 34,79 (N( $\text{NCC}$  в пиперидиновом кольце), 34,10 ( $\text{NCC}$  в пиперидиновом кольце) м.д.;

$^{19}\text{F}$  ЯМР (282 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  -64,69 (д,  $^4J_{\text{FF}}=15,85$  Гц,  $\text{F}_3\text{C}$ ), -129,26 (д×квартет,  $^4J_{\text{FF}}=15,85$  Гц,  $^4J_{\text{FH}}=3,96$  Гц, FC) м.д.;

$\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{F}_4\text{N}_2\text{O}_3$  (мол. масса, 334,27), ВЖМС (EI) m/e 335,1 ( $\text{M}^++\text{H}$ ).

(3-фтор-2-(трифторметил)пиридин-4-ил) (1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)метанон (7).

В 5-литровую 4-горлую круглодонную колбу, снабженную механической мешалкой, термодарой, капельной воронкой и впускным отверстием для азота, загружали (3-фтор-2-(трифторметил)пиридин-4-ил) (1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)метанон (14, 100 г, 0,299 моль) в ацетонитриле ( $\text{ACN}$ , 400 мл) при температуре окружающей среды. Полученный раствор охлаждали до температуры ниже  $10^\circ\text{C}$  перед обработкой 6,0 н. водным раствором соляной кислоты ( $\text{HCl}$ ) (450 мл, 2,70 моль, 9,0 экв.), а внутренняя температура поддерживалась на уровне ниже  $10^\circ\text{C}$ . Полученную реакционную смесь затем постепенно нагревали до комнатной температуры и дополнительное количество 6,0 н. водного раствора соляной кислоты ( $\text{HCl}$ ) (1050 мл, 6,30 моль, 21,0 экв.) медленно вводили в реакционную смесь при температуре окружающей среды в течение 8 ч через капельную воронку. Когда реакция была завершена, что контролировалось с помощью ВЭЖХ, реакционная смесь затем была охлаждена до  $0^\circ\text{C}$ , перед тем как была обработана 30% водным раствором гидроксида натрия ( $\text{NaOH}$ , 860 мл, 8,57 ммоль, 28,6 экв.) в то время как внутренняя температура поддерживалась на уровне ниже  $10^\circ\text{C}$ . Полученную реакционную смесь нагревали до комнатной температуры перед добавлением твердого бикарбоната натрия ( $\text{NaHCO}_3$ , 85,0 г, 1,01 моль, 3,37 экв.) в течение 1 ч. Затем смесь экстрагировали этилацетатом (2×1,2 л) и объединенную органическую фазу промывали 16% водным раствором хлорида натрия (2×800 мл) и концентрировали приблизительно до 1,0 л с помощью вакуумной перегонки. n-Гептан (2,1 л) был добавлен к остатку, и полученную смесь концентрировали до 1,0 л с помощью вакуумной перегонки. К концентрированной смеси добавили n-гептан (2,1 л). Полученную белую суспензию концентрировали до 1,0 л с помощью вакуумной перегонки. В белую суспензию затем добавляли трет-бутилметилэфир (МТБЭ, 1,94 л). Белый мутный раствор нагревали до  $40^\circ\text{C}$ , чтобы получить прозрачный. Полученный раствор концентрируют до около 1,0 л с помощью вакуумной перегонки. Смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 1 ч. Белый осадок собирали фильтрованием, промывали n-гептаном (400 мл) и сушили на фильтре в атмосфере азота с тяговым вакуумом с получением (3-фтор-2-(трифторметил)пиридин-4-ил) (1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)метанона (7, 78,3 г, 86,8 г теоретический, 90,2%) в виде не совсем белого твердого вещества.

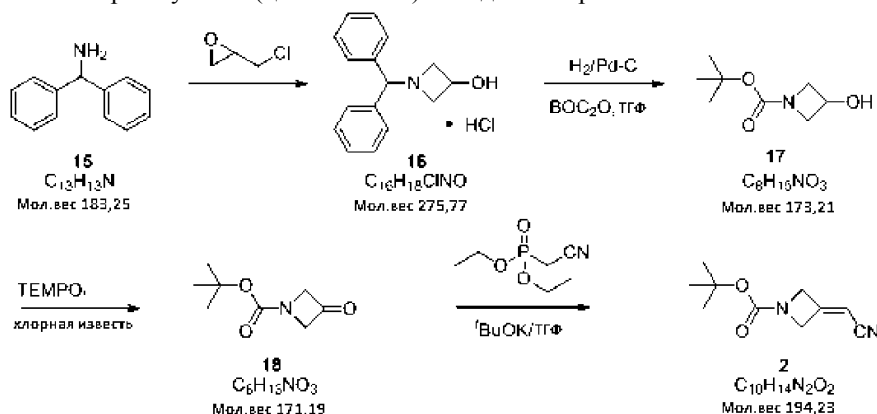
Для 7:  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  8,68 (д,  $^3J_{\text{HH}}=4,69$  Гц, 1H, NCH в пиридине), 7,97 (дд,  $^3J_{\text{HH}}=4,69$  Гц,  $^4J_{\text{HF}}=4,69$  Гц, 1H,  $\text{NCCCH}$  в пиридине), 3,92 (уш. с, 2H, один протон  $\text{NCH}_2$  в пиперидиновом кольце, один протон другого  $\text{NCH}_2$  в пиперидиновом кольце, оба в аксиальном положении), 3,54 (т,  $^3J_{\text{HH}}=6,15$  Гц, 2H, один протон  $\text{NCH}_2$  в пиперидиновом кольце, один протон другого  $\text{NCH}_2$  в пиперидиновом кольце, оба в экваториальном положении), 2,48 (т,  $^3J_{\text{HH}}=6,44$  Гц, 2H,  $\text{NCCCH}_2$ ), 2,34 (т,  $^3J_{\text{HH}}=6,15$  Гц, 2H,  $\text{NCCCH}_2$ ) м.д.;

$^{13}\text{C}$  ЯМР (75 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  207,17 (C=O), 161,66 (N-C=O), 151,26 (д,  $^1J_{\text{CF}}=266,89$  Гц, C-F), 146,90 (д,  $^4J_{\text{CF}}=6,05$  Гц, NCH в пиридине), 135,56 (C-C=O), 134,78 -135,56 (м,  $\text{NCCF}_3$ ), 128,27 (д,  $^3J_{\text{CF}}=7,19$  Гц,  $\text{NCCCH}$  в пиридине), 119,52 (д×квартет,  $^1J_{\text{CF}}=274,38$  Гц,  $^3J_{\text{CF}}=4,89$  Гц,  $\text{CF}_3$ ), 45,10 (NC в пиперидиновом кольце) м.д., один углерод ( $\text{NCC}$  в пиперидиновом кольце) отсутствует из-за перекрытия с  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ;

$^{19}\text{F}$  ЯМР (282 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  -64,58 (д,  $^4J_{\text{FF}}=15,85$  Гц,  $\text{F}_3\text{C}$ ), -128,90 (д×квартет,  $^4J_{\text{FF}}=15,85$  Гц,  $^4J_{\text{FH}}=4,05$  Гц, FC) м.д.;

$\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{F}_4\text{N}_2\text{O}_2$  (мол. масса, 290,21), ВЖМС (EI) m/e 291,1 ( $\text{M}^++\text{H}$ ).

Пример 4. Синтез трет-бутил-3-(цианметил)азетидин-1-карбоксилата.



#### Пример IV

1-Бензгидрилазетидин-3-ол гидрохлорид (16).

Раствор дифенилметанамина (2737 г, 15,0 моль, 1,04 экв.) в метаноле (MeOH, 6 л) обрабатывали 2-(хлорметил)оксираном (1330 г, 14,5 моль) с помощью капельной воронки при температуре окружающей среды. В течение первоначального добавления было замечена небольшая эндотерма. Полученную реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 3 дней, прежде чем нагревали до кипения с обратным холодильником в течение дополнительных 3 дней. Когда ТСХ показала, что реакция считалась завершённой, реакционную смесь сначала охлаждали до комнатной температуры, а затем до 0-5°C на ледяной бане. Твёрдые вещества собирали фильтрованием и промыли ацетоном (4 л) с получением первой порции сырого целевого продукта (1516 г). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и полученное полутвёрдое вещество разбавляли ацетоном (1 л). Затем это твёрдое вещество собирали фильтрованием с получением второй порции сырого целевого продукта (221 г). Неочищенный продукт, 1-бензгидрилазетидин-3-ол гидрохлорид (1737 г, 3998,7 г теоретический выход 43,4%), оказался достаточно чистым для использования без дополнительной очистки в последующей реакции.

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12,28 (уш. д, 1H), 7,7 (м, 5H), 7,49 (м, 5H), 6,38 (д, 1H), 4,72 (уш. с, 1H), 4,46 (м, 1H), 4,12 (м, 2H), 3,85 (м, 2H) м.д.;

C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClNO (мол. масса 275,77; C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>NO для свободного основания, мол. масса, 239,31), ВЖМС (EI) m/e 240 (M<sup>+</sup>+H).

трет-Бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат (17).

Суспензию 1-бензгидрилазетидин-3-ол гидрохлорида (625 г, 2,27 моль) в 10% раствора водного карбоната натрия (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 5 л) и дихлорметана (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 5 л) перемешивали при температуре окружающей среды до полного растворения всех твёрдых веществ. Два слоя были разделены, и водный слой экстрагировали дихлорметаном (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 2 л). Объединённые органические экстракты сушили над сульфатом натрия (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) и концентрировали при пониженном давлении. Полученный неочищенный свободное основание 1-бензгидрилазетидин-3-ол затем растворяли в ТГФ (6 л) и раствор помещали в большую бомбу Парра. Ди-трет-бутилдикарбонат (Boc<sub>2</sub>O, 545 г, 2,5 моль, 1,1 экв.) и 20% палладий (Pd) на углеводе (125 г, 50% влажность) были добавлены в бомбу Парра. В колбу загрузили 30 фунт на кВ дюйм газообразного водорода (H<sub>2</sub>) и перемешивали при постоянном давлении в атмосфере водорода (сосуд заряжали три раза, чтобы поддерживать давление в 30 фунт на кВ дюйм) при температуре окружающей среды в течение 18 ч. Когда ВЭЖХ показала, что реакция прошла полностью (больше водорода не было поглощено), реакционную смесь фильтровали через слой целита и слой целита промывали ТГФ (4 л). Фильтраты концентрировали при пониженном давлении, чтобы удалить растворитель, и остаток загружали на колонку Biotage 150 с минимальным количеством дихлорметана (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Колонку элюировали 20-50% этилацетатом в н-гептане и фракции, содержащие чистый искомый продукт, трет-бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат, были собраны и объединены. Растворители удаляли при пониженном давлении с получением трет-бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата (357 г, 393,2 г теоретический выход, 90,8%) в виде бесцветного масла, которое затвердевало при стоянии при температуре окружающей среды в вакууме.

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>), δ 4,56 (м, 1H), 4,13 (м, 2H), 3,81 (м, 2H), 1,43 (с, 9H) м.д.

трет-Бутил-3-оксоазетидин-1-карбоксилат (18).

Раствор трет-бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата (50 г, 289 ммоль) в этилацетате (400 мл) охладили до 0°C. Полученный раствор затем обрабатывали твёрдым TEMPO (0,5 г, 3,2 ммоль, 0,011 экв.) и раствором бромида калия (KBr, 3,9 г, 33,2 ммоль, 0,115 экв.) в воде (60 мл) при 0-5°C. При поддержании температуры реакции между 0-5°C добавляли насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (NaHCO<sub>3</sub>, 450 мл) и водный раствор гипохлорита натрия (NaClO, 10-13% активного хлора, 450 мл). После того как был добавлен раствор гипохлорита натрия, цвет реакционной смеси мгновенно изменялся.



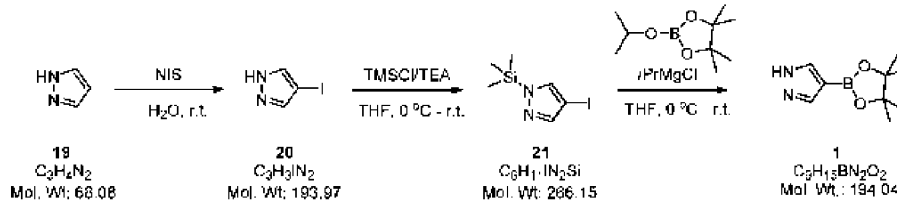
При добавлении дополнительного количества раствора гипохлорита натрия цвет реакционной смеси постепенно исчез. Когда ТСХ показала, что весь исходный материал был израсходован, цвет реакционной смеси более не изменялся. Реакционную смесь затем разбавляли этилацетатом (EtOAc, 500 мл) и два слоя разделяли. Органический слой промывали водой (500 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (500 мл) и сушили над сульфатом натрия (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Затем растворитель удаляли при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, трет-бутил-3-оксоазетидин-1-карбоксилата (48 г, 49,47 г теоретический, 97% выход), который оказался достаточно чистым и был использован непосредственно в последующей реакции без дополнительной очистки.

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>, 300 МГц) δ 4,65 (с, 4H), 1,42 (с, 9H) м.д.  
трет-Бутил-3-(цианметил)азетидин-1-карбоксилат (2).

Диэтилцианметилфосфат (745 г, 4,20 моль, 1,20 экв.) и безводный тетрагидрофуран (ТГФ, 9 л) были добавлены в 4-горлую колбу, снабженную термопарокарманом, капельной воронкой и защитной трубкой с азотом, при температуре окружающей среды. Раствор охлаждали на ледяной бане с метанолом до -14°C и 1,0 М раствор трет-бутоксид калия (t-BuOK) в безводном тетрагидрофуране (ТГФ, 3,85 л, 3,85 моль, 1,1 экв.) добавляли в течение 20 мин, поддерживая температуру реакции ниже -5°C. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при -10°C и раствор 1-трет-бутоксикарбонил-3-азетидинона (600 г, 3,50 моль) в безводном тетрагидрофуране (ТГФ, 2 л) добавляли в течение 2 ч, поддерживая внутреннюю температуру ниже -5°C. Реакционная смесь перемешивалась при от -5 до -10°C более часа и затем медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивают при температуре окружающей среды целую ночь. Затем реакционную смесь разбавляют водой (4,5 л) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (NaCl, 4,5 л) и экстрагировали этилацетатом (EtOAc, 2×9 л). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (6 л) и сушили над безводным сульфатом натрия (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток разбавляли дихлорметаном (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 4 л), до того как он абсорбировался на силикагеле (SiO<sub>2</sub>, 1,5 кг). Неочищенный продукт, который был абсорбирован силикагелем, очищали колоночной флэш-хроматографией (SiO<sub>2</sub>, 3,5 Кг, 0-25% EtOAc/гексан градиентное элюирование), что дало трет-бутил-3-(цианметил)азетидин-1-карбоксилат (2, 414,7 г, 679,8 г теоретический, 61% выход) в виде белого твердого вещества.

Для 2: <sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) δ 5,40 (м, 1H), 4,70 (м, 2H), 4,61 (м, 2H), 1,46 (с, 9H) м.д.; C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (мол. масса, 194,23), ВЖМС (EI) m/e 217 (M<sup>+</sup>+Na).

Пример 5. Синтез 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола.



Пример V

4-йодпиразол (20).

В колбу, оснащенную впускным отверстием для азота, капельной воронкой, термопарокарманом и механической мешалкой, загружали пиразол (1, 450 г, 6,62 моль) и тетрагидрофуран (ТГФ, 5 л) при температуре окружающей среды. Затем смесь охлаждали до 10°C и добавили N-йодсукцинимид (NIS, 1490 г, 6,62 моль, 1,0 экв.) к смеси порциями в виде твердого вещества приблизительно при 10°C. Полученную реакционную смесь затем перемешивали при температуре окружающей среды в течение 1 ч (более длительное время для реакции может быть необходимо в зависимости от температуры окружающей среды). Затем смесь фильтровали и ТГФ удаляли при пониженном давлении. Остаток суспендировали в этилацетате (6 л) и нерастворимые вещества отфильтровывали. Темный фильтрат последовательно промывали насыщенным водным раствором натрия тиосульфата (2×3 л) (органический слой светлел до бледно-желтого), водой (2×3 л) и насыщенным раствором соли (2 л). Полученный органический слой сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением 4-йодпиразола (1138 г, 1284,1 г теоретический, 88,6%) в виде от белого до бледно-желтого твердого вещества после сушки в вакуумной печи при около 30°C в течение ночи.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 13,17(уш. с, 1H), 7,93 (уш. с, 1H), 7,55 (уш. с, 1H) м.д.; C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>IN<sub>2</sub> (Мол.масса, 193,97) ВЖМС (EI) m/e 195 (M<sup>+</sup>+H).

1-Триметилсилил-4-йодпиразол (21). В колбу, снабженную обратным холодильником, впускным краном для азота, механической мешалкой, и термопарокарманом, загружали 4-йодпиразол (200 г, 1,03 моль) и ТГФ (2 л) при комнатной температуре. К этому раствору был добавлен триэтиламин (ТЭА, 158 мл, 1,13 моль, 1,1 экв.) и полученный раствор охлаждали до 0°C на ледяной соляной бане. К этому раствору добавили хлортриметилсилан (TMS-Cl, 137 мл, 1,08 моль, 1,05 экв.) при энергичном перемешивании, позволяя температуре достичь 18°C (реакционная смесь становится очень густой и трудно перемешивается, но со временем становится подвижной). Когда экзотермический процесс спал, холодную баню

удаляли и реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. Контроль за ходом реакции осуществляли с помощью ГХ и было обнаружено, что считать завершенной ее можно после около 1 ч (выборка из реакции должна быть сделана без доступа воздуха при разбавлении сухим растворителем, чтобы предотвратить гидролиз ТМС). Реакционную смесь растворили в *n*-гептане (2 л) перед фильтрацией в атмосфере азота. Растворитель удаляли из фильтрата при пониженном давлении вентиляционным роторным испарителем в атмосфере азота. Остаточное масло разбавляли *n*-гептаном (1 л) и повторно концентрировали. Если твердые вещества образовывались при добавлении *n*-гептана, то была необходима вторая фильтрация. Затем остаток перегоняли при пониженном давлении (70–90°C около 0,5 торр) с использованием дистиллятора Кугельрофа, что позволяло получить 1-триметилсилил-4-йод пиразол (263 г, 274,1 г теоретический, 96%) в виде бесцветного масла. Этот материал должен храниться в атмосфере азота в любое время, поскольку ТМС группа быстро гидролизуется. Впоследствии было установлено, что 1-триметилсилил-4-йодпиразол может быть получен путем нагревания иодпиразола с 2 эквивалентами гексаметилдисилазана в течение 1 ч.

4-(4,4,5,5-Тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол (1).

В колбу, снабженную механической мешалкой, впускным краном для азота, капельной воронкой и термopарокарманом, были загружены 1-триметилсилил-4-йодпиразол (225,1 г, 0,85 моль) и ТГФ (2200 мл) при комнатной температуре. Смесь охлаждали около до -6°C на ледяной солевой бане перед добавлением раствора изопропилмагнийхлорида в тетрагидрофуране (2 М раствор в ТГФ, 510 мл, 1,02 моль, 1,2 экв.) добавляли с такой скоростью, что внутренняя температура не превышала 0°C. Степень обмена металл/галоген контролировали с помощью ГХ и было найдено, что реакция завершается через около 10 мин. Затем к оранжево-коричневому раствору добавляли 2-изопропокси-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (изопропилпинаколат, 347 мл, 1,7 моль, 2,0 экв.) сначала медленно, поддерживая температуру ниже 0°C, а затем быстрее, после того как приблизительно половина количества соединения была добавлена, позволяя температуре достичь 5°C (реакционная смесь становится довольно вязкой, а затем разжижается медленно). Затем реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 10 мин, до того она нагревалась до комнатной температуры в течение 1 ч и перемешивали при температуре окружающей среды в течение дополнительного 1 ч. Реакционную смесь охлаждали приблизительно до 6°C и насыщенный водный раствор хлорида аммония (NH<sub>4</sub>Cl, 2,2 л) был добавлен с повышением температуры до 25°C. Смесь перемешивали в течение 5 мин, после чего разбавляли толуолом (10 л). Слои разделяли (большое количество твердого вещества присутствует в водном слое) и органический слой последовательно промывали водой (6×2,2 л) и насыщенным раствором соли (2×2,2 л), а затем сушили над сульфатом натрия (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Осушающий реагент, сульфат натрия (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), удаляли фильтрованием и раствор концентрировали при пониженном давлении. Остаточный толуол выпаривали совместно с *n*-гептаном с получением 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола (1, 90,3 г, 164,9 г теоретический, 54,8%) в виде белого твердого вещества.

Для 1: <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 13,8 (уш. с, 1H), 7,94 (с, 1H), 7,62 (с, 1H), 1,23 (с, 12H) м.д.; C<sub>9</sub>H<sub>15</sub>BN<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (мол. масса, 194,04), ВЖМС (EI) m/e 195 (M<sup>+</sup>+H).

Пример 6. Альтернативный синтез 4-(4,4,5,5-Тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола.

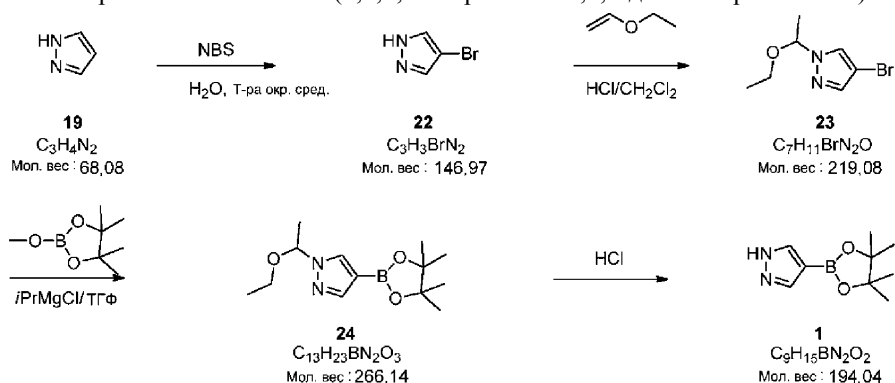


Схема VI

4-Бромпиразол (22).

Пиразол (19, 34,0 г, 0,5 моль) и NBS (89,0 г, 0,5 моль, 1,0 экв.) были суспендированы в воде (625 мл) при температуре окружающей среды. Полученную суспензию перемешивали при температуре окружающей среды в течение ночи. Затем реакционную смесь экстрагировали EtOAc (2×100 мл). Объединенные экстракты EtOAc промывали водным раствором Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> и насыщенным раствором соли, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного 4-бромпиразола (72,0 г, 73,5 г теоретический, выход 98%) в виде белого твердого вещества (чистота по ГХ: >98%), которое непосредственно использовали в последующей реакции без дополнительной очистки.

## 4-Бром-1-(этоксипил)-1Н-пиразол (23).

К раствору 4-бромпиразола (70,0 г, 0,476 моль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (600 мл) был добавлен раствор 3,1 М  $\text{HCl}$  в диоксане (4 мл) и этилвиниловый эфир (41 г, 0,569 моль, 1,2 экв.) при температуре окружающей среды. Полученную реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 3 ч. Реакционную смесь гасили водным раствором  $\text{NaHCO}_3$  и два слоя разделились. Органический слой промыли водой, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали при пониженном давлении досуха с получением 4-бром-1-(этоксипил)-1Н-пиразола (113 г, 104,3 г теоретический, 97% выход) в виде масла (чистота по ГХ: 89%), которое непосредственно использовали в последующей реакции без дополнительной очистки.

1-(Этоксипил)-4-(4,4,5,5-тетраметил[1,3,2]диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол (24). К 100 мл раствора  $i\text{PrMgCl}\cdot\text{LiCl}$  (50 ммоль, 1,8 экв.) в ТГФ было добавлено 4-бром-1-(этоксипил)-1Н-пиразол (6,15 г, 28 ммоль) при температуре окружающей среды. Полученную реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды 12 ч, затем охлаждали до  $-20^\circ\text{C}$ . Метоксипинаколоурат (10,6 г, 67 ммоль, 2,4 экв.) был добавлен к реакционной смеси при  $-20^\circ\text{C}$ . Полученная смесь перемешивалась при  $0-10^\circ\text{C}$  в течение 1 ч. Водный раствор  $\text{NH}_4\text{Cl}$  был добавлен, чтобы погасить реакцию. Смесь затем экстрагировали петролейным эфиром (ПЭ). Объединенные экстракты ПЭ промывали насыщенным  $\text{NaHCO}_3$ , сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт кристаллизовали из ПЭ с получением 1-(этоксипил)-4-(4,4,5,5-тетраметил[1,3,2]диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразола (24, 4,2 г, 7,45 г теоретический, 56,4% выход) в виде белого желтоватого цвета твердого вещества (чистота ГХ: 99%).

Для 24:  $^1\text{H}$  ЯМР (ДМСО- $d_6$ , 400 МГц) 8,09 (с, 1H), 8,58 (с, 1H), 7,62 (с, 1H), 5,55 (кв, 1H,  $J=6.1$  Гц), 3,37 (уш. кв, 1H,  $J=7.1$ , 9,6 Гц), 3,12 (уш. кв, 1H,  $J=7.0$ , 9,7 Гц), 1,56 (д, 3H,  $J=6.0$  Гц), 1,24 (с, 12H), 1,00 (т, 3H,  $J=7.0$  Гц) м.д.;

$\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{BN}_2\text{O}_3$  (мол. масса, 266,14), ВЖМС (EI)  $m/e$  267 ( $\text{M}^++\text{H}$ ).

## 4-(4,4,5,5-Тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол (1).

К смеси 2,3-диметилбутан-2,3-диола (25,0 кг, 211,6 моль) и 1-(1-этоксипил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразола (24, 55,0 кг, 206,7 моль) в 1,2-дихлорэтаноле (750 кг) был медленно добавлен раствор  $\text{HCl}$  в МТВЕ (25,0 кг, 20-30%  $\text{HCl}$ ) при  $0-5^\circ\text{C}$ . Полученная реакционная смесь перемешивалась при  $10-20^\circ\text{C}$  в течение 3-5 ч. После того как селективное снятие защиты было завершено, что контролировалось ВЭЖХ (1: ниже 1%), реакционную смесь дегазировали и наполняли азотом, затем охлаждали до  $-15^\circ\text{C}$ . Затем в охлажденную реакционную смесь добавляли триэтиламин (ТЕА, 30,0 кг, 296,5 моль), доводя до pH 7-8. Смесь затем постепенно нагревали до температуры окружающей среды, перед тем как обработать водой (150 кг). Две фазы разделяли и органический слой промывали насыщенным раствором соли (60 кг) и сушили над сульфатом натрия ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). Осушающий реагент, сульфат натрия ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), удаляли фильтрованием и полученный раствор концентрировали при пониженном давлении при  $40-50^\circ\text{C}$  до густого масла. Остаток нагревали до  $60-70^\circ\text{C}$  и разбавляли петролейным эфиром (100 кг) при той же температуре. Полученную смесь затем постепенно охлаждали до комнатной температуры, а затем до  $-5^\circ\text{C}$  и перемешивали при той же температуре в течение 3 ч. Твердые вещества собирали центрифугированием и высушивали при  $50-60^\circ\text{C}$  под вакуумом с получением неочищенного желаемого продукта (1, 33,75 кг, 40,11 кг теоретический, 84,1%). Затем неочищенный целевой продукт суспендировали в 1,2-дихлорэтаноле (30 кг) и полученную смесь нагревали с обратным холодильником с получением прозрачного раствора. Затем к горячему раствору добавляли петролейный эфир (150 кг) при той же температуре. Полученную смесь затем постепенно охлаждают до комнатной температуры, а затем до  $-5^\circ\text{C}$  и перемешивали при той же температуре в течение 3 ч. Твердые вещества собирали путем центрифугирования и сушили под вакуумом при  $50-60^\circ\text{C}$  с получением 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразола (1, 31,0 кг, 40,11 кг теоретический, 77,3%) в виде не совсем белого твердого вещества, которое идентично во всех сопоставимых аспектах материалу, синтезированному при применении способа синтеза, как описано выше в примере 5.

Пример 7. Синтез 4-хлор-7Н-[пирроло[2,3-d]пиримидина].

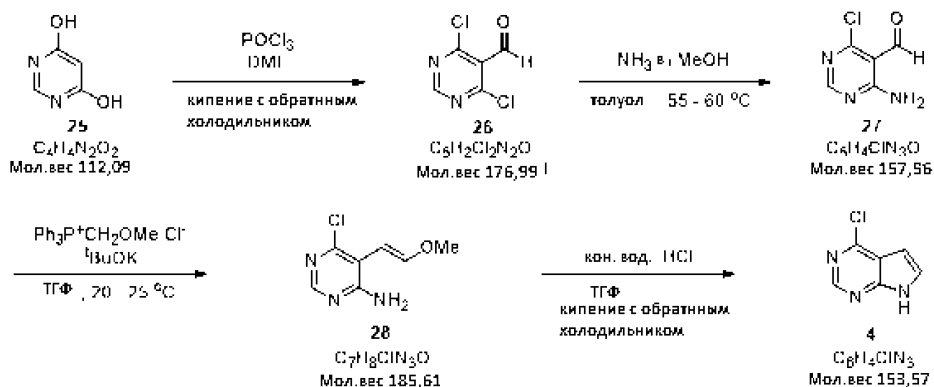


Схема VII

## 4,6-Дихлорпиримидин-5-карбальдегид (26).

В 5-литровую 4-горлую колбу, оснащенную механической мешалкой, капельной воронкой, конденсатором, термопарой, и N<sub>2</sub> разветки в водный промывной раствор NaOH, загружали и охлаждали на ледяной солевой бане оксихлоридфосфора (POCl<sub>3</sub>, 1 л, 10,572 моль, 4,82 экв.). N,N-Диметилформамид (ДМФА, 320 мл, 4,138 моль, 1,85 экв.) по каплям добавляли в колбу при 0±2°C. После добавления приблизительно 100 мл ДМФА в течение около 0,5 ч кристаллизация произошла и температура реакции была увеличена от 0 до 10°C. Добавление прекращали и смесь оставляли для повторного охлаждения приблизительно до 2°C. Остаточное количество ДМФА добавляли в течение 2,5 ч при температуре ниже 8°C. Суспензия стала очень густой, затрудняя перемешивание. Когда добавление ДМФА было завершено, смесь перемешивали при 3-5°C в течение 0,5 ч. 4,6-Дигидроксипиримидин (250 г, 2,232 моль) добавляли порционно в виде твердого вещества. После добавления около одной трети 4,6-дигидроксипиримидина реакционная смесь стала более разжиженной и наблюдался медленный экзотермический процесс с возрастанием температуры реакции приблизительно до 12°C в течение 0,5 ч. Остаточное количество 4,6-дигидроксипиримидина порциями добавляли в течение 0,25 ч с увеличением температуры реакции от 12 до 27°C. Температура реакции поддерживалась на уровне 25-27°C с переменным охлаждением во время которого желтая суспензия становилась более жидкой, а затем вновь густой. После прекращения экзотермического процесса через около 1 ч реакционную смесь медленно нагревали. Около 55°C реакционная смесь стала очень густой и наблюдался второй умеренный экзотермический процесс.

Нагревательная калильная сетка была снята в то время как температура реакции продолжала расти около до 63°C и оставалась при этой температуре в течение нескольких минут перед тем как упасть. Нагревание смеси было возобновлено до достижения слабого кипения (около 100°C). При около 95°C происходило постоянное довольно быстрое выделение газа HCl и реакционная смесь постепенно становилась разжиженной и затемненной. После около 0,5 ч прозрачный коричневый раствор был получен, когда температура нагревания медленно возрастала до 115°C в течение 1,25 ч. В общей сложности после 2,5 ч при кипячении с обратным холодильником, реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение ночи при температуре окружающей среды. Избыточное количество POCl<sub>3</sub> (так много, насколько возможно) удаляли при пониженном давлении (температура бани 45-50°C). Остаточное густое коричневое масло выливали очень медленно в холодную H<sub>2</sub>O (5 л) в 20 л делительной воронке, добавляя лед, что необходимо для поддержания водной смеси около температуры окружающей среды. Затем водную смесь экстрагировали EtOAc (2×3 л с последующим 1×2 л). Объединенные EtOAc экстракты промывали H<sub>2</sub>O (2×2,5 л), насыщенным NaHCO<sub>3</sub> водным раствором (1 л), концентрированным соевым раствором (1 л), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении (температура бани при температуре 35°C) с получением неочищенного 4,6-дихлорпиримидин-5-карбальдегида (270 г, 395 г теоретический, 68,4%) в виде желто-оранжевого твердого вещества. Навеску 20 г этого сырого материала очищали с помощью дистилляции Кугельнора (температура печи при 90-100°C, 225 мТорр), что дало 15,3 г чистого 4,6-дихлорпиримидин-5-карбальдегида в виде белого твердого вещества, которое становилось желтым при хранении при температуре окружающей среды.

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>) 10,46 (с, 1H), 8,89 (с, 1H) м.д.

## 4-Амино-6-хлорпиримидин-5-карбальдегид (27).

Раствор 7 M NH<sub>3</sub> в MeOH (265 мл, 1,855 моль, 2,0 экв.) добавляли в течение 1,25 ч к раствору 4,6-дихлорпиримидин-5-карбальдегида (163,7 г, 0,9301 моль) в толуоле (3 л) при температуре окружающей среды. Температура реакционной смеси постепенно возрастала от 20 до 26°C и образовывалась желтая суспензия. Применялось легкое охлаждение для поддержания температуры реакционной смеси ниже 26°C. Суспензия перемешивалась при температуре окружающей среды в течение 3,5 ч перед отделением твердых веществ фильтрованием. Твердые вещества промывали EtOAc (1 л). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и твердые вещества растирали с толуолом и n-гептаном (2:1 об./об., 600 мл), фильтровали и сушили с получением 71,1 г 4-амино-6-хлорпиримидин-5-карбальдегида в виде желтого твердого вещества. Исходное твердое вещество отфильтровывали из реакционной смеси, которая содержала дополнительное количество 4-амино-6-хлорпиримидин-5-карбальдегида. Продукт экстрагировали из отфильтрованного твердого вещества перемешиванием в EtOAc (1,25 л) в течение 1,5 ч, фильтровали, затем перемешивали в ТГФ (750 мл) в течение 1 ч и снова фильтровали. Оба EtOAc и ТГФ фильтрата концентрировали при пониженном давлении и полученные твердые вещества растирали с толуолом и n-гептаном (2:1 об./об., 450 мл), фильтровали и сушили с получением дополнительных 44,1 г 4-амино-6-хлорпиримидин-5-карбальдегида в виде желтого твердого вещества. Общий выход 4-амино-6-хлорпиримидин-5-карбальдегида (115,2 г, 146,5 г теоретический) был 78,6%.

<sup>1</sup>H ЯМР (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10,23 (с, 1H), 8,71 (уш. с, 1H), 8,55 (уш. с, 1H), 8,39 (с, 1H) м.д.;

C<sub>5</sub>H<sub>4</sub>ClN<sub>3</sub>O (мол. масса, 157,56), ВЖМС (EI) m/e 158 (M<sup>+</sup>+H).

## 6-Хлор-5-(2-метоксивинил)пиримидин-4-иламин (28).

Суспензия (метоксиметил)трифенилфосфоний хлорида (276,0 г, 0,807 моль, 1,1 экв.) в ТГФ (1,5 л)

была охлаждена в ледяной солевой бане до  $-2^{\circ}\text{C}$  и 1 М трет-бутоксид калия ( $\text{KO}^t\text{Bu}$ ) в ТГФ (8 07 мл, 0,807 моль, 1,1 экв.) добавляли в течение 1,5 ч при  $-2$  до  $-3^{\circ}\text{C}$ . Темно красно-оранжевую смесь перемешивали при  $-2$  до  $-3^{\circ}\text{C}$  в течение 1 ч. 4-Амино-6-хлорпиримидин-5-карбальдегид (115,2 г, 0,7338 моль, 1,0 экв.) затем порционно добавляли к реакционной смеси в качестве твердого вещества с применением ТГФ (200 мл) для промывки контейнера и делительной воронки. Во время добавления температура реакционной смеси возрастала от  $-3$  до  $13^{\circ}\text{C}$  и цвет изменялся на коричневый. Когда температура реакционной смеси упала до  $10^{\circ}\text{C}$ , охлаждающую баню сняли и позволили реакционной смеси нагреться до комнатной температуры и перемешивали при температуре окружающей среды в течение 42 ч. Реакционная смесь была охлаждена до  $-2^{\circ}\text{C}$  перед гашением медленным добавлением насыщенного водного раствора  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (750 мл). Смесь концентрировали при пониженном давлении, чтобы удалить большую часть ТГФ. Остаток распределяли между  $\text{EtOAc}$  (3 л) и  $\text{H}_2\text{O}$  (1 л). Органическую фазу фильтровали для удаления нерастворимого материала на границе раздела, затем экстрагировали 2 н.  $\text{HCl}$  ( $4 \times 250$  мл), затем 3 н.  $\text{HCl}$  ( $2 \times 250$  мл). Объединенные экстракты  $\text{HCl}$  вновь экстрагировали этилацетатом (500 мл), затем фильтровали через целит, чтобы удалить нерастворимый материал.

Фильтрат охлаждали на ледяной солевой бане, доводили до pH 8 с помощью 6 н. водного раствора  $\text{NaOH}$  и экстрагировали  $\text{EtOAc}$  ( $3 \times 1$  л). Объединенные экстракты  $\text{EtOAc}$  промывали насыщенным раствором соли (1 л), сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , перемешивали с активированным углем (10 г) и силикагелем (10 г) в течение 1 ч. Смесь фильтровали через целит, промывая целит этилацетатом (1 л). Фильтрат концентрировали, совместно испаряя остаточный  $\text{EtOAc}$  с *n*-гептаном (500 мл). Полученное бурое твердое вещество выкачивали под высоким вакуумом в течение 2 ч с получением неочищенного 6-хлор-5-(2-метоксивинил)пиримидин-4-иламина (72,3 г, 136,2 г теоретический, 53,1%). Сырой требуемый продукт был использован в следующей реакции без дополнительной очистки. Образец сырого продукта (2,3 г) очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с элюированием смесью 0-35%  $\text{EtOAc}/n$ -гептан с получением 1,7 г чистого 6-хлор-5-(2-метоксивинил)пиримидин-4-иламина в виде белого твердого вещества, которое было смесью от 1 до 2 *E/Z* изомеров.

$^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ ) для *E*-изомера:  $\delta$  8,02 (с, 1H), 7,08 (уш. с, 2H), 6,92 (д, 1H,  $J=13.1$ ), 5.35 (д, 1H,  $J=13.0$  Гц), 3,68 (с, 3H) м.д. и для 2-изомера:  $\delta$  8,06 (с, 1H), 7,08 (уш. с, 2H), 6,37 (д, 1H,  $J=6,8$  Гц), 5,02 (д, 1H,  $J=6,7$  Гц), 3,69 (с, 3H) м.д.;

$\text{C}_7\text{H}_8\text{ClN}_3\text{O}$  (мол. масса, 185,61), ВЖМС (EI) *m/e* 186/188 ( $\text{M}^++\text{H}$ ).

4-Хлор-7Н-[пирроло[2,3-*d*]пиримидин (4).

Концентрированную  $\text{HCl}$  (5 мл) добавляли к раствору сырого 6-хлор-5-(2-метоксивинил) пиримидин-4-иламина (70,0 г, 0,3784 моль) в ТГФ (700 мл) и полученную реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 7,5 ч. При нагреве сформировалась не густая суспензия, которая постепенно повторно растворялась. Когда реакция была завершена, что подтвердил контроль ВЭЖХ, реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и перемешивали при температуре окружающей среды в течение ночи. Твердый  $\text{NaHCO}_3$  (15 г) был добавлен к реакционной смеси и полученную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 1 ч. Активированный уголь (7 г), силикагель (7 г) и  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (20 г) были добавлены к смеси и нагревали до  $40^{\circ}\text{C}$  в течение 1 ч. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через целит, промывая целит с ТГФ (1 л). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и полученное твердое вещество сушили при пониженном давлении с получением неочищенного 4-хлор-7Н-[пирроло[2,3-*d*]пиримидина (4, 58,1 г, 58,1 г теоретический, 100%) в виде желто-коричневого твердого вещества. Этот неочищенный целевой продукт растворяли в  $\text{EtOAc}$  (1 л) при  $50$ - $55^{\circ}\text{C}$  и обрабатывали активированным углем (3 г). Смесь фильтровали через целит при нагревании и слой целита промывали теплой  $\text{EtOAc}$  (250 мл). Фильтрат концентрировали до около 500 мл, и суспензию выдерживали при температуре окружающей среды в течение ночи. Суспензию затем охлаждали до  $0$ - $5^{\circ}\text{C}$  в течение 2 ч перед тем как собрать твердые вещества фильтрацией. Твердые вещества сушили с получением чистого 4-хлор-7Н-[пирроло[2,3-*d*]пиримидина (4,54,5 г, 58,1 г теоретический, 94%) в виде желто-коричневых кристаллов.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMCO-d}_6$ )  $\delta$  12,58 (уш. с, 1H), 8,58 (с, 1H), 7,69 (д, 1H,  $J=3.5$  Гц), 6.59 (д, 1H,  $J=3.5$  Гц) м.д.;

ВЖМС (EI) *m/e* 154/156 ( $\text{M}^++\text{H}$ ).

Пример А. *In vitro* анализ *JAK* киназы.

Соединение формулы I испытывали на ингибирующую активность в отношении *JAK* объектов, согласно следующему *in vitro* анализу, описанному в Park et al., *Analytical Biochemistry*, 1999, 269, 94-104. Каталитические домены человеческого *JAK1* (а.а. 837-1142) и *JAK2* (а.а. 828-1132) с *N*-концевыми метками были экспрессированы с помощью бакуловируса в клетках насекомых и очищены. Каталитическую активность *JAK1* и *JAK2* анализировали путем измерения фосфорилирования биотинилированного пептида. Фосфорилированный пептид был обнаружен по однородной с временным разделением флуоресценции (HTRF).  $\text{IC}_{50}$  соединений были измерены для каждой киназы в 40 мкл реакций, которые содержали фермент, АТФ и 500 нМ пептид в 50 мМ Трис (pH 7,8) буфер с 100 мМ  $\text{NaCl}$ , 5 мМ ДТТ и 0.1 мг/мл (0.01%) БСА. Для 1 мМ  $\text{IC}_{50}$  измерений, концентрация АТФ в реакциях составляла 1 мМ. Реакции прово-

дили при температуре окружающей среды в течение 1 ч, а затем останавливали 20 мкл 45 мМ ЭДТА, 300 нМ SA-APC, 6 нМ Eu-Py20 в буфере для анализа (Perkin Elmer, Boston, Massachusetts). Связывание с меченым европием антителом проходило в течение 40 мин и HTRF сигнала измеряли на счетчике Fusion пластины (Perkin Elmer, Boston, Massachusetts). Соединение формулы I и соль адипиновой кислоты имела  $IC_{50}$  в JAK1 от  $\leq 5$  нМ (измерены при 1 мМ АТФ) при соотношении JAK2/JAK1 > 10 (измерены при 1 мМ АТФ).

Пример В. Клеточные исследования.

Линии раковых клеток, зависящие от цитокинов и, следовательно, JAK/STAT передачи сигналов для роста высевали при 6000 клеток на лунку (формат 96-луночного планшета) в среде RPMI 1640, 10% FBS, и 1 нг/мл соответствующего цитокина. Соединение может быть добавлено к клеткам в ДМСО/носителя (конечная концентрация ДМСО 0,2%), и инкубировали в течение 72 ч при 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. Влияние соединения на жизнеспособность клеток оценивали с помощью CellTiter-Glo люминесцентной ячейки Анализ жизнеспособности клеток (Promega) с последующим TopCount (Perkin Elmer, Boston, MA) количественным определением. Потенциальные нецелевые эффекты соединений измерены в параллели, используя не-JAK, которые ведут клеточную линию с тем же самым анализом считывания. Все эксперименты, как правило, выполняли в двух повторах.

Упомянутые выше линии клеток могут также использоваться для исследования воздействия соединений на фосфорилирование JAK киназ или потенциальных субстратов ниже в биохимическом пути, таких как белки STAT, Akt, Shp2 или Erk. Эти эксперименты могут выполняться на протяжении ночи при голодании цитокина с последующей короткой предварительной инкубацией с соединением (2 ч или менее) и цитокиновой стимуляцией в течение около 1 ч или менее. Затем белки экстрагировали из клеток и анализировали методами, знакомыми специалистам в данной области техники, включая вестерн-блоттинг или ТИФА с применением антител, которые могут дифференцировать между фосфорилированным и общим белком. В указанных экспериментах могут применяться нормальные или раковые клетки, чтобы исследовать воздействие соединений на биологию выживания клетки опухоли или на медиаторы воспалительного заболевания. Например, относительно последнего, цитокины, такие как IL-6, IL-12, IL-23 или IFN, могут использоваться для стимулирования активации JAK, что ведет к фосфорилированию белка(ов) STAT и потенциально к транскрипционным профилям (которые оценивают методом массива или технологией кПЦР) или выработке и/или секреции белков, таких как IL-17. Способность соединений подавлять эти опосредованные цитокином эффекты может быть измерена с использованием методов, широко известных специалистам в данной области техники.

Соединения по данному изобретению дополнительно могут быть протестированы на клеточных моделях, разработанных с целью оценки их эффективности и активности против мутантных JAK, например, с мутацией JAK2V617F, найденной при миелоидных пролиферативных расстройствах. В таких экспериментах часто применяют цитокин-зависимые клетки гематологической клеточной линии (например BaF/3), в которой эктопически экспрессируются JAK киназы дикого типа или мутантные (James, C. et al., Nature, 434:1144-1148; Staerk, J. et al., JBC, 280:41893-41899). Конечные точки включают воздействие соединений на выживание, пролиферацию клеток и фосфорилированные белки JAK, STAT, Akt или Erk.

Некоторые соединения по данному изобретению могут быть оценены относительно их активности подавления пролиферации Т-клеток. В качестве такого анализа может рассматриваться анализ запускаемой вторым цитокином (т.е. JAK) пролиферации, а также упрощенный анализ иммуносупрессии или ингибирования иммунной активации. Ниже приведен короткий очерк того, каким образом могут выполняться данные эксперименты. Моноядерные клетки периферической крови (МКПК) получают из образцов цельной крови человека с применением способа отделения Ficoll Нураque, и Т-клетки (фракция 2000) могут быть получены из МКПК сцеживанием. Свежевыделенные Т-клетки человека могут содержаться в питательной среде (RPMI 1640 с добавлением 10% сыворотки телячьего эмбриона, 100 Ед/мл пеницилина, 100 мкг/мл стрептомицина) с плотностью  $2 \times 10^6$  клеток/мл при температуре 37°C до 2 дней. Для анализа стимулированной IL-2 пролиферации клетки, Т-клетки вначале обрабатывают фитогемагглютинином (ФГА) в конечной концентрации 10 мкг/мл в течение 72 ч. После однократного промывания ФСБ 6000 клеток/лунку наносят на 96-луночные планшеты и обрабатывают соединениями в различных концентрациях в питательной среде в присутствии 100 Ед/мл IL-2 человека (ProSpec-Tany TechnoGene; Rehovot, Израиль). Планшеты инкубируют при 37°C в течение 72 ч и индекс пролиферации оценивают с применением люминесцентных реактивов CellTiter-Glo, следуя предложенному производителем протоколу (Promega; Madison, Wisconsin).

Пример С. In vivo противоопухолевая эффективность.

Соединения по данному изобретению могут быть оценены на моделях ксенотрансплантата опухоли человека у мышей с ослабленным иммунитетом. Например, канцерогенный вариант линии клеток плазматомы INA-6 могут применять для подкожной инокуляции мышам SCID (Burger, R. et al., Hematol. J., 2:42-53, 2001). В дальнейшем несущие опухоль животные могут быть рандомизированы в группы лечения лекарственным средством или растворителем, и различные дозы соединений могут быть введены любым количеством обычных способов, включая пероральный, внутривенный или непрерывную

инфузию с применением имплантируемых насосов. Рост опухоли отслеживают во времени с помощью штангенциркуля. В дальнейшем образцы опухоли могут быть отобраны для анализа в любое время после начала лечения, как изложено выше (пример В), чтобы оценить влияние соединения на активность JAK и нижележащих путей проведения сигнала. Дополнительно селективность соединения(й) может быть оценена с применением моделей ксенотрансплантата опухоли, которые запускаются другими, известными киназами (например Vcr-Abl), таких как модель опухоли K562.

Пример D. Тест кожной реакции контактной гиперчувствительности по замедленному типу у мышей.

Соединения по данному изобретению дополнительно могут быть протестированы относительно их эффективности (ингибирование мишеней JAK) на тестовой модели запускаемой Т-клетками замедленной гиперчувствительности у мышей. Кожная реакция контактной гиперчувствительности по замедленному типу (ГЗТ) у мышей считается годной моделью клинического контактного дерматита и других опосредованных Т-лимфоцитами иммунных расстройств кожи, таких как псориаз (*Immunol Today.*, 1998 Jan, 19(1):37-44). Многочисленные характеристики объединяют ГЗТ у мышей с псориазом, в том числе, иммунный инфильтрат, сопутствующее повышение уровня воспалительных цитокинов и гиперпролиферация кератиноцитов. Кроме того, многие классы агентов, эффективных при лечении псориаза в клинике, также являются эффективными ингибиторами реакции ГЗТ у мышей (*Agents Actions.*, 1993 Jan, 38(1-2):116-21).

В 0-й и 1-й дни мышей Balb/c сенсибилизировали местным нанесением на выбритое брюхо антигена 2,4-динитро-фторбензола (ДНФБ). На 5-й день измеряли толщину ушей с помощью инженерного микрометра. Результаты измерения регистрировали и применяли в качестве начального уровня. Затем оба уха животных нагружали местным нанесением ДНФБ в общей дозе 20 мкл (10 мкл на внутреннюю часть и 10 мкл на внешнюю часть ушной раковины) с концентрацией 0,2%. Через 24-72 ч после нагрузки уши снова измеряли. Лечение тестовыми соединениями проводили в течение фаз сенсибилизации и нагрузки (с дня -1 до дня 7) или до и в течение фазы нагрузки (обычно начиная со второй половины дня 4 до дня 7). Лечение тестовыми соединениями (в разных концентрациях) проводили системно или местно (местное нанесение лекарственного средства на уши). На эффективность исследуемых соединений указывало уменьшение припухлости уха, по сравнению с отсутствием лечения. Соединения, вызывающие уменьшение на 20% или более, считаются эффективными. В некоторых экспериментах мышей нагружали без сенсибилизации (отрицательный контроль).

Ингибирующий эффект (подавление активации путей JAK-STAT) исследуемых соединений может быть подтвержден иммуногистохимическим анализом. Активация пути(ей) JAK-STAT приводит к образованию и транслокации функциональных факторов транскрипции. В дальнейшем, приток иммунных клеток и увеличенная пролиферация кератиноцитов также должны обеспечивать уникальные изменения профиля экспрессии в ухе, которые могут быть исследованы и определены количественно. Фиксированные в формалине и залитые парафином срезы уха (образцы отобраны после фазы нагрузки в модели ГЗТ) подвергают иммуногистохимическому анализу с применением антитела, которое специфично взаимодействует с фосфорилированным STAT3 (клон 58E12, Cell Signaling Technologies). Уши мыши обрабатывают исследуемыми соединениями, растворителем или дексаметазоном (клинически эффективное лечение для псориаза), или оставляют без лечения в модели ГЗТ для сравнения. Исследуемые соединения и дексаметазон могут продуцировать сходные транскрипционные изменения как качественно, так и количественно, а также исследуемые соединения и дексаметазон могут уменьшать количество инфильтрующих клеток. Системное и местное применение исследуемых соединений может вызывать ингибирующий эффект, т.е. уменьшение количества инфильтрующих клеток и ингибирование транскрипционных изменений.

Пример E. In vivo противовоспалительная активность.

Соединения по данному изобретению могут быть оценены на моделях грызунов или не грызунов, разработанных для воспроизведения единичной или комплексной реакции воспаления. Например, модели артрита у грызунов могут применяться для оценки терапевтического потенциала соединений, вводимых превентивно или терапевтически. Эти модели включают, без ограничений, индуцированный коллагеном артрит у мышей или крыс, индуцированный адьювантом артрит у крыс и артрит, индуцированный антителом к коллагену. Кроме того, аутоиммунные заболевания, в том числе, без ограничений, рассеянный склероз, сахарный диабет I типа, увеоретинит, тиреоидит, миастения, иммуноглобулиновые нефропатии, миокардиты, сенсибилизация дыхательных путей (астма), волчанка или колит, могут использоваться для оценки терапевтического потенциала соединений по данному изобретению. Эти модели хорошо изучены в сообществе исследователей и знакомы специалистам в данной области техники (*Current Protocols in Immunology*, vol 3., Coligan, J.E. et al., Wiley Press.; *Methods in Molecular Biology*, vol. 225, *Inflammation Protocols.*, Winyard, P.G. и Willoughby, D.A., Humana Press, 2003).

Пример F. Животные модели для лечения сухости глаз, увеита и конъюнктивита.

Агенты могут быть оценены на одной или более доклинических моделей сухости глаз, известных специалистам в данной области техники, в том числе без ограничения модель с применением конканавалина А (ConA) на слезной железе кролика, скополаминовая модель (подкожная или трансдермальная) на

мышьях, модель на слезной железе мыши с применением ботулотоксина или любая из целого ряда спонтанных аутоиммунных моделей у грызунов, которые приводят к дисфункции глазной железы (например NOD-SCID, MRL/lpr или NZB/NZW) (Barabino et al., *Experimental Eye Research* 2004, 79, 613-621; и Schrader et al., *Developmental Ophthalmology*, Karger, 2008, 41, 298-312, каждая из которых включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки). Конечные точки в этих моделях могут включать гистопатологию глазных желез и глаза (роговая оболочка и т.п.), а также классическую пробу Ширмера или ее модифицированные версии (Barabino et al.), в которых измеряют выработку слезной жидкости. Активность оценивают при ведении доз несколькими способами (например, системно или местно), которое может начинаться до или после появления измеримого заболевания.

Агенты могут быть оценены на одной или более доклинических моделей увеита, известных специалистам в данной области техники. Они включают, без ограничения, модели экспериментального аутоиммунного увеита (ЭАУ) и индуцированного эндотоксином увеита (ИЭУ). Эксперименты ЭАУ могут быть выполнены на кролике, крысе или мыши, и могут включать пассивную или активную иммунизацию. Например, любой из множества антигенов сетчатки может применяться для сенсibilизации изобретения животных к соответствующему иммуногенному средству, после чего глаза животных могут быть нагружены тем же антигеном. Модель ИЭУ является более острой и включает местное или системное введение липополисахаридов в сублетальных дозах. Конечные точки моделей ИЭУ и ЭАУ могут включать, среди прочего, фундоскопическое обследование и гистопатологию. Эти модели рассмотрены Smith et al. (*Immunology and Cell Biology*, 1998, 76, 497-512, которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки). Активность оценивают при ведении доз несколькими способами (например, системно или местно), которое может начинаться до или после появления измеримого заболевания. Кроме того, в некоторых моделях, перечисленных выше, может развиваться склерит/эписклерит, хориоидит, циклит или воспаление радужной оболочки глаза, и, таким образом, они являются пригодными для исследования потенциальной активности соединений для терапевтического лечения указанных заболеваний.

Дополнительно агенты могут быть оценены в одной или более доклинических моделей конъюнктивита, известных специалистам в данной области техники. Они включают без ограничения модели на грызунах с применением морской свинки, крысы или мыши. Модели на морской свинке включают модели с применением активной или пассивной иммунизации и/или иммунных протоколов нагрузки антигенами, такими как яичный белок или амброзия (рассмотрены в Groneberg, D.A. et al., *Allergy*, 2003, 58, 1101-1113, которая включена в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме). Модели на крысе и мыши по общему дизайну сходны с моделями на морской свинке (также рассмотрены Groneberg). Активность оценивают при ведении доз несколькими способами (например, системно или местно), которое может начинаться до или после появления измеримого заболевания. Конечные точки для такого исследования могут включать, например, гистологический, иммунологический, биохимический или молекулярный анализ глазных тканей, таких как конъюнктивы.

Пример G. In vivo защита кости.

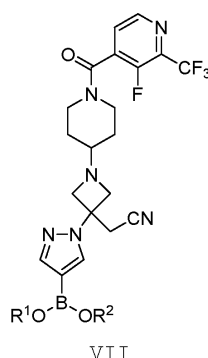
Соединения могут быть оценены на различных доклинических моделях остеопении, остеопороза или резорбции кости, известных специалистам в данной области техники. Например, грызуны с удаленными яичниками могут быть использованы для оценки способности соединений воздействовать на признаки и маркеры ремоделирования и/или плотности кости (W.S.S. Jee и W. Yao, *J. Musculoskel. Nueron. Interact.*, 2001, 1(3), 193-207, которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки). Альтернативно плотность и архитектура кости могут быть оценены в контроле или леченных соединением грызунах на моделях индуцированной лечением (например, глюкокортикоидом) остеопении (Yao, et al., *Arthritis and Rheumatism*, 2008, 58(6), 3485-3497; и там же 58(11), 1674-1686, обе из которых включены в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме). Кроме того, влияние соединений на резорбцию и плотность кости может поддаваться оценке на моделях артрита у грызунов, обсуждавшихся выше (пример E). Конечные точки для всех указанных моделей могут варьировать, но часто включают гистологическую и радиологическую оценку, а также иммуногистологию и подходящие биохимические маркеры ремоделирования кости.

Ряд вариантов реализации изобретения были описаны. Тем не менее следует понимать, что различные модификации могут быть выполнены без отступления от сущности и объема данного изобретения. Соответственно другие варианты реализации изобретения находятся в пределах объема прилагаемой формулы изобретения.



## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

## 1. Соединение формулы VII

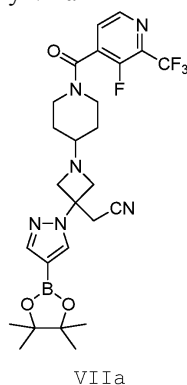


или его соль,

где  $R^1$  и  $R^2$  каждый независимо представляет собой H или  $C_{1-6}$ -алкил, или

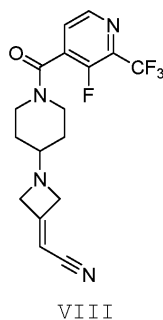
$R^1$  и  $R^2$  вместе с двумя атомами кислорода, к которым они присоединены, и атомом бора, к которому присоединены атомы кислорода, образуют 5- или 6-членное гетероциклоалкильное кольцо, которое необязательно замещено 1, 2, 3 или 4  $C_{1-4}$ -алкильными группами.

## 2. Соединение по п.1, имеющее формулу VIIa

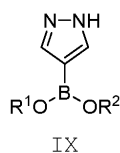


или его соль.

3. Способ получения соединения формулы VII по п.1, который включает приведение в контакт соединения формулы VIII



с соединением формулы IX



в присутствии агента связывания с получением соединения по п.1,

где  $R^1$  и  $R^2$  каждый независимо представляет собой H или  $C_{1-6}$ -алкил, или

$R^1$  и  $R^2$  вместе с двумя атомами кислорода, к которым они присоединены, и атомом бора, к которому присоединены атомы кислорода, образуют 5- или 6-членное гетероциклоалкильное кольцо, которое необязательно замещено 1, 2, 3 или 4  $C_{1-4}$ -алкильными группами.

4. Способ по п.3, отличающийся тем, что агент связывания представляет собой 1,8-диазабицикло[5,4,0]ундецен.

5. Способ по любому из пп.3, 4, отличающийся тем, что применяют от 1,05 до 1,2 эквивалента аген-

та связывания исходя из соединения формулы VIII.

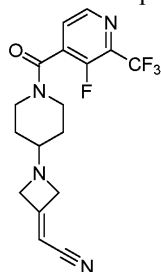
6. Способ по любому из пп.3-5, отличающийся тем, что приведение в контакт соединения формулы VIII с соединением формулы IX

(a) проводится в компоненте растворителя, который содержит ацетонитрил;

(b) проводится в компоненте растворителя, который содержит ацетонитрил, при температуре от 40 до 60°C.

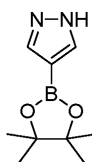
7. Способ по любому из пп.3-6, отличающийся тем, что применяются 1-1,2 эквивалента соединения формулы IX исходя из соединения формулы VIII.

8. Способ по п.3, отличающийся тем, что включает приведение в контакт соединения формулы VIII



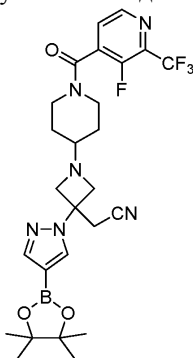
VIII

с соединением формулы IXa



IXa

в присутствии агента связывания с получением соединения формулы VIIa



VIIa

9. Способ по п.8, отличающийся тем, что агент связывания представляет собой 1,8-дизабацикло[5,4,0]ундецен.

10. Способ по п.8 или 9, отличающийся тем, что применяют от 1,05 до 1,2 эквивалента агента связывания исходя из соединения формулы VIII.

11. Способ по любому из пп.8-10, отличающийся тем, что приведение в контакт соединения формулы VIII с соединением формулы IXa

(a) проводится в компоненте растворителя, который содержит ацетонитрил; или

(b) проводится в компоненте растворителя, который содержит ацетонитрил, при температуре от 40 до 60°C.

12. Способ по любому из пп.8-11, отличающийся тем, что применяют 1-1,2 эквивалента соединения формулы IXa исходя из соединения формулы VIII.

13. Соединение формулы VIII

