

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202290217** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2022.04.29

(51) Int. Cl. *C07D 487/04* (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2016.02.26

(54) **СОЛИ ИНГИБИТОРА РІЗК И СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ**

(31) **62/121,697**

(32) **2015.02.27**

(33) **US**

(62) **201791923; 2016.02.26**

(71) Заявитель:
ИНСАЙТ КОРПОРЕЙШН (US)

(72) Изобретатель:

**Цяо Лэй, Вен Линкай, Ши Чуншэн
Эрик, Мелони Дэвид, Лин Цянь,
Ксиа Майкл, Шариф Вакар, Фритце
Уилльям, Цзя Чжунцзян, Пань
Юнчунь, Лю Пинли, Юэ Тай-Юйэнь,
Чжоу Цзячэн (US)**

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

(57) В настоящей заявке предложены способы получения (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она, который пригоден в качестве ингибитора фосфоинозитид-3-киназы-дельта (РІЗКδ), а также соли и промежуточных соединений, связанных с ним.

A1

202290217

202290217

A1

СОЛИ ИНГИБИТОРА PI3K И СПОСОБЫ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ

Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США № 62/121697, поданной 27 февраля 2015 г., которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

В настоящей заявке предложен способ получения (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она, который пригоден в качестве ингибитора фосфоинозитид-3-киназы-дельта (PI3K δ), а также соли и промежуточных соединений, связанных с ним.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) принадлежат к большому семейству липидных сигнальных киназ, которые фосфорилируют фосфоинозитиды в положении D3 инозитольного кольца (Cantley, Science, 2002, 296(5573):1655-7). PI3K подразделяются на три класса (класс I, II и III) в соответствии с их структурой, регуляцией и субстратной специфичностью. Класс I PI3K, который включает PI3K α , PI3K β , PI3K γ и PI3K δ , представляет собой семейство липидных киназ и протеинкиназ с двойной специфичностью, которые катализируют фосфорилирование фосфатидилинозит-4,5-бифосфата (PIP₂), давая фосфатидилинозит-3,4,5-трифосфат (PIP₃). PIP₃ функционирует как вторичный посредник, регулирующий ряд клеточных процессов, в том числе рост, выживание, адгезию и миграцию. Все четыре изоформы класса I PI3K существуют в виде гетеродимеров, состоящих из каталитической субъединицы (p110) и жестко связанной регуляторной субъединицы, которая регулирует их экспрессию, активацию и внутриклеточное расположение. PI3K α , PI3K β и PI3K δ связаны с регуляторной субъединицей, известной как p85, и активируются факторами роста и цитокинами посредством механизма, зависящего от тирозинкиназ (Jimenez, et al., J Biol Chem., 2002, 277(44):41556-62), тогда как PI3K γ связана с двумя регуляторными субъединицами (p101 и p84), и ее активация запускается

активацией рецепторов, сопряженных с G-белком (Brock, et al., *J Cell Biol.*, 2003, 160(1):89-99). PI3K α и PI3K β экспрессируются повсеместно. В отличие от этого PI3K γ и PI3K δ преимущественно экспрессируются в лейкоцитах (Vanhaesebroeck, et al., *Trends Biochem Sci.*, 2005, 30(4):194-204).

Различное распределение изоформ PI3K в тканях приводит к их различным биологическим функциям. Генетическое отсутствие как PI3K α , так и PI3K β приводит к гибели эмбриона, указывая на то, что PI3K α и PI3K β обладают существенно важными и неизбыточными функциями, по меньшей мере при развитии (Vanhaesebroeck, et al., 2005). В отличие от этого мыши, у которых отсутствуют PI3K γ и PI3K δ , жизнеспособны, способны к размножению и имеют нормальную продолжительность жизни, хотя у них изменена иммунная система. Дефицит PI3K γ приводит к нарушению рекрутинга макрофагов и нейтрофилов к участкам воспаления, а также нарушению активации Т-клеток (Sasaki, et al., *Science*, 2000, 287(5455):1040-6). Мыши с мутантной PI3K δ имеют специфические нарушения сигнальной системы В-клеток, которые приводят к нарушениям развития В-клеток и ослаблению ответов антител после антигенной стимуляции (Clayton, et al., *J Exp Med.* 2002, 196(6):753-63; Jou, et al., *Mol Cell Biol.* 2002, 22(24):8580-91; Okkenhaug, et al., *Science*, 2002, 297(5583):1031-4).

Фенотипы мышей с мутантными PI3K γ и PI3K δ свидетельствуют, что эти ферменты могут играть роль в воспалении и других заболеваниях, связанных с иммунной системой, и это подтверждается в доклинических моделях. Мыши с мутантной PI3K γ в значительной мере защищены от заболевания в мышинных моделях ревматоидного артрита (РА) и астмы (Camps, et al., *Nat Med.* 2005, 11(9):936-43; Thomas, et al., *Eur. J. Immunol.* 2005, 35(4):1283-91). Дополнительно было показано, что лечение мышей дикого типа селективным ингибитором PI3K γ ослабляет гломерулонефрит и улучшает выживаемость в модели системной красной волчанки (СКВ) на мышях MRL-lpr и подавляет воспаление и повреждение суставов в моделях РА (Barber, et al., *Nat Med.*

2005, 11(9):933-5; Camps, et al., 2005). Подобным образом, показано, что как у мышей с мутантной PI3K δ , так и у мышей дикого типа, которых лечили селективным ингибитором PI3K δ , наблюдается ослабленное аллергическое воспаление дыхательных путей и гиперреактивность на мышинной модели астмы (Ali, et al., Nature. 2004, 431(7011):1007-11; Lee, et al., FASEB J. 2006, 20(3):455-65), и наблюдается ослабленная форма заболевания в модели РА (Randis, et al., Eur. J. Immunol., 2008, 38(5):1215-24).

Показано, что пролиферация В-клеток играет ключевую роль в развитии воспалительных аутоиммунных заболеваний (Puri, Frontiers in Immunology (2012), 3(256), 1-16; Walsh, Kidney International (2007) 72, 676-682). Например, В-клетки поддерживают аутореактивность Т-клеток, важный компонент воспалительных аутоиммунных заболеваний. После активации и созревания В-клетки могут перемещаться к участкам воспаления и рекрутировать клетки зоны воспаления или дифференцироваться в плазмобласты. Таким образом, на активность В-клеток можно повлиять, воздействуя на цитокины, стимулирующие В-клетки, рецепторы на поверхности В-клеток или путем подавления В-клеток. Показано, что ритуксимаб, химерное моноклональное антитело мыши/человека IgG1 к, направленное против рецептора CD20 на поверхности В-клеток, подавляет CD20+ В-клетки. Показано, что использование ритуксимаба эффективно при лечении идиопатической тромбоцитопенической пурпурой, аутоиммунной гемолитической анемии или васкулита. Например, лечение ритуксимабом приводило к ремиссии заболевания у пациентов, страдающих от ассоциированного с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (АНЦА) системного васкулита (ААСВ) с продемонстрированным подавлением В-клеток в периферической крови (Walsh, 2007; Lovric, Nephrol Dial Transplant (2009) 24:179-185). Аналогично, сообщалось о полном отклике у от одной трети до двух третей пациентов, страдающих от смешанного криоглобулинемического васкулита, после лечения ритуксимабом, включая пациентов, страдающих от тяжелой формы васкулита, которая устойчива к или характеризуется непереносимостью других способов лечения (Cacoub, Ann Rheum Dis

2008;67:283-287). Аналогично, показано, что ритуксимаб эффективен при лечении пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой (или иммунной тромбоцитопенической пурпурой) (Garvey, *British Journal of Haematology*, (2008) 141, 149-169; Godeau, *Blood* (2008), 112(4), 999-1004; Medeo, *European Journal of Haematology*, (2008) 81, 165-169) и аутоиммунной гемолитической анемией (Garvey, *British Journal of Haematology*, (2008) 141, 149-169).

Передача сигнала с помощью PI3K δ связана с выживаемостью, миграцией и активацией В-клеток (Puri, *Frontiers in Immunology*, 2012, 3(256), 1-16, at pages 1-5; и Clayton, *J Exp Med*, 2002, 196(6):753-63). Например, PI3K δ необходима для зависимой от антигена активации В-клеток, запускаемой В-клеточным рецептором. Путем блокирования адгезии, выживаемости, активации и пролиферации В-клеток, ингибирование PI3K δ может нарушать способность В-клеток активировать Т-клетки, предотвращая их активацию и уменьшая секрецию аутоантител и провоспалительных цитокинов. Следовательно, вследствие их способности ингибировать активацию В-клеток, ожидается, что ингибиторы PI3K δ будут лечить заболевания, опосредованные В-клетками, которые поддаются лечению подобными способами, такими как подавление В-клеток ритуксимабом. Действительно, показано, что ингибиторы PI3K δ являются эффективными в мышиных моделях различных аутоиммунных заболеваний, которые также поддаются лечению ритуксимабом, таких как артрит (Puri (2012)). Дополнительно, подобные врожденным В-клетки, которые связаны аутоиммунитетом, чувствительны к активности PI3K δ , поскольку клетки MZ и B-1 практически отсутствуют у мышей, у которых отсутствует ген p110 δ (Puri (2012)). Ингибиторы PI3K δ могут уменьшать направленную миграцию и активацию клеток MZ и B-1, которые вовлечены в аутоиммунные заболевания.

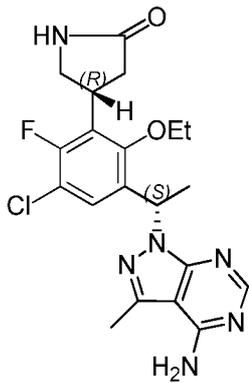
В дополнение к их возможной роли в воспалительных заболеваниях все четыре изоформы PI3K класса I могут играть роль при раке. Ген, кодирующий p110 α , часто мутирует при

распространенных типах рака, включая рак молочной железы, предстательной железы, толстой кишки и эндометрия (Samuels, et al., *Science*, 2004, 304(5670):554; Samuels, et al., *Curr Opin Oncol*. 2006, 18(1):77-82). Восемьдесят процентов этих мутаций представлены одной из трех аминокислотных замен в спиральном или киназном доменах фермента и приводят к значительной положительной регуляции киназной активности, приводящей к онкогенной трансформации в клеточной культуре и на животных моделях (Kang, et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005, 102(3):802-7; Bader, et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006, 103(5):1475-9). Ни одной из этих мутаций не было обнаружено в других изоформах PI3K, хотя имеются факты, что они могут давать вклад в развитие и прогрессирование злокачественных новообразований. Соответствующая сверхэкспрессия PI3K δ наблюдается при остром миелобластном лейкозе (Sujobert, et al., *Blood*, 2005, 106(3):1063-6), а ингибиторы PI3K δ могут предотвращать рост лейкозных клеток (Billottet, et al., *Oncogene*. 2006, 25(50):6648-59). Повышенная сверхэкспрессия PI3K γ наблюдается при хроническом миелоидном лейкозе (Hickey, et al., *J Biol. Chem*. 2006, 281(5):2441-50). Изменение экспрессии PI3K β , PI3K γ и PI3K δ также наблюдается при раке мозга, толстой кишки и мочевого пузыря (Benistant, et al., *Oncogene*, 2000, 19(44):5083-90; Mizoguchi, et al., *Brain Pathol*. 2004, 14(4):372-7; Knobbe, et al., *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2005, 31(5):486-90). Дополнительно показано, что все эти изоформы являются онкогенными в клеточной культуре (Kang, et al., 2006).

Вследствие этих причин существует необходимость в разработке новых ингибиторов PI3K, которые можно использовать при воспалительных расстройствах, аутоиммунных заболеваниях и раке. Данное изобретение направлено на удовлетворение этой и других потребностей.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В настоящей заявке предложены способы получения соединения формулы I:



I.

или его фармацевтически приемлемой соли, которая пригодна в качестве ингибитора PI3Kδ.

В настоящей заявке дополнительно предложена солянокислая соль соединения формулы **I**.

В настоящей заявке также предложены фармацевтические композиции, содержащие соль соляной кислоты, описанную в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель.

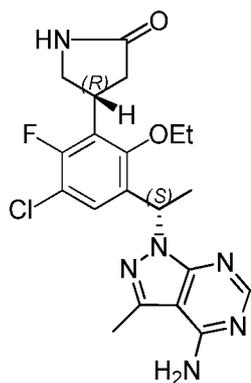
В настоящей заявке дополнительно предложены способы ингибирования активности киназы PI3K, включающие приведение киназы в контакт с солянокислой солью соединения формулы **I**.

В настоящей заявке также предложены способы лечения заболевания у пациента, причем указанное заболевание связано с аномальной экспрессией или активностью киназы PI3K, включающие введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества солянокислой соли соединения формулы **I**.

В настоящей заявке дополнительно предложена солянокислая соль соединения формулы **I** для применения в любом из способов, описанных в данном документе.

В настоящей заявке дополнительно предложено применение солянокислой соли соединения формулы **I** для производства лекарственного препарата для применения в любом из способов, описанных в данном документе.

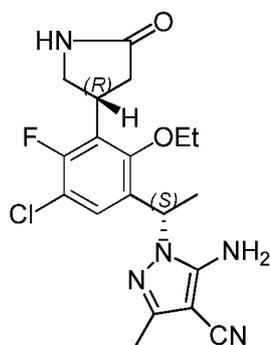
В настоящей заявке также предложен способ получения солянокислой соли соединения формулы **I**, включающий приведение соединения формулы **I**:



I

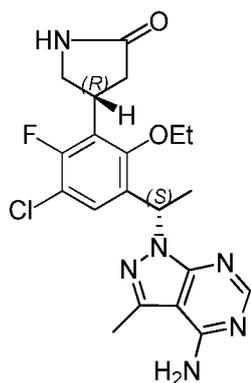
в контакт с соляной кислотой с получением указанной соли.

В настоящей заявке дополнительно предложен способ получения соединения формулы **I**, включающий приведение соединения формулы **XVI**:



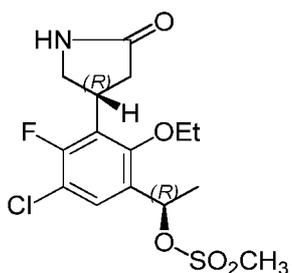
XVI

в контакт с ацетатом формамидина с получением указанного соединения формулы **I**:



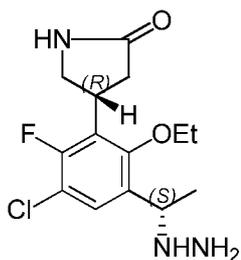
I.

В настоящей заявке дополнительно предложено соединение формулы **XIV**:

**XIV**

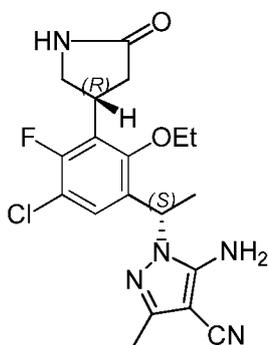
или его фармацевтически приемлемая соль.

В настоящей заявке также предложено соединение формулы **XV**:

**XV**

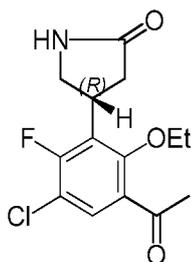
или его фармацевтически приемлемая соль.

В настоящей заявке дополнительно предложено соединение формулы **XVI**:

**XVI**

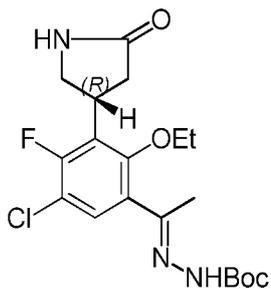
или его фармацевтически приемлемая соль.

В настоящей заявке дополнительно предложено соединение формулы **XIX**:

**XIX**

или его фармацевтически приемлемая соль.

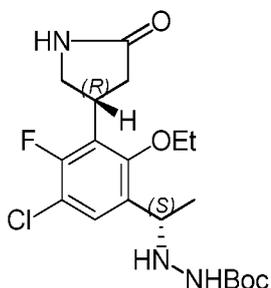
В настоящей заявке также предложено соединение формулы **XX**:



XX

или его фармацевтически приемлемая соль.

В настоящей заявке дополнительно предложено соединение формулы **XXI**:



XXI

или его фармацевтически приемлемая соль.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На Фиг. 1 изображена термограмма ДСК, типичная для соли примера 3.

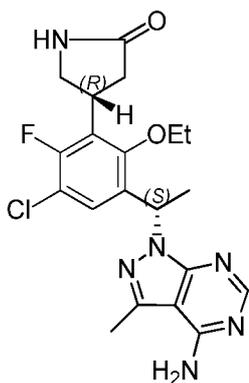
На Фиг. 2 изображены данные ТГА, типичные для соли примера 3.

На Фиг. 3 изображена дифрактограмма ПРД, типичная для соли примера 3.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Соединения и соли

В настоящей заявке предложены способы получения соединения формулы **I**:



I

или его фармацевтически приемлемой соли, которая пригодна в качестве ингибитора P13Kδ, где Et представляет собой этил.

В настоящей заявке дополнительно предложена соль соединения формулы I.

Следовательно, в некоторых вариантах реализации изобретения в настоящей заявке предложена солянокислая соль 4-(3-(1-(4-амино-3-метил-1H-пирразоло [3,4-d] пиримидин-1-ил) этил) -5-хлор-2-этокси-6-фторфенил) пирролидин-2-она. В некоторых вариантах реализации изобретения в настоящей заявке предложена солянокислая соль (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пирразоло [3,4-d] пиримидин-1-ил) этил) -5-хлор-2-этокси-6-фторфенил) пирролидин-2-она. В некоторых вариантах реализации изобретения соль представляет собой стехиометрическое отношение 1:1 (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пирразоло [3,4-d] пиримидин-1-ил) этил) -5-хлор-2-этокси-6-фторфенил) пирролидин-2-она к соляной кислоте.

Различные формы одного и того же вещества имеют различные объемные свойства, что относится, например, к гигроскопичности, растворимости, стабильности и тому подобного. Формы с высокими точками плавления часто обладают хорошей термодинамической стабильностью, что полезно для продления срока хранения лекарственных составов, содержащих твердую форму. Формы с более низкими точками плавления часто менее термодинамически стабильны, но удобны тем, что обладают повышенной растворимостью в воде, что соответствует повышенной биодоступности лекарственного средства. Формы, которые являются слабо гигроскопичными, целесообразны вследствие их стабильности при

нагревании и действии влаги, и они устойчивы к деградации при длительном хранении.

В некоторых вариантах реализации изобретения солянокислая соль соединения формулы I, предложенная в данном документе, является кристаллической. При использовании в данном документе, «кристаллический» или «кристаллическая форма» относится к определенной конфигурации решетки кристаллического вещества. Различные кристаллические формы одного и того же вещества, как правило, имеют различные кристаллические решетки (например, единичные ячейки), соответствующие различным физическим свойствам, которые являются характерной особенностью каждой из кристаллических форм. В некоторых случаях различные конфигурации решетки характеризуются различным содержанием воды или растворителя.

Различные солевые формы могут быть идентифицированы с помощью методов исследования твердого состояния, таких как порошковая рентгеновская дифракция (ПРД). Другие методы исследования, такие как дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК), термогравиметрический анализ (ТГА), динамическая сорбция паров (ДСП) и тому подобное, дополнительно помогают устанавливать форму, а также помогают определять стабильность и содержание растворителя/воды.

Набор отражений ПРД (порошковая рентгеновская дифракция) (пики), как правило, считают характерным признаком конкретной кристаллической формы. Хорошо известно, что относительные интенсивности пиков ПРД могут сильно изменяться в зависимости от, среди прочего, способа получения образца, распределения кристаллов по размерам, различных используемых фильтров, способа установки образца и конкретного применяемого прибора. В некоторых случаях можно наблюдать появление новых пиков или исчезновение существующих пиков в зависимости от типа прибора или параметров. При использовании в данном документе, термин «пик» относится к отражению, имеющему относительную высоту/интенсивность, составляющую по меньшей мере около 4% от максимальной высоты/интенсивности пика. Кроме того, смена оборудования и другие факторы могут повлиять на значения 2-тета.

Таким образом, заданные значения пиков, как, например, представленные в данном документе, могут отличаться на плюс или минус около $0,2^\circ$ (2-тета), и термин «практически» или «около», при использовании в связи с ПРД в данном документе, охватывает вышеуказанные колебания.

В некоторых вариантах реализации изобретения солянокислая соль соединения формулы I имеет по меньшей мере один пик ПРД, в единицах 2-тета выбранный из около $11,3^\circ$, около $16,4^\circ$, около $21,0^\circ$, около $23,0^\circ$, около $28,1^\circ$, около $31,2^\circ$ и около $32,8^\circ$. В некоторых вариантах реализации изобретения солянокислая соль соединения формулы I имеет по меньшей мере два пика ПРД, в единицах 2-тета выбранных из около $11,3^\circ$, около $16,4^\circ$, около $21,0^\circ$, около $23,0^\circ$, около $28,1^\circ$, около $31,2^\circ$ и около $32,8^\circ$. В некоторых вариантах реализации изобретения солянокислая соль соединения формулы I имеет по меньшей мере три пика ПРД, в единицах 2-тета выбранных из около $11,3^\circ$, около $16,4^\circ$, около $21,0^\circ$, около $23,0^\circ$, около $28,1^\circ$, около $31,2^\circ$ и около $32,8^\circ$. В некоторых вариантах реализации изобретения солянокислая соль соединения формулы I имеет по меньшей мере четыре пика ПРД, в единицах 2-тета выбранных из около $11,3^\circ$, около $16,4^\circ$, около $21,0^\circ$, около $23,0^\circ$, около $28,1^\circ$, около $31,2^\circ$ и около $32,8^\circ$. В некоторых вариантах реализации изобретения солянокислая соль соединения формулы I имеет по меньшей мере пять пиков ПРД, в единицах 2-тета выбранных из около $11,3^\circ$, около $16,4^\circ$, около $21,0^\circ$, около $23,0^\circ$, около $28,1^\circ$, около $31,2^\circ$ и около $32,8^\circ$. В некоторых вариантах реализации изобретения солянокислая соль соединения формулы I имеет практически такую же дифрактограмму ПРД, как показано на фиг. 3.

Таким же образом показания температуры в связи с ДСК, ТГА или другими термическими экспериментами могут изменяться на около $\pm 3^\circ\text{C}$ в зависимости от оборудования, конкретных параметров, пробоподготовки и т. д. Следовательно, кристаллическая форма, описанная в данном документе, имеет термограмму ДСК «практически» такую же, как показано на любой из фигур, или

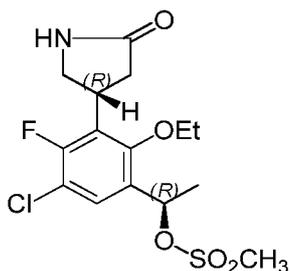
считают, что термин «около» компенсирует такое отличие. В некоторых вариантах реализации изобретения солянокислая соль соединения формулы I имеет термограмму ДСК, на которой наблюдается эндотермический пик при около 207 °С. В некоторых вариантах реализации изобретения солянокислая соль соединения формулы I имеет термограмму ДСК практически такую же, как показано на фиг. 1. В некоторых вариантах реализации изобретения солянокислая соль соединения формулы I имеет термограмму ТГА практически такую же, как показано на фиг. 2.

В некоторых вариантах реализации изобретения соли и соединения, описанные в данном документе (например, соединение формулы I или солянокислая соль соединения формулы I), по существу выделены. Под «по существу выделены» понимают, что соль или соединение по меньшей мере частично или в значительной степени отделено от среды, в которой оно было получено или обнаружено. Частичное отделение может включать, например, композицию, обогащенную солями, описанными в данном документе. Отделение в значительной степени может включать композиции, содержащие 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 массе солей, описанных в данном документе, или их солей. Способы выделения соединений и их солей известны в данной области техники.

Промежуточные соединения

В настоящей заявке дополнительно предложены промежуточные соединения, которые пригодны для получения соединения формулы I.

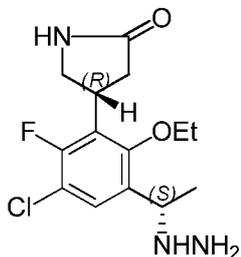
Следовательно, в некоторых вариантах реализации изобретения в настоящей заявке предложено соединение формулы XIV:



XIV

или его фармацевтически приемлемая соль.

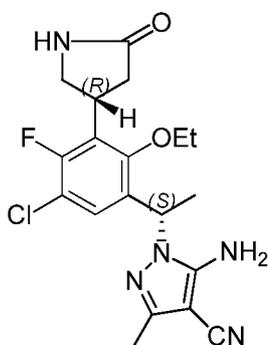
В настоящей заявке дополнительно предложено соединение формулы **XV**:



XV

или его фармацевтически приемлемая соль.

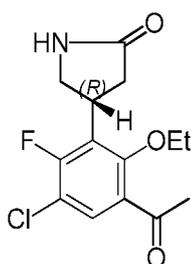
В настоящей заявке дополнительно предложено соединение формулы **XVI**:



XVI

или его фармацевтически приемлемая соль.

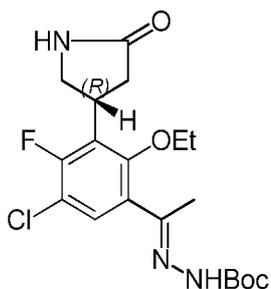
В настоящей заявке дополнительно предложено соединение формулы **XIX**:



XIX

или его фармацевтически приемлемая соль.

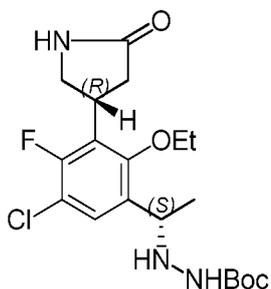
В настоящей заявке дополнительно предложено соединение формулы **XX**:



XX

или его фармацевтически приемлемая соль.

В настоящей заявке дополнительно предложено соединение формулы **XXI**:

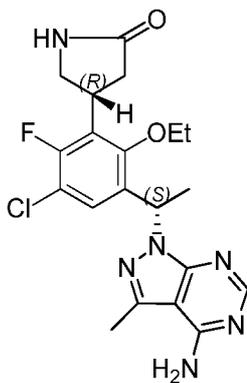


XXI

или его фармацевтически приемлемая соль.

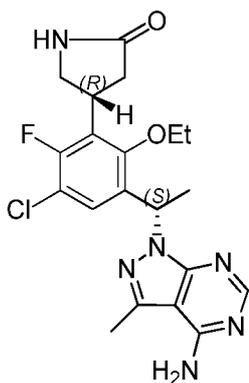
Способы

В настоящей заявке дополнительно предложен способ получения соли формулы **I**:



I.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ включает приведение соединения формулы **I**:



I

в контакт с соляной кислотой с получением указанной соли.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанная соляная кислота представляет собой 1 М водный раствор соляной кислоты.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **I** используют от около 3,3 до около 3,7 эквивалента соляной кислоты.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение в контакт осуществляют при температуре от около 45°C до около 55 °С.

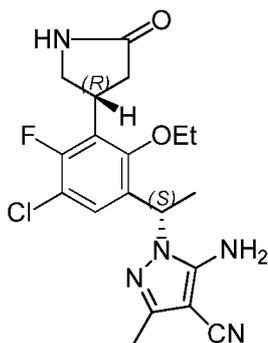
В некоторых вариантах реализации изобретения способ включает стадии, в которых:

к соединению формулы **I** при комнатной температуре добавляют соляную кислоту с образованием взвеси;

нагревают указанную взвесь до температуры от около 45°C до около 55°C с образованием раствора; и

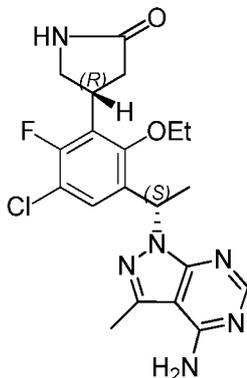
охлаждают раствор до температуры от около 0°C до около 5°C для кристаллизации указанной соли.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ включает приведение соединения формулы **XVI**:



XVI

в контакт с ацетатом формамидина с получением соединения формулы **I**:

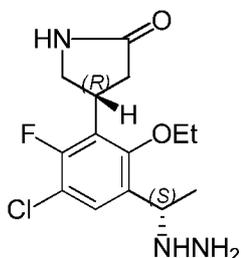
**I.**

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение в контакт соединения формулы **XVIc** ацетатом формамидина осуществляют в компоненте растворителя, содержащем 1,2-этанediол.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение в контакт соединения формулы **XVI** с ацетатом формамидина осуществляют при температуре от около 100°C до около 105 °C.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **XVI** используют от около 8 до около 10 эквивалентов ацетата формамидина.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ дополнительно включает получение соединения формулы **XVI** с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **XV**:

**XV**

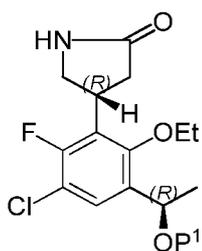
с (1-этоксидилен)малонитрилом в присутствии третичного амина.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный

третичный амин представляет собой *N*-метилпирролидинон.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение в контакт соединения формулы **XV** с (1-этоксиэтилиден)малоннитрилом осуществляют при температуре около комнатной.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ дополнительно включает получение соединения формулы **XV** с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **XIV-a**:



XIV-a

с гидразином в присутствии третичного амина, где P^1 представляет собой C_{1-6} алкилсульфонил.

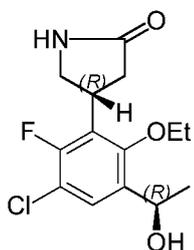
В некоторых вариантах реализации изобретения указанный третичный амин представляет собой *N*-метилпирролидинон.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение в контакт соединения формулы **XIV-a** с гидразином осуществляют при температуре от около 35°C до около 60 °C.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение в контакт соединения формулы **XIV-a** с гидразином осуществляют в компоненте растворителя, содержащем дихлорметан.

В некоторых вариантах реализации изобретения P^1 представляет собой метансульфонильную группу.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ дополнительно включает получение соединения формулы **XIV** с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **XIII**:



XIII

с C_{1-6} алкилсульфонилгалогенидом в присутствии третичного амина.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный C_{1-6} алкилсульфонилгалогенид представляет собой метансульфонилхлорид.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный третичный амин представляет собой *N,N*-диизопропилэтиламин.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **XIII** используют от около 1,1 до около 1,5 эквивалента алкилсульфонилгалогенида.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение соединения формулы **XIII** в контакт с C_{1-6} алкилсульфонилгалогенидом осуществляют при температуре от около -10°C до около 5°C .

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение соединения формулы **XIII** в контакт с C_{1-6} алкилсульфонилгалогенидом осуществляют в компоненте растворителя, содержащем дихлорметан.

В некоторых вариантах реализации изобретения стадии, в которых: (i) приводят указанное соединение формулы **XIII** в контакт с C_{1-6} алкилсульфонилгалогенидом; (ii) приводят указанное соединение формулы **XIV-a** в контакт с гидразином в присутствии третичного амина с образованием соединения формулы **XV**; и (iii) приводят указанное соединение формулы **XV** в контакт с ацетатом формамидина с образованием соединения формулы **XVI**, осуществляют в одном и том же реакторе без выделения соединения формулы **XIV-a** или соединения формулы **XV**.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ дополнительно включает получение соединения формулы **XVI** с помощью способа, включающего приведение в контакт соли формулы **XV-a**:

**XV-a**

с (1-этоксиэтилиден)малононитрилом в присутствии третичного амина, где TsOH представляет собой *p*-толуолсульфоновую кислоту.

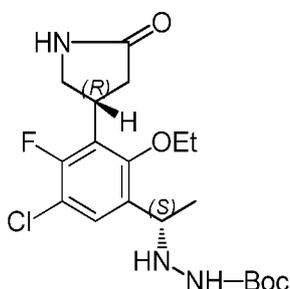
В некоторых вариантах реализации изобретения указанный третичный амин представляет собой *N,N*-диизопропилэтиламин.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение соли формулы **XV-a** в контакт с (1-этоксиэтилиден)малононитрилом осуществляют при температуре около комнатной.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соли формулы **XV-a** используют от около 1,3 до около 1,6 эквивалента (1-этоксиэтилиден)малононитрила.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение соли формулы **XV-a** в контакт с (1-этоксиэтилиден)малононитрилом осуществляют в компоненте растворителя, содержащем этанол.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ дополнительно включает получение соли формулы **XV-a** с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **XXI**:

**XXI**

с *p*-толуолсульфоновой кислотой, где Boc представляет собой трет-бутоксикарбонил.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанная *p*-

толуолсульфоновая кислота представляет собой моногидрат *p*-толуолсульфоновой кислоты.

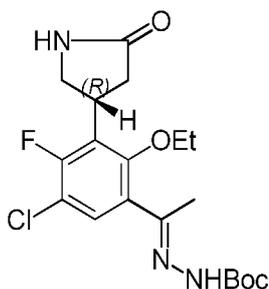
В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **XXI** используют от около 1,3 до около 1,6 эквивалента *p*-толуолсульфоновой кислоты.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение в контакт указанного соединения формулы **XXI** с *p*-толуолсульфоновой кислотой осуществляют при температуре от около 45°C до около 65 °C.

В некоторых вариантах реализации изобретения приведение указанного соединения формулы **XXI** в контакт с *p*-толуолсульфоновой кислотой осуществляют в компоненте растворителя, содержащем этанол.

В некоторых вариантах реализации изобретения стадии, в которых: (i) приводят указанное соединение формулы **XXI** в контакт с *p*-толуолсульфоновой кислотой с образованием соли формулы **XV-a**; и (ii) приводят указанную соль формулы **XV-a** в контакт с (1-этоксиэтилиден)малонитрилом, осуществляют в одном и том же реакторе без выделения соли формулы **XV-a**.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ дополнительно включает получение соединения формулы **XXI** с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **XX**:



XX

с газообразным водородом в присутствии одного или более независимо выбранных катализаторов гидрирования, где Boc представляет собой *трет*-бутоксикарбонил.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение соединения формулы **XX** в контакт с газообразным водородом осуществляют в присутствии двух независимо выбранных

катализаторов гидрирования.

В некоторых вариантах реализации изобретения один катализатор гидрирования представляет собой бис(1,5-циклооктадиен)родия (I) тетрафторборат, а другой представляет собой $(R) - (-) - 1 - \{ (S) - 2 - [\text{бис}(4\text{-трифторметилфенил) фосфин}] \text{ферроценил} \}$ этил-ди-*трет*-бутилфосфин.

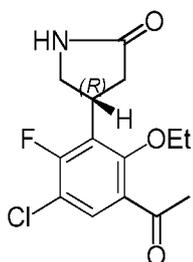
В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **XX** используют от около 13,5 до около 14,5 эквивалентов бис(1,5-циклооктадиен)родия (I) тетрафторбората.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **XX** используют от около 12 до около 13 эквивалентов $(R) - (-) - 1 - \{ (S) - 2 - [\text{бис}(4\text{-трифторметилфенил) фосфин}] \text{ферроценил} \}$ этил-ди-*трет*-бутилфосфина.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение соединения формулы **XX** в контакт с газообразным водородом осуществляют при температуре около комнатной.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение соединения формулы **XX** в контакт с газообразным водородом осуществляют в компоненте растворителя, содержащем метанол.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ дополнительно включает получение соединения формулы **XX** с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **XIX**:



XIX

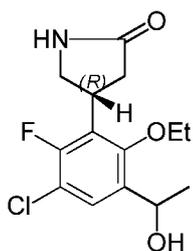
с *трет*-бутилкарбазатом.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение соединения формулы **XIX** в контакт с *трет*-бутилкарбазатом осуществляют при температуре от около 60°C до

около 70 °С.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение соединения формулы XIX в контакт с трет-бутилкарбазатом осуществляют в компоненте растворителя, содержащем метанол.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ дополнительно включает получение соединения формулы XIX с помощью способа, включающего окисление соединения формулы XIII-a:



XIII-a

в присутствии окисляющего агента.

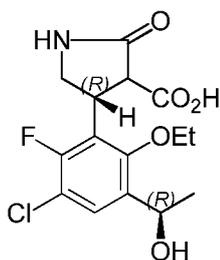
В некоторых вариантах реализации изобретения указанный окисляющий агент представляет собой периодинан Десса-Мартина.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы XIII-a используют от около 1,2 до около 1,7 эквивалента указанного окисляющего агента.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное окисление соединения формулы XIII-a осуществляют при температуре около комнатной.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное окисление соединения формулы XIII-a осуществляют в компоненте растворителя, содержащем дихлорметан.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соединение формулы XIII получают с помощью способа, включающего нагревание соединения формулы XII:



XII

в присутствии компонента растворителя.

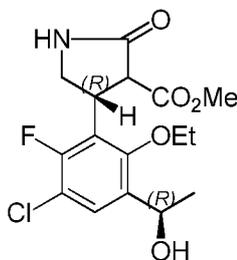
В некоторых вариантах реализации изобретения указанное нагревание осуществляют при температуре от около 95°C до около 105 °C.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный компонент растворителя содержит 1,4-диоксан.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный компонент растворителя содержит толуол.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный компонент растворителя содержит 1,4-диоксан и толуол.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соединение формулы **XII** получают с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **XI**:



XI

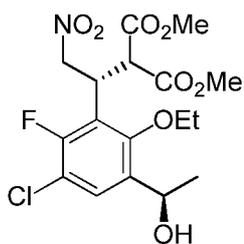
в присутствии сильного основания.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное сильное основание представляет собой гидроксид натрия.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное сильное основание представляет собой 1 М водный раствор гидроксида натрия.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение в контакт осуществляют при температуре около комнатной.

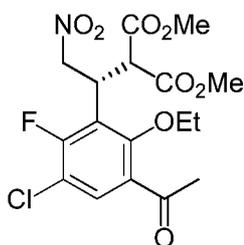
В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соединение формулы **XI** получают с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **X**:

**X**

с газообразным водородом в присутствии никеля Ренея.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение в контакт осуществляют при температуре от около 50°C до около 70 °С.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соединение формулы **X** получают с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **IX**:

**IX**

в присутствии эфирата трифторида бора, катализатора (3aS)-1-метил-3,3-дифенилтетрагидро-3H-пирроло [1,2-с] [1,3,2]оксазаборола ((S)-MeCBS) и комплекса борана.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **IX** используют от около 0,03 до около 0,07 эквивалента эфирата трифторида бора.

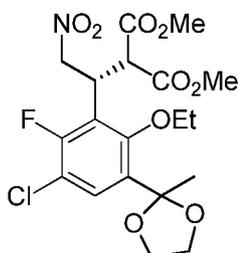
В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **IX** используют от около 0,05 до около 0,15 эквивалента катализатора (3aS)-1-метил-3,3-дифенилтетрагидро-3H-пирроло [1,2-с] [1,3,2]оксазаборола ((S)-MeCBS).

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный комплекс борана представляет собой 1,0 М комплекс боран-ТГФ в ТГФ.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **IX** используют от около 0,9 до около 1,1 эквивалента комплекса борана.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение в контакт осуществляют при температуре около комнатной.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соединение формулы **IX** получают с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **VIII**:



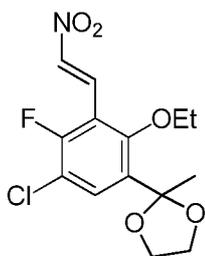
VIII

с йодом в присутствии компонента растворителя.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный компонент растворителя содержит ацетон.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **VIII** используют от около 0,75 до около 1,25 эквивалента йода.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соединение формулы **VIII** получают с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **VII**:



VII

с диметилмалонатом в присутствии катализатора.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный катализатор представляет собой (1*S*,2*S*)-*N,N'*-дибензилциклогексан-1,2-диаминодибромникель (катализатор Эванса).

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **VII** используют от около 1,1 до около 1,3 эквивалента диметилмалоната.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1

эквивалент соединения формулы **VII** используют от около 0,02 до около 0,03 эквивалента катализатора, содержащего переходной металл.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соединение формулы **VII** получают с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **VI**:



VI

с нитрометаном в присутствии органической кислоты для получения первой смеси.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанная органическая кислота представляет собой ледяную уксусную кислоту.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **VI** используют от около 9,5 до около 10,5 эквивалентов нитрометана.

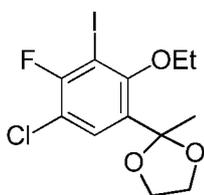
В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение в контакт дополнительно включает добавление аминного основания к указанной первой смеси с образованием второй смеси.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное аминное основание представляет собой бензиламин.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **VI** используют от около 0,2 до около 0,3 эквивалента аминного основания.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанную вторую смесь нагревают при от около 55°C до около 65 °C.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соединение формулы **VI** получают с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **V**:



V

с комплексом (C_{1-4} алкил)магнийгалогенида с образованием первой смеси.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный комплекс (C_{1-4} алкил)магнийгалогенида представляет собой комплекс изопропилмагнийхлорида и хлорида лития с концентрацией 1,3 М.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **V** используют от около 1,1 до около 1,3 эквивалента указанного комплекса (C_{1-4} алкил)магнийгалогенида.

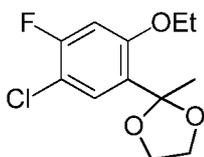
В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение в контакт дополнительно включает добавление *N*-формилморфолина к указанной первой смеси с образованием второй смеси.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **V** используют от около 1,8 до около 2,2 эквивалента *N*-формилморфолина.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение в контакт осуществляют при температуре от около $-5^{\circ}C$ до около $10^{\circ}C$.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соединение формулы **V** получают в соответствии с методиками, описанными в публикации США № 2013-0059835A1.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соединение формулы **VI** получают с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **V-a**:



V-a

с *N,N*-диметилформамидом в присутствии диизопропиламида

лития.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный диизопропиламид лития получают путем приведения в контакт *N,N*-диизопропиламина в присутствии *n*-бутиллития.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный диизопропиламид лития получают при температуре от около -75°C до около 5°C .

В некоторых вариантах реализации изобретения:

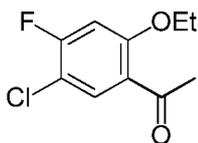
(i) указанное соединение формулы **V-a** приводят в контакт с диизопропиламидом лития с образованием первой смеси; и

(ii) к указанной первой смеси добавляют *N,N*-диметилформамид с образованием второй смеси.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **V-a** используют от около 1,2 до около 1,3 эквивалента аминного основания.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **V-a** используют от около 1,4 до около 1,6 эквивалента *N,N*-диметилформамида.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соединение формулы **V-a** получают с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **IV-a**:



IV-a

с 1,2-этанジオлом в присутствии *p*-толуолсульфоновой кислоты.

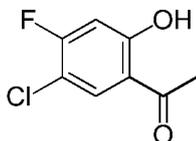
В некоторых вариантах реализации изобретения указанная *p*-толуолсульфоновая кислота представляет собой моногидрат *p*-толуолсульфоновой кислоты.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **IV-a** используют от около 2,2 до около 2,7 эквивалента 1,2-этандиола.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **IV-a** используют от около 0,05 до около 0,1 эквивалента *p*-толуолсульфоновой кислоты.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение в контакт осуществляют при кипячении с обратным холодильником.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соединение формулы **IV-a** получают с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **II**:



II

с $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-X}^1$ в присутствии основания карбоната щелочного металла, где:

X^1 представляет собой галогенид.

В некоторых вариантах реализации изобретения X^1 представляет собой йодид.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное основание карбонат щелочного металла представляет собой карбонат калия.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **II** используют от около 1,1 до около 1,3 эквивалента $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-X}^1$.

В некоторых вариантах реализации изобретения на 1 эквивалент соединения формулы **II** используют от около 1,8 до около 2,2 эквивалента основания карбоната щелочного металла.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное приведение в контакт осуществляют при температуре от около 55°C до около 65 °C.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное соединение формулы **II** получают в соответствии с методиками, описанными в публикации США № 2013-0059835A1.

Понятно, что некоторые признаки изобретения, которые для ясности описаны в различных вариантах реализации изобретения, также могут быть объединены в один вариант реализации изобретения (хотя предполагается, что варианты реализации объединены, как если бы были записаны в многозависимой форме). С

другой стороны, различные признаки изобретения, которые для краткости описаны в одном варианте реализации изобретения, также могут быть представлены отдельно или в любой подходящей подкомбинации.

Соли и соединения, описанные в данном документе, могут быть асимметрическими (например, имеющими один или более стереоцентров). Если стереохимия не указана, то предполагаются все стереоизомеры, такие как энантиомеры и диастереомеры, если структурой или названием не указано иное. Соли и соединения по настоящей заявке, которые содержат асимметрично замещенные атомы углерода, могут быть выделены в оптически активных или рацемических формах. Способы получения оптически активных форм из оптически неактивных исходных веществ известны в данной области техники, как, например, разделение рацемических смесей или с помощью стереоселективного синтеза. Также в солях и соединениях, описанных в данном документе, могут присутствовать различные геометрические изомеры олефинов, двойных связей C=N и тому подобного, и все такие стабильные изомеры предусмотрены в настоящей заявке. Описаны *цис* и *транс* геометрические изомеры солей и соединений по настоящей заявке, и они могут быть выделены в виде смеси изомеров или в виде отдельных изомерных форм.

Разделение рацемических смесей солей и соединений может быть проведено любым из многочисленных способов, известных в данной области техники. Иллюстративный способ включает фракционную перекристаллизацию с использованием хиральной разделяющей кислоты, которая является оптически активной солеобразующей органической кислотой. Пригодные разделяющие агенты для способов фракционной перекристаллизации представляют собой, например, оптически активные кислоты, такие как D- и L-формы винной кислоты, диацетилвинной кислоты, дибензоилвинной кислоты, миндальной кислоты, яблочной кислоты, молочной кислоты или различных оптически активных камфорсульфокислот, таких как β -камфорсульфокислота. Другие разделяющие агенты, пригодные для способов фракционной перекристаллизации, включают стереоизомерно

чистые формы α -метилбензиламина (например, *S*- и *R*-формы или диастереомерно чистые формы), 2-фенилглицинол, норэфедрин, эфедрин, *N*-метилэфедрин, циклогексилэтиламин, 1,2-диаминоциклогексан и тому подобное.

Разделение рацемических смесей также может быть проведено элюированием на колонке, содержащей оптически активный разделяющий агент (например, динитробензоилфенилглицин). Специалист в данной области техники может определить подходящий состав растворителей для элюирования.

Соли и соединения по данному изобретению могут также содержать все изотопы атомов, которые встречаются в промежуточных или конечных солях или соединениях. Изотопы включают те атомы, которые имеют одинаковый атомный номер, но различные массовые числа. Например, изотопы водорода включают тритий и дейтерий.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединения или соли могут находиться вместе с другими веществами, такими как вода и растворители (например, гидраты и сольваты), или могут быть выделены.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединения, описанные в данном документе, или их соли (например, солянокислая соль соединения формулы I) по существу выделены. Под «по существу выделены» понимают, что соединение по меньшей мере частично или в значительной степени отделено от среды, в которой оно было получено или обнаружено. Частичное отделение может включать, например, композицию, обогащенную соединениями по данному изобретению. Отделение в значительной степени может включать композиции, содержащие 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%, по меньшей мере около 99% по массе соединений по данному изобретению или их солей. Способы выделения соединений и их солей известны в данной области техники.

Фразу «фармацевтически приемлемый» в данном документе

используют для обозначения таких соединений, веществ, композиций и/или лекарственных форм, которые по результатам тщательной медицинской оценки подходят для применения в контакте с тканями человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, соразмерно с разумным соотношением пользы/риска.

Необходимо понимать, что соединения, представленные в данном документе, включая их соли, могут быть получены с использованием известных методик органического синтеза и могут быть синтезированы в соответствии с любым из различных возможных синтетических подходов. Способы, описанные в данном документе, можно контролировать в соответствии с любым подходящим способом, известным в данной области техники. Например, за образованием продукта можно следить с помощью спектроскопии, такой как спектроскопия ядерного магнитного резонанса (например, ^1H или ^{13}C), инфракрасная спектроскопия или спектрофотометрия (например, УФ и видимой области); или с помощью хроматографии, такой как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) или тонкослойная хроматография (ТСХ), или с помощью других родственных методов.

При использовании в данном документе, термин «приведение в контакт» используется так, как это известно в данной области техники и, как правило, относится к объединению химических реагентов таким образом, что обеспечивается возможность их взаимодействия на молекулярном уровне для достижения химического или физического преобразования. В некоторых вариантах реализации изобретения приведение в контакт включает два реагента, причем используют один или более эквивалентов второго реагента по сравнению с первым реагентом. Стадии реакций способов, описанных в данном документе, могут быть осуществлены в течение времени и в условиях, пригодных для получения указанного продукта.

Реакции способов, описанных в данном документе, могут быть осуществлены в подходящих растворителях, которые легко могут быть подобраны специалистом в области органического синтеза. Подходящими растворителями могут быть растворители, практически не реагирующие с исходными веществами (реагентами),

промежуточными соединениями или продуктами при температурах проведения реакций, например, при температурах, которые могут изменяться от температуры замерзания растворителя до температуры кипения растворителя. Данную реакцию можно проводить в одном растворителе или в смеси более чем одного растворителя. В зависимости от конкретной стадии реакции могут быть подобраны пригодные растворители для конкретной стадии реакции.

Пригодные растворители могут включать галогенированные растворители, такие как тетрахлорид углерода, бромдихлорметан, дибромхлорметан, бромформ, хлороформ, бромхлорметан, дибромметан, бутилхлорид, дихлорметан, тетрахлорэтилен, трихлорэтилен, 1,1,1-трихлорэтан, 1,1,2-трихлорэтан, 1,1-дихлорэтан, 2-хлорпропан, 1,2-дихлорэтан, 1,2-дибромэтан, гексафторбензол, 1,2,4-трихлорбензол, 1,2-дихлорбензол, хлорбензол, фторбензол, их смеси и тому подобное.

Подходящие эфирные растворители включают: диметоксиметан, тетрагидрофуран, 1,3-диоксан, 1,4-диоксан, фуран, диэтиловый эфир, диметилловый эфир этиленгликоля, диэтиловый эфир этиленгликоля, диметилловый эфир диэтиленгликоля, диэтиловый эфир диэтиленгликоля, диметилловый эфир триэтиленгликоля, анизол, метил-*трет*-бутиловый эфир, их смеси и тому подобное.

Пригодные 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- или 3-пентанол, неопентиловый спирт, *трет*-пентиловый спирт, монометилловый эфир диэтиленгликоля, моноэтиловый эфир диэтиленгликоля, циклогексанол, бензиловый спирт, фенол или глицерин.

Пригодные 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(1*H*)-пиримидинон (DMPU), 1,3-диметил-2-имидазолидинон (DMI), *N*-метилпирролидинон (NMP), формамид, *N*-метилацетамид, *N*-метилформамид, ацетонитрил, диметилсульфоксид,

пропионитрил, этилформиат, метилацетат, гексахлорацетон, ацетон, метилэтилкетон, этилацетат, сульфолан, *N,N*-диметилпропионамид, тетраметилмочевину, нитрометан, нитробензол или гексаметилфосфорамида.

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

Реакции способов, описанных в данном документе, могут быть проведены при подходящих температурах, которые легко могут быть определены специалистом в данной области техники. Температуры реакции зависят, например, от температур плавления и кипения реагентов и растворителя, при его наличии; термодинамики реакции (например, для проведения бурных экзотермических реакций могут потребоваться пониженные температуры); и кинетики реакции (например, при высоком активационном энергетическом барьере могут потребоваться повышенные температуры).

Выражения «температура окружающей среды» и «комнатная температура» или «кт», при использовании в данном документе, понятны в данной области и относятся, как правило, к температуре, например, температуре реакции, которая примерно равна температуре в комнате, в которой проводят реакцию, например температуре от около 20°C до около 30 °C.

Реакции способов, описанных в данном документе, могут быть проведены на воздухе или в инертной атмосфере. Как правило, реакции, включающие реагенты или продукты, которые в значительной степени взаимодействуют с воздухом, могут быть проведены с использованием чувствительных к воздуху синтетических приемов, хорошо известных специалистам в данной области техники.

Способы применения

Соли и соединения по данному изобретению могут модулировать активность одной или более из различных киназ, в том числе, например, фосфоинозитид-3-киназа (PI3K). Термин «модулировать» относится к способности увеличивать или уменьшать активность

одного или более членов семейства РІЗК. Следовательно, соли и соединения по данному изобретению можно использовать в способах модулирования РІЗК путем приведения РІЗК в контакт с одной или более солями, соединениями или композициями, описанными в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения соли и соединения по настоящей заявке могут действовать как ингибиторы одной или более РІЗК. В дополнительных вариантах реализации изобретения соли и соединения по данному изобретению можно использовать для модулирования активности РІЗК у индивида, который нуждается в модулировании рецептора, путем введения модулирующего количества соединения по данному изобретению или его фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах реализации изобретения модулирование представляет собой ингибирование.

В связи с тем, что на рост и выживаемость клеток рака влияют многочисленные сигнальные пути, настоящее изобретение подходит для лечения болезненных состояний, которые характеризуются мутантами киназ, устойчивыми к лекарственным средствам. Дополнительно, различные ингибиторы киназ, которые модулируют активность различных киназ, можно использовать в комбинации. Этот подход может оказаться высокоэффективным при лечении болезненных состояний путем воздействия на несколько сигнальных путей, уменьшать вероятность возникновения устойчивости к лекарственным средствам в клетке и уменьшать токсичность лечения заболевания.

Киназы, которые соли и соединения по настоящему изобретению связывают и/или модулируют (например, ингибируют), включают любого члена семейства РІЗК. В некоторых вариантах реализации изобретения РІЗК представляет собой РІЗК α , РІЗК β , РІЗК δ или РІЗК γ . В некоторых вариантах реализации изобретения РІЗК представляет собой РІЗК δ или РІЗК γ . В некоторых вариантах реализации изобретения РІЗК представляет собой РІЗК δ . В некоторых вариантах реализации изобретения РІЗК представляет собой РІЗК γ . В некоторых вариантах реализации изобретения РІЗК содержит мутацию. Мутация может представлять собой замену одной

аминокислоты на другую или удаление одной или более аминокислот. В таких вариантах реализации изобретения мутация может присутствовать в киназном домене P13K.

В некоторых вариантах реализации изобретения более чем одну соль или соединение по данному изобретению используют для ингибирования активности одной киназы (например, P13K δ или P13K γ).

В некоторых вариантах реализации изобретения более чем одну соль или соединение по данному изобретению используют для ингибирования более чем одной киназы, как, например, по меньшей мере двух киназ (например, P13K δ и P13K γ).

В некоторых вариантах реализации изобретения одну или более солей или соединений используют в комбинации с другим ингибитором киназы для ингибирования активности одной киназы (например, P13K δ или P13K γ).

В некоторых вариантах реализации изобретения одну или более солей или соединений используют в комбинации с другим ингибитором киназы для ингибирования активности более чем одной киназы (например, P13K δ или P13K γ), как, например, по меньшей мере двух киназ.

Соли и соединения по данному изобретению могут быть селективными. «Селективный» означает, что соединение связывается с или ингибирует киназу с большей аффинностью или эффективностью, соответственно, по сравнению с по меньшей мере одной отличной киназой. В некоторых вариантах реализации изобретения соли и соединения по данному изобретению представляют собой селективные ингибиторы P13K δ или P13K γ по сравнению с P13K α и/или P13K β . В некоторых вариантах реализации изобретения соли и соединения по данному изобретению представляют собой селективные ингибиторы P13K δ (например, по сравнению с P13K α , P13K β и P13K γ). В некоторых вариантах реализации изобретения соли и соединения по данному изобретению представляют собой селективные ингибиторы P13K δ (например, по сравнению с P13K α , P13K β и P13K γ). В некоторых вариантах

реализации изобретения селективность может представлять собой различие по меньшей мере в около 2 раза, 5 раз, 10 раз, по меньшей мере в около 20 раз, по меньшей мере в около 50 раз, по меньшей мере в около 100 раз, по меньшей мере в около 200 раз, по меньшей мере в около 500 раз или по меньшей мере в около 1000 раз. Селективность может быть измерена способами, известными в данной области техники. В некоторых вариантах реализации изобретения селективность может быть исследована при концентрации K_m АТФ для каждого фермента. В некоторых вариантах реализации изобретения селективность солей и соединений по данному изобретению можно определить с использованием клеточных анализов, связанных с активностью конкретной киназы PI3K.

Другой аспект настоящей заявки относится к способам лечения заболевания или расстройства, связанного с киназой (такой как PI3K), у индивида (например, пациента) путем введения индивиду, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества или дозы одной или более солей или соединений по настоящей заявке или фармацевтической композиции на их основе. Заболевание, связанное с PI3K, может включать любое заболевание, расстройство или патологическое состояние, которое прямо или косвенно связано с экспрессией или активностью PI3K, включая сверхэкспрессию и/или аномальную активность. В некоторых вариантах реализации изобретения заболевание может быть связано с Akt (протеинкиназа B), мишенью рапамицина в клетках млекопитающих (mTOR) или фосфоинозитид-зависимой киназой 1 (PDK1). В некоторых вариантах реализации изобретения заболевание, связанное с mTOR, может представлять собой воспаление, атеросклероз, псориаз, рестеноз, доброкачественную гипертрофию предстательной железы, поражения костей, панкреатит, ангиогенез, диабетическую ретинопатию, атеросклероз, артрит, иммунологические расстройства, заболевание почек или рак. Заболевание, связанное с PI3K, может также включать любое заболевание, расстройство или патологическое состояние, которое можно предотвратить, ослабить или вылечить модулированием активности PI3K. В некоторых вариантах реализации изобретения заболевание характеризуется аномальной активностью PI3K. В

некоторых вариантах реализации изобретения заболевание характеризуется мутантной РІЗК. В таких вариантах реализации изобретения мутация может присутствовать в киназном домене РІЗК.

Примеры заболеваний, связанных с РІЗК, включают иммунные заболевания, в том числе системные, включая, например, ревматоидный артрит, аллергию, астму, гломерулонефрит, волчанку или воспаление, связанное с любым заболеванием из вышеперечисленных.

Дополнительные примеры заболеваний, связанных с РІЗК, включают рак, такой как рак молочной железы, предстательной железы, толстой кишки, эндометрия, мозга, мочевого пузыря, кожи, матки, яичника, легкого, поджелудочной железы, почек, желудка или гемобластоз.

Дополнительные примеры заболеваний, связанных с РІЗК, включают заболевания легких, такие как острое повреждение легких (ОПЛ) и острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) у взрослых.

Дополнительные примеры РІЗК-связанных заболеваний включают остеоартрит, рестеноз, атеросклероз, поражения костей, артрит, диабетическую ретинопатию, псориаз, доброкачественную гипертрофию предстательной железы, воспаление, ангиогенез, панкреатит, заболевание почек, воспалительное заболевание кишечника, миастению гравис, рассеянный склероз или синдром Шегрена и тому подобное.

Дополнительные примеры заболеваний, связанных с РІЗК, включают идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру (ИТП), аутоиммунную гемолитическую анемию (АГА), васкулит, системную красную волчанку, волчаночный нефрит, пемфигус, мембранозную нефропатию, хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), неходжкинскую лимфому (НХЛ), волосатоклеточный лейкоз, лимфому из клеток мантийной зоны, лимфому Беркитта, мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому, фолликулярную лимфому, лимфоплазмочитарную лимфому, экстранодальную лимфому из клеток маргинальной зоны, диффузную В-крупноклеточную лимфому из клеток, подобных активированным В-клеткам (АВК), или диффузную В-крупноклеточную лимфому из В-клеток зародышевого центра (ЗЦВ).

В некоторых вариантах реализации изобретения заболевание

выбрано из идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ИТП), аутоиммунной гемолитической анемии, васкулита, системной красной волчанки, волчаночного нефрита, пемфигуса, аутоиммунной гемолитической анемии (АГА), мембранозной нефропатии, хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), неходжкинской лимфомы (НХЛ), волосатоклеточного лейкоза, лимфомы из клеток мантийной зоны, лимфомы Беркитта, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфоплазмоцитарной лимфомы, экстранодальной лимфомы из клеток маргинальной зоны, лимфомы Ходжкина, макроглобулинемии Вальденстрема, пролимфоцитарного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, миелофиброза, лимфомы, возникающей из лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками (MALT), В-клеточной лимфомы, медиастинальной (тимической) В-крупноклеточной лимфомы, лимфогранулематоза, лимфомы из клеток маргинальной зоны селезенки, первичной выпотной лимфомы, внутрисосудистой В-крупноклеточной лимфомы, плазмноклеточного лейкоза, экстрамедуллярной плазмацитомы, тлеющей миеломы (также называемой бессимптомной миеломой), моноклональной гаммапатии неопределенного значения (МГНЗ) и В-клеточной лимфомы.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ представляет собой способ лечения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ИТП), выбранной из рецидивирующей ИТП и рефрактерной ИТП.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ представляет собой способ лечения васкулита, выбранного из болезни Бехчета, синдрома Когана, гигантоклеточного артериита, ревматической полимиалгии (РП), артериита Такаясу, болезни Бюргера (облитерирующего тромбангиита), васкулита центральной нервной системы, болезни Кавасаки, нодозного полиартериита, синдрома Чарга-Стросса, смешанного криоглобулинемического васкулита (эссенциального или вызванного вирусом гепатита С (ВГС)), пурпуры Шенлейна-Геноха (ПШГ), лейкоцитокластического васкулита, микроскопического полиангиита, гранулематоза Вегенера и ассоциированного с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (АНЦА) системного васкулита (ААСВ).

В некоторых вариантах реализации изобретения способ представляет собой способ лечения неходжкинской лимфомы (НХЛ), выбранной из рецидивирующей НХЛ, рефрактерной НХЛ и вторичной фолликулярной НХЛ.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ представляет собой способ лечения В-клеточной лимфомы, причем указанная В-клеточная лимфома представляет собой диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДВККЛ).

В некоторых вариантах реализации изобретения способ представляет собой способ лечения В-клеточной лимфомы, причем указанная В-клеточная лимфома представляет собой диффузную В-крупноклеточную лимфому из клеток, подобных активированным В-клеткам (АВК), или диффузную В-крупноклеточную лимфому из В-клеток зародышевого центра (ЗЦВ).

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание представляет собой остеоартрит, рестеноз, атеросклероз, поражения костей, артрит, диабетическую ретинопатию, псориаз, доброкачественную гипертрофию предстательной железы, воспаление, ангиогенез, панкреатит, заболевание почек, воспалительное заболевание кишечника, миастению гравис, рассеянный склероз или синдром Шегрена.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание представляет собой ревматоидный артрит, аллергию, астму, гломерулонефрит, волчанку или воспаление, связанное с любым заболеванием из вышеперечисленных.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанная волчанка представляет собой системную красную волчанку или волчаночный нефрит.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание представляет собой рак молочной железы, рак предстательной железы, рак толстой кишки, рак эндометрия, рак мозга, рак мочевого пузыря, рак кожи, рак матки, рак яичника, рак легкого, рак поджелудочной железы, рак почки, рак желудка или гемобластоз.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный гемобластоз представляет собой острый миелобластный лейкоз или

хронический миелоидный лейкоз.

В некоторых вариантах реализации изобретения указанный гемобластоз представляет собой В-клеточные лимфолейкозы, в том числе индолентную/агрессивную В-клеточную неходжкинскую лимфому (НХЛ) и лимфому Ходжкина (ХЛ).

В некоторых вариантах реализации изобретения указанное заболевание представляет собой острое повреждение легких (ОПЛ) или острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) у взрослых.

При использовании в данном документе, термин «приведение в контакт» относится к объединению указанных фрагментов в системе *in vitro* или в системе *in vivo*. Например, «приведение в контакт» РІЗК с соединением по данному изобретению включает введение соединения по настоящей заявке индивиду или пациенту, такому как человек, имеющему РІЗК, а также, например, введение соединения по данному изобретению в образец, содержащий клеточный или очищенный препарат, содержащий РІЗК.

При использовании в данном документе, термины «индивид» или «пациент», используемые взаимозаменяемо, относятся к любому животному, в том числе млекопитающим, предпочтительно мышам, крысам, другим грызунам, кроликам, собакам, котам, свиньям, крупному рогатому скоту, овцам, лошадям или приматам и наиболее предпочтительно людям.

При использовании в данном документе, фраза «терапевтически эффективное количество» относится к количеству активного соединения или фармацевтического агента, которое вызывает биологический или медицинский отклик в ткани, системе, животном, индивиде или человеке, необходимый исследователю, ветеринару, врачу или другому клиницисту. В некоторых вариантах реализации изобретения дозировка соединения или его фармацевтически приемлемой соли, вводимая пациенту или индивиду, составляет от около 1 мг до около 2 г, от около 1 мг до около 1000 мг, от около 1 мг до около 500 мг, от около 1 мг до около 100 мг, от около 1 мг до 50 мг или от около 50 мг до около 500 мг.

При использовании в данном документе, термин «лечить» или «лечение» относится к одному или более из: (1) предупреждения заболевания; например, предупреждения заболевания,

патологического состояния или расстройства у индивида, который может быть предрасположен к заболеванию, патологическому состоянию или расстройству, но еще не ощущает или не демонстрирует патологии или симптоматологии заболевания; (2) ингибирования заболевания; например, ингибирования заболевания, патологического состояния или расстройства у индивида, который ощущает или демонстрирует патологию или симптоматологию заболевания, патологического состояния или расстройства (т. е. остановка дальнейшего развития патологии и/или симптоматологии); и (3) ослабления заболевания; например, ослабления заболевания, патологического состояния или расстройства у индивида, который ощущает или демонстрирует патологию или симптоматологию заболевания, патологического состояния или расстройства (т. е. реверсия патологии и/или симптоматологии), такого как уменьшение тяжести заболевания.

Комбинированная терапия

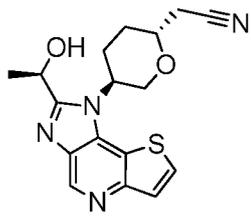
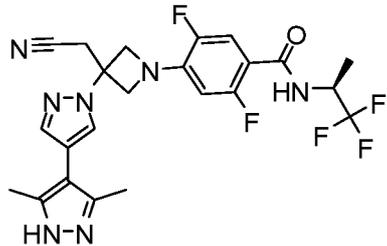
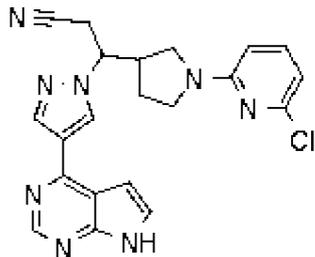
Для лечения заболеваний, расстройств или патологических состояний, связанных с PI3K, в комбинации с солями или соединениями по настоящей заявке можно использовать один или более дополнительных фармацевтических агентов, таких как, например, химиотерапевтические агенты, противовоспалительные агенты, стероиды, иммунодепрессанты, а также ингибиторы киназ Bcr-Abl, Flt-3, EGFR, HER2, JAK (например, JAK1 или JAK2), c-MET, VEGFR, PDGFR, cKit, IGF-1R, RAF, FAK, Akt mTOR, PIM и AKT (например, AKT1, AKT2 или AKT3), такие как, например, описанные в WO 2006/056399, или другие агенты, такие как терапевтические антитела. Один или более дополнительных фармацевтических агентов можно вводить пациенту одновременно или последовательно.

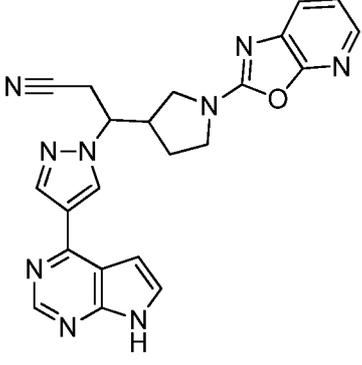
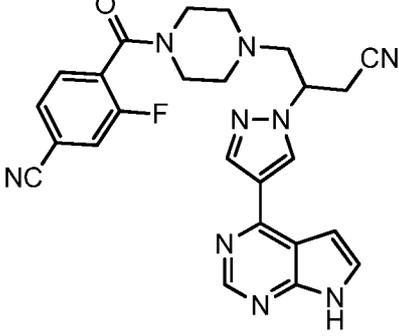
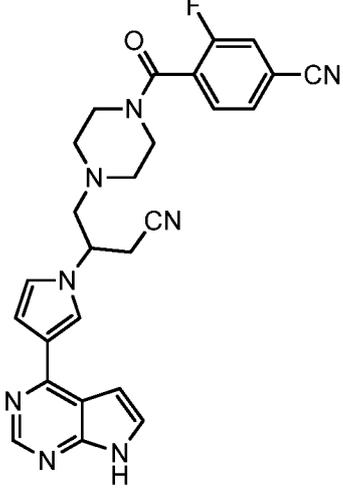
В некоторых вариантах реализации изобретения дополнительный фармацевтический агент представляет собой ингибитор JAK1 и/или JAK2. В некоторых вариантах реализации изобретения в настоящей заявке предложен способ лечения заболевания, описанного в данном документе (например, В-клеточного злокачественного новообразования, такое как диффузная В-клеточная лимфома), у пациента, включающий введение пациенту соединения, описанного в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли и

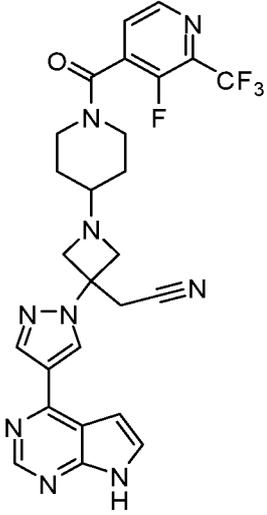
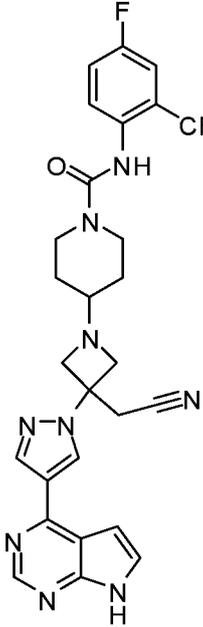
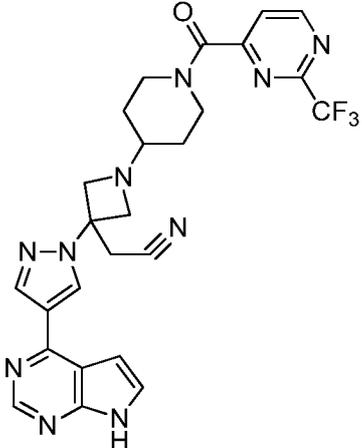
ингибитора JAK1 и/или JAK2. В-клеточные злокачественные новообразования могут включать те, которые описаны в данном документе и в публикации США № 61/976815, поданной 8 апреля 2014 г.

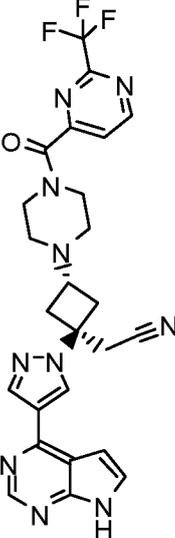
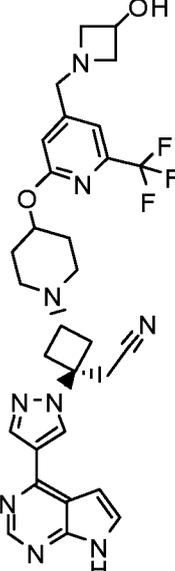
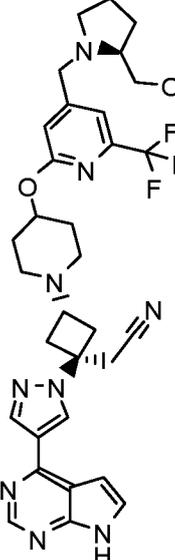
В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой соединение из Таблицы 1 или его фармацевтически приемлемую соль. Соединения в Таблице 1 представляют собой селективные ингибиторы JAK1 (селективные по сравнению с JAK2, JAK3 и TYK2). В Таблице 1 приведены значения IC₅₀, полученные способом, представленным в Анализе А, при 1 мМ АТФ.

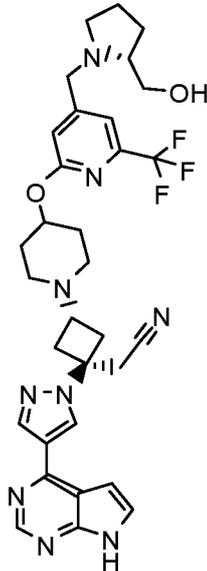
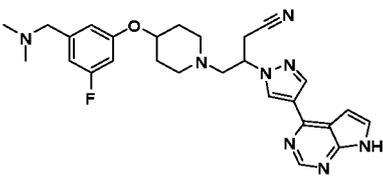
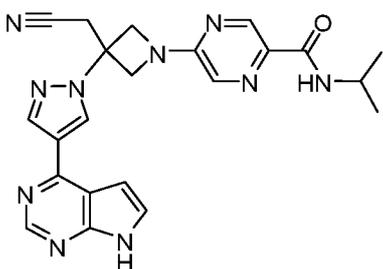
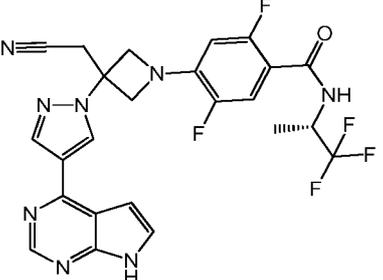
Таблица 1

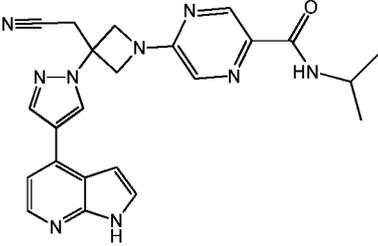
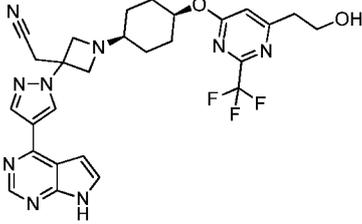
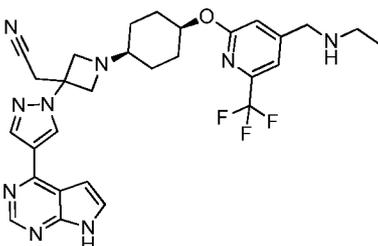
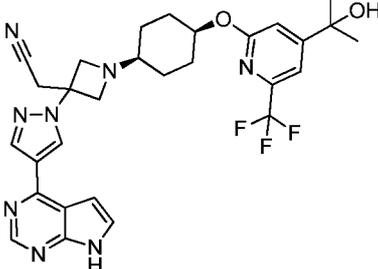
#	Получ.	Название	Структура	JAK1 IC ₅₀ (нМ)	JAK2/ JAK1
1	US 2014/01 21198 (пример 20)	((2 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-5-{2- [(1 <i>R</i>)-1- гидроксиэтил]-1 <i>H</i> - имидазо[4,5- <i>d</i>]тиено[3,2- <i>b</i>]пиридин-1- ил}тетрагидро-2 <i>H</i> - пиран-2- ил) ацетонитрил		++	>10
2	US 2014/03 43030 (пример 7)	4-[3-(цианометил)- 3-(3',5'-диметил- 1 <i>H</i> ,1' <i>H</i> -4,4'- бипиразол-1- ил)азетидин-1-ил]- 2,5-дифтор- <i>N</i> -[(1 <i>S</i>)- 2,2,2-трифтор-1- метилэтил]бензамид		+++	>10
3	US 2010/ 0298334 (пример 2) ^a	3-[1-(6- хлорпиридин-2- ил)пирролидин-3- ил]-3-[4-(7 <i>H</i> - пирроло[2,3- <i>d</i>]пиримидин-4-ил)- 1 <i>H</i> -пирразол-1- ил]пропаннитрил		+	>10

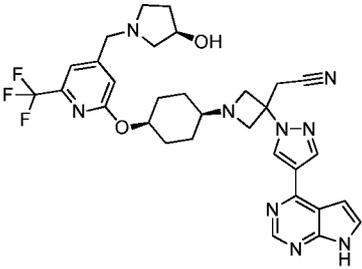
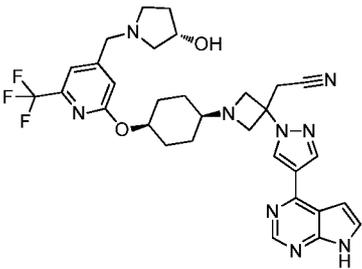
#	Получ.	Название	Структура	JAK1 IC ₅₀ (нМ)	JAK2/ JAK1
4	US 2010/ 0298334 (пример 13с)	3- (1- [1,3]оксазоло[5,4- b]пиридин-2- илпирролидин-3-ил) - 3-[4-(7H- пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил) - 1H-пиразол-1- ил] пропаннитрил		+	>10
5	US 2011/ 0059951 (пример 12)	4- [(4- {3-циано-2- [4-(7H-пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил) - 1H-пиразол-1- ил] пропил} пиперазин -1-ил) карбонил] -3- фторбензонитрил		+	>10
6	US 2011/ 0059951 (пример 13)	4- [(4- {3-циано-2- [3-(7H-пирроло[2,3- d]пиримидин-4-ил) - 1H-пиррол-1- ил] пропил} пиперазин -1-ил) карбонил] -3- фторбензонитрил		+	>10

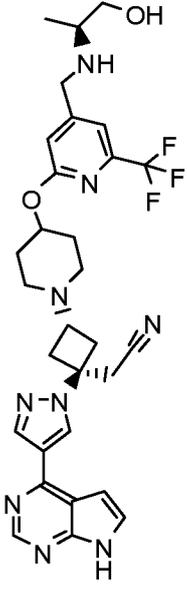
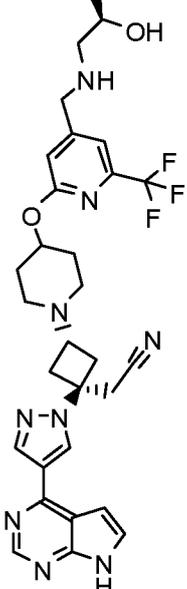
#	Получ.	Название	Структура	JAK1 IC ₅₀ (нМ)	JAK2/ JAK1
7	US 2011/ 0224190 (пример 1)	{1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил) изони котиноил] пиперидин- 4-ил}-3-[4-(7H- пирроло [2,3- d] пиримидин-4-ил) - 1H-пиразол-1- ил] азетидин-3- ил} ацетонитрил		+	>10
8	US 2011/ 0224190 (пример 154)	4-{3-(цианометил)- 3-[4-(7H- пирроло [2,3- d] пиримидин-4-ил) - 1H-пиразол-1- ил] азетидин-1-ил}- N-[4-фтор-2- (трифторметил) фенил] пиперидин-1- карбоксамид		+	>10
9	US 2011/ 0224190 (пример 85)	[3-[4-(7H- пирроло [2,3- d] пиримидин-4-ил) - 1H-пиразол-1-ил]-1- (1-{2- (трифторметил) пирим идин-4- ил} карбонил) пиперид ин-4-ил] азетидин-3- ил] ацетонитрил		+	>10

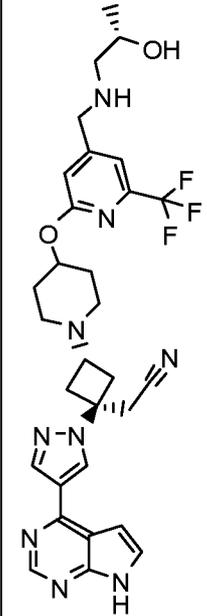
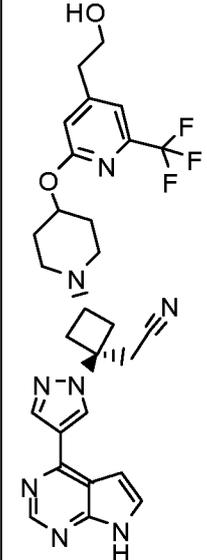
#	Получ.	Название	Структура	JAK1 IC ₅₀ (нМ)	JAK2/ JAK1
10	US 2012/ 0149681 (пример 7b)	[<i>транс</i> -1-[4-(7 <i>H</i> - пирроло [2,3- <i>d</i>] пиримидин-4-ил) - 1 <i>H</i> -пиразол-1-ил]-3- (4-{ [2- (трифторметил) пирим идин-4- ил] карбонил } пипераз ин-1- ил) циклобутил] ацето нитрил		+	>10
11	US 2012/ 0149681 (пример 157)	{ <i>транс</i> -3-(4-{ [4- [(3- гидроксиазетидин-1- ил) метил]-6- (трифторметил) пирид ин-2- ил] окси } пиперидин- 1-ил)-1-[4-(7 <i>H</i> - пирроло [2,3- <i>d</i>] пиримидин-4-ил) - 1 <i>H</i> -пиразол-1- ил] циклобутил } ацето нитрил		+	>10
12	US 2012/ 0149681 (пример 161)	{ <i>транс</i> -3-(4-{ [4- { [(2 <i>S</i>)-2- (гидроксиметил) пирр олидин-1-ил] метил]- 6- (трифторметил) пирид ин-2- ил] окси } пиперидин- 1-ил)-1-[4-(7 <i>H</i> - пирроло [2,3- <i>d</i>] пиримидин-4-ил) - 1 <i>H</i> -пиразол-1- ил] циклобутил } ацето		+	>10

#	Получ.	Название	Структура	JAK1 IC ₅₀ (нМ)	JAK2/ JAK1
		нитрил			
13	US 2012/ 0149681 (пример 162)	{ <i>транс</i> -3-(4-{ [4- { [(2 <i>R</i>)-2-((гидроксиметил) пирро олидин-1-ил] метил} - 6-((трифторметил) пирид ин-2- ил] окси} пиперидин- 1-ил)-1-[4-(7 <i>H</i> - пирроло [2, 3- <i>d</i>] пиримидин-4-ил) - 1 <i>H</i> -пиразол-1- ил] циклобутил} ацето нитрил		+	>10
14	US 2012/ 0149682 (пример 20) ^b	4-(4-{3- [(диметиламино) мети л]-5- фторфенокси} пиперид ин-1-ил)-3-[4-(7 <i>H</i> - пирроло [2, 3- <i>d</i>] пиримидин-4-ил) - 1 <i>H</i> -пиразол-1- ил] бутаннитрил		+	>10
15	US 2013/ 0018034 (пример 18)	5-{3-(цианометил)- 3-[4-(7 <i>H</i> - пирроло [2, 3- <i>d</i>] пиримидин-4-ил) - 1 <i>H</i> -пиразол-1- ил] азетидин-1-ил}- <i>N</i> -изопропилпиразин- 2-карбоксамид		+	>10
16	US 2013/ 0018034 (пример 28)	4-{3-(цианометил)- 3-[4-(7 <i>H</i> - пирроло [2, 3- <i>d</i>] пиримидин-4-ил) - 1 <i>H</i> -пиразол-1- ил] азетидин-1-ил}- 2,5-дифтор- <i>N</i> -(1 <i>S</i>)-		+	>10

#	Получ.	Название	Структура	JAK1 IC ₅₀ (нМ)	JAK2/ JAK1
		2,2,2-трифтор-1-метилэтил] бензамид			
17	US 2013/ 0018034 (пример 34)	5-{3-(цианометил)-3-[4-(1 <i>H</i> -пирроло[2,3- <i>b</i>] пиридин-4-ил)-1 <i>H</i> -пиразол-1-ил] азетидин-1-ил}- <i>N</i> -изопропилпиразин-2-карбоксамид		+	>10
18	US 2013/ 0045963 (пример 45)	{1-(<i>цис</i> -4-{[6-(2-гидроксиэтил)-2-(трифторметил) пиримидин-4-ил] окси} циклогексил)-3-[4-(7 <i>H</i> -пирроло[2,3- <i>d</i>] пиримидин-4-ил)-1 <i>H</i> -пиразол-1-ил] азетидин-3-ил} ацетонитрил		+	>10
19	US 2013/ 0045963 (пример 65)	{1-(<i>цис</i> -4-{[4-[(этиламино)метил]-6-(трифторметил) пиридин-2-ил] окси} циклогексил)-3-[4-(7 <i>H</i> -пирроло[2,3- <i>d</i>] пиримидин-4-ил)-1 <i>H</i> -пиразол-1-ил] азетидин-3-ил} ацетонитрил		+	>10
20	US 2013/ 0045963 (пример 69)	{1-(<i>цис</i> -4-{[4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил) пиридин-2-ил] окси} циклогексил		+	>10

#	Получ.	Название	Структура	JAK1 IC ₅₀ (нМ)	JAK2/ JAK1
)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил			
21	US 2013/ 0045963 (пример 95)	{1-(цис-4-{[4-{[(3R)-3-гидрокси-пирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	>10
22	US 2013/ 0045963 (пример 95)	{1-(цис-4-{[4-{[(3S)-3-гидрокси-пирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	>10

#	Получ.	Название	Структура	JAK1 IC ₅₀ (нМ)	JAK2/ JAK1
23	US 2014/ 0005166 (пример 1)	{ <i>транс</i> -3-(4-{ [4- ({ [(1 <i>S</i>)-2-гидрокси- 1- метилэтил] амино} мет ил) -6- (трифторметил) пирид ин-2- ил] окси} пиперидин- 1-ил) -1-[4-(7 <i>H</i> - пирроло [2, 3- <i>d</i>] пиримидин-4-ил) - 1 <i>H</i> -пиразол-1- ил] циклобутил} ацето нитрил		+	>10
24	US 2014/ 0005166 (пример 14)	{ <i>транс</i> -3-(4-{ [4- ({ [(2 <i>R</i>)-2- гидроксипропил] амин о} метил) -6- (трифторметил) пирид ин-2- ил] окси} пиперидин- 1-ил) -1-[4-(7 <i>H</i> - пирроло [2, 3- <i>d</i>] пиримидин-4-ил) - 1 <i>H</i> -пиразол-1- ил] циклобутил} ацето нитрил		+	>10

#	Получ.	Название	Структура	JAK1 IC ₅₀ (нМ)	JAK2/ JAK1
25	US 2014/ 0005166 (пример 15)	{ <i>транс</i> -3-(4-{[4- (((2 <i>S</i>)-2- гидроксипропил] амин о)метил)-6- (трифторметил) пирид ин-2- ил] окси} пиперидин- 1-ил)-1-[4-(7 <i>H</i> - пирроло [2, 3- <i>d</i>] пиримидин-4-ил) - 1 <i>H</i> -пиразол-1- ил] циклобутил} ацето нитрил		+	>10
26	US 2014/ 0005166 (пример 20)	{ <i>транс</i> -3-(4-{[4-(2- гидроксиэтил)-6- (трифторметил) пирид ин-2- ил] окси} пиперидин- 1-ил)-1-[4-(7 <i>H</i> - пирроло [2, 3- <i>d</i>] пиримидин-4-ил) - 1 <i>H</i> -пиразол-1- ил] циклобутил} ацето нитрил		+	>10

+ обозначает <10 нМ

++ обозначает ≤ 100 нМ

+++ обозначает ≤ 300 нМ

^aДанные для энантиомера 1

^bДанные для энантиомера 2

В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил) изоникотиноил] пиперидин-4-ил}-3-[4-(7*H*-пирроло [2, 3-*d*] пиримидин-4-ил) -1*H*-пиразол-1-ил] азетидин-3-ил} ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой соль адипиновой кислоты {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила.

В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор JAK1 и/или JAK2 выбран из: (R)-3-[1-(6-хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропаннитрила, (R)-3-(1-[1,3]оксазоло [5, 4-b] пиридин-2-илпирролидин-3-ил)-3-[4-(7H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропаннитрила, (R)-4-[(4-{3-циано-2-[4-(7H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрила, (R)-4-[(4-{3-циано-2-[3-(7H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-ил)-1H-пиррол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрила, или (R)-4-(4-{3-[(диметиламино)метил]-5-фторфенокси}пиперидин-1-ил)-3-[4-(7H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]бутаннитрила, (S)-3-[1-(6-хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропаннитрила, (S)-3-(1-[1,3]оксазоло [5, 4-b] пиридин-2-илпирролидин-3-ил)-3-[4-(7H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропаннитрила, (S)-4-[(4-{3-циано-2-[4-(7H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрила, (S)-4-[(4-{3-циано-2-[3-(7H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-ил)-1H-пиррол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрила, (S)-4-(4-{3-[(диметиламино)метил]-5-фторфенокси}пиперидин-1-ил)-3-[4-(7H-пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]бутаннитрила; и фармацевтически приемлемых солей любого из вышеуказанных соединений.

В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор JAK1 и/или JAK2 выбран из соединений, представленных в публикации

патента США № 2010/0298334, поданной 21 мая 2010 г., публикации патента США № 2011/0059951, поданной 31 августа 2010 г., публикации патента США № 2011/0224190, поданной 9 марта 2011 г., публикации патента США № 2012/0149681, поданной 18 ноября 2011 г., публикации патента США № 2012/0149682, поданной 18 ноября 2011 г., публикации патента США 2013/0018034, поданной 19 июня 2012 г., публикации патента США № 2013/0045963, поданной 17 августа 2012 г. и публикации патента США № 2014/0005166, поданной 17 мая 2013 г., каждая из которых включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

Примеры антител для применения в комбинированной терапии включают, но не ограничиваясь ими, трастузумаб (например, анти-HER2), ранибизумаб (например, анти-VEGF-A), бевацизумаб (Avastin™, например, анти-VEGF), панитумумаб (например, анти-EGFR), цетуксимаб (например, анти-EGFR), ритуксимаб (Rituxan™, анти-CD20) и антитела, направленные на с-MET.

Один или более из следующих агентов, которые можно использовать в комбинации с солями или соединениями по настоящей заявке, представлены в виде неограничивающего перечня: цитостатический агент, цисплатин, доксорубин, таксотер, таксол, этопозид, иринотекан, камптостар, топотекан, паклитаксел, доцетаксел, эпотилоны, тамоксифен, 5-фторурацил, метотрексат, темозоломид, циклофосфамид, SCH 66336, R115777, L778123, BMS 214662, иресса, тарцева, антитела против EGFR, Gleevec™, интрон, ара-С, адриамицин, цитоксан, гемцитабин, урамустин, хлорметин, ифосфамид, мелфалан, хлорамбуцил, пипоброман, триэтиленмеламин, триэтилендиофосфорамин, бусульфан, кармустин, ломустин, стрептозоцин, дакарбазин, флоксуридин, цитарабин, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, флударабина фосфат, оксалиплатин, лейковирин, ELOXATIN™, пентостатин, винбластин, винкристин, виндезин, блеомицин, дактиномицин, даунорубин, доксорубин, эпирубин, идарубин, митрамицин, дезоксикоформицин, митомицин-С, L-аспарагиназу, тенипозид, 17 α -этинилэстрадиол, диэтилстилбестрол, тестостерон, преднизон, флуоксиместерон, дромостанолон пропионат, тестолактон,

мегестрола ацетат, метилпреднизолон, метилтестостерон, преднизолон, триамцинолон, хлортрианизен, гидроксипрогестерон, аминоплутетимид, эстрамустин, медроксипрогестерона ацетат, лейпролид, флутамид, торемифен, гозерелин, цисплатин, карбоплатин, гидроксимочевина, амсакрин, прокарбазин, митотан, митоксантрон, левамизол, навелбен, анастразол, летразол, капецитабин, релоксафин, дролоксафин, гексаметилмеламин, авастин, герцептин, бексар, велкейд, зевалин, трисенокс, кселода, винорелбин, порфирмер, эрбитукс, липосомальный препарат, тиотепа, алтретамин, мелфалан, трастузумаб, лерозол, фулвестрант, эксеместан, фулвестрант, ифосфамид, ритуксимаб, С225, кампат, клофарабин, кладрибин, афидиколин, ритуксан, сунитиниб, дазатиниб, тезацитабин, Sml1, флударабин, пентостатин, триапин, дидокс, тримидокс, амидокс, 3-AP, MDL-101731, бендамустин (треанда), офатумумаб и GS-1101 (также известный как CAL-101).

Примеры химиотерапевтических агентов включают ингибиторы протеасомы (например, бортезомиб), талидомид, ревлимид и ДНК-повреждающие агенты, такие как мелфалан, доксорубин, циклофосфамид, винкристин, этопозид, кармустин и тому подобное.

Примеры стероидов включают кортикостероиды, такие как дексаметазон или преднизон.

Примеры ингибиторов Bcr-Abl включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли типа и вида, описанных в патенте США № 5521184, WO 04/005281 и публикации США № 60/578491.

Примеры пригодных ингибиторов Flt-3 включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, описанные в WO 03/037347, WO 03/099771 и WO 04/046120.

Примеры пригодных ингибиторов RAF включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, описанные в WO 00/09495 и WO 05/028444.

Примеры пригодных ингибиторов FAK включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, описанные в WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595 и WO 01/014402.

Примеры пригодных ингибиторов mTOR включают соединения и их

фармацевтически приемлемые соли, описанные в WO 2011/025889.

В некоторых вариантах реализации изобретения соли и соединения по данному изобретению можно использовать в комбинации с одним или более другими ингибиторами киназы, включая иматиниб, особенно для лечения пациентов, устойчивых к иматинибу или другим ингибиторам киназы.

В некоторых вариантах реализации изобретения соли и соединения по данному изобретению можно использовать в комбинации с химиотерапевтическим агентом при лечении рака, такого как множественная миелома, и они могут улучшать ответ на терапию по сравнению с ответом на химиотерапевтический агент отдельно, не усиливая его токсическое воздействие. Примеры дополнительных фармацевтических агентов, используемых при лечении множественной миеломы, могут включать, например и без ограничения, мелфалан, мелфалан и преднизон [МП], доксорубицин, дексаметазон и велкейд (бортезомиб). Дополнительные агенты, используемые при лечении множественной миеломы, включают ингибиторы киназ Bcr-Abl, Flt-3, RAF и FAK. Аддитивные или синергетические эффекты являются желательными результатами объединения ингибитора PI3K по настоящей заявке с дополнительным агентом. Кроме того, устойчивость клеток множественной миеломы к таким агентам, как дексаметазон, может быть обратимой при лечении ингибитором PI3K по настоящей заявке. Агенты можно объединять с соединением по настоящему изобретению в разовую или пролонгированную лекарственную форму, или агенты можно вводить одновременно или последовательно в виде отдельных лекарственных форм.

В некоторых вариантах реализации изобретения пациенту вводят кортикостероид, такой как дексаметазон, в комбинации с солями и соединениями по данному изобретению, при этом дексаметазон вводят периодически в отличие от непрерывного введения.

В некоторых дополнительных вариантах реализации изобретения комбинации солей и соединений по данному изобретению с другими терапевтическими агентами можно вводить пациенту до, во время и/или после трансплантации костного мозга или трансплантации

стволовых клеток.

Фармацевтические составы и лекарственные формы

Когда соединения и соли по данному изобретению используются как фармацевтические препараты, их можно вводить в форме фармацевтических композиций. Эти композиции можно получить при помощи способов, хорошо известных в области фармации, и их можно вводить различными способами в зависимости от того, необходимо местное или системное лечение, и от области, подвергаемой лечению. Введение может быть местным (в том числе трансдермальным, эпидермальным, через глаз и слизистые оболочки, включая интраназальную, вагинальную и ректальную доставку), пульмональным (например, путем ингаляции или инсуффляции порошков или аэрозолей, в частности с помощью распылителя; интратрахеальным или интраназальным), пероральным или парентеральным. Парентеральное введение включает внутривенную, внутриартериальную, подкожную, внутрибрюшинную, внутримышечную инъекцию или инфузию; или интракраниальное, например интратекальное или интравентрикулярное, введение. Парентеральное введение можно выполнять в форме единичной болюсной дозы или, например, непрерывно с помощью перфузионного насоса. Фармацевтические композиции и составы для местного введения могут включать трансдермальные пластыри, мази, лосьоны, кремы, гели, капли, суппозитории, спреи, жидкости и порошки. Необходимыми или желательными могут быть традиционные фармацевтические носители, водные, порошковые или масляные основы, загустители и тому подобное.

Данное изобретение также включает фармацевтические композиции, которые содержат в качестве активного ингредиента соединение или соль по данному изобретению (например, солянокислую соль соединения формулы I) в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями (вспомогательными веществами). В некоторых вариантах реализации изобретения композиция пригодна для местного введения. Для приготовления композиций по данному изобретению активный ингредиент, как правило, смешивают со вспомогательным веществом, разбавляют вспомогательным веществом или включают в носитель в форме,

например, капсулы, саше, бумажного пакета или другого контейнера. Когда вспомогательное вещество служит разбавителем, оно может быть твердым, полутвердым или жидким веществом, которое служит наполнителем, носителем или средой для активного ингредиента. Таким образом, композиции могут быть в форме таблеток, драже, порошков, пастилок, саше, крахмальных капсул, настоев, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (твердых или в жидкой среде), мазей, содержащих, например, до 10% масс. активного соединения, мягких и твердых желатиновых капсул, суппозиториев, стерильных инъекционных растворов и стерильных упакованных порошков.

Для получения состава активное соединение или соль можно размалывать, чтобы обеспечить подходящий размер частиц, до объединения с другими ингредиентами. Если активное соединение или соль практически нерастворимы, их можно размалывать до получения частиц размером менее 200 меш. Если активное соединение или соль хорошо растворяются в воде, размер частиц можно регулировать размалыванием, чтобы обеспечить практически однородное распределение в составе, например, около 40 меш.

Соединения и соли по данному изобретению можно размалывать, используя известные способы помола, такие как мокрый помол, для получения частиц с размером, подходящим для формирования таблеток и для составов другого типа. Тонко измельченные (в форме наночастиц) препараты солей и соединений по данному изобретению можно получать с использованием способов, известных в данной области техники, см., например, международную заявку № WO 2002/000196.

Некоторые примеры подходящих вспомогательных веществ включают лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмалы, гуммиарабик, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, воду, патоку и метилцеллюлозу. Составы также могут дополнительно содержать: смазывающие агенты, такие как тальк, стеарат магния и минеральное масло; смачивающие агенты; эмульгирующие и суспендирующие агенты; консерванты, такие как метил- и пропилгидроксibenзоат; подсластители; и

ароматизаторы. Композиции по данному изобретению могут быть разработаны так, что будут обеспечивать быстрое, замедленное или отсроченное высвобождение активного ингредиента после введения пациенту с использованием способов, известных в данной области техники.

Композиции могут быть разработаны в виде единичной лекарственной формы, причем каждая доза содержит от около 5 до около 1000 мг (1 г), обычно от около 100 мг до около 500 мг активного ингредиента. Термин «единичные лекарственные формы» относится к физически дискретным объектам, пригодным в качестве разовых дозировок для людей и других млекопитающих, причем каждая единичная доза содержит заранее заданное количество активного вещества, рассчитанное так, чтобы оно производило желаемый терапевтический эффект, в сочетании с подходящим фармацевтическим вспомогательным веществом.

В некоторых вариантах реализации изобретения композиции по данному изобретению содержат от около 5 до около 50 мг активного ингредиента. Специалист в данной области техники должен понимать, что это охватывает композиции, содержащие от около 5 до около 10, от около 10 до около 15, от около 15 до около 20, от около 20 до около 25, от около 25 до около 30, от около 30 до около 35, от около 35 до около 40, от около 40 до около 45 или от около 45 до около 50 мг активного ингредиента.

В некоторых вариантах реализации изобретения композиции по данному изобретению содержат около 2,5, около 5, около 7,5, около 10, около 12,5, около 15, около 17,5, около 20, около 22,5 или около 25 мг активного ингредиента. В некоторых вариантах реализации изобретения композиции по данному изобретению содержат около 5 мг активного ингредиента. В некоторых вариантах реализации изобретения композиции по данному изобретению содержат около 10 мг активного ингредиента.

Аналогичные дозировки можно использовать для соединений и солей, описанных в данном документе, в способах и вариантах применения изобретения.

Активное соединение или соль может быть эффективна в широком интервале дозировок, и ее, как правило, вводят в

фармацевтически эффективном количестве. Однако понятно, что количество соединения или соли, которое фактически вводится, обычно определяется врачом в соответствии с имеющимися обстоятельствами, в том числе патологическим состоянием, которое подвергают лечению, выбранным путем введения, конкретным вводимым соединением или солью, возрастом, массой и откликом конкретного пациента, тяжестью симптомов пациента и тому подобным.

Для получения твердых композиций, таких как таблетки, главный активный ингредиент смешивают с фармацевтическим вспомогательным веществом, чтобы получить твердую композицию предварительного состава, содержащую гомогенную смесь соединения или соли по настоящей заявке. Когда указывают, что эти композиции предварительных составов гомогенные, то понимают, что активный ингредиент, как правило, диспергирован равномерно по всей композиции, так что ее легко можно разделить на равноэффективные единичные лекарственные формы, такие как таблетки, драже и капсулы. Этот твердый предварительный состав затем разделяют на единичные лекарственные формы представленных выше типов, содержащие от, например, около 0,1 до около 1000 мг активного ингредиента по настоящей заявке.

Таблетки или драже по настоящей заявке могут быть покрыты или модифицированы другим способом для получения лекарственной формы, обладающей преимуществом пролонгированного действия. Например, таблетка или драже может содержать внутренний компонент дозировки и внешний компонент дозировки, причем последний в форме оболочки для первого. Два компонента могут разделяться энтеросолюбильным слоем, который препятствует разложению в желудке и позволяет внутреннему компоненту в неизменном виде попасть в двенадцатиперстную кишку или высвободиться отсрочено. Для таких энтеросолюбильных слоев или покрытий можно использовать различные вещества, такие вещества включают ряд полимерных кислот и смесей полимерных кислот с такими веществами, как шеллак, цетиловый спирт или ацетилцеллюлоза.

Жидкие формы, в состав которых могут быть включены

соединения, соли и композиции по настоящей заявке, для перорального введения или введения путем инъекции включают водные растворы, подходящим образом ароматизированные сиропы, водные или масляные суспензии и ароматизированные эмульсии с пищевыми маслами, такими как хлопковое масло, сезамовое масло, кокосовое масло или арахисовое масло, а также настои и подобные фармацевтические носители.

Композиции для ингаляции или инсуффляции включают растворы и суспензии в фармацевтически приемлемых водных или органических растворителях или их смесях и порошки. Жидкие или твердые композиции могут содержать подходящие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, описанные выше. В некоторых вариантах реализации изобретения композиции вводят перорально или в дыхательные пути через нос для местного или системного эффекта. Композиции можно распылять, используя инертные газы. Распыленные растворы можно вдыхать непосредственно из устройства для распыления, или устройство для распыления можно присоединить к маске для лица, кислородной палатке или дыхательному аппарату с перемежающимся положительным давлением. Растворы, суспензии или порошковые композиции можно вводить перорально или через нос, используя устройства, которые доставляют состав соответствующим образом.

Составы для местного применения могут содержать один или более традиционных носителей. В некоторых вариантах реализации изобретения мази могут содержать воду и один или более гидрофобных носителей, выбранных из, например, жидкого парафина, алкилового эфира полиоксиэтилена, пропиленгликоля, белого вазелина и тому подобного. Носители для композиций кремов могут быть на основе воды в сочетании с глицерином и одним или более другими компонентами, например, глицерилмоностеаратом, ПЭГ-глицерилмоностеаратом и цетилстеариловым спиртом. Гели можно приготовить, используя изопропиловый спирт и воду в комбинации с другими подходящими компонентами, такими как, например, глицерин, гидроксипропилцеллюлоза и тому подобное. В некоторых вариантах реализации изобретения составы для местного применения содержат по меньшей мере около 0,1, по меньшей мере около 0,25,

по меньшей мере около 0,5, по меньшей мере около 1, по меньшей мере около 2 или по меньшей мере около 5% масс. соединения или соли по данному изобретению. Составы для местного применения могут быть упакованы в подходящие тубики, вместимостью, например, 100 г, которые необязательно могут содержать инструкцию для лечения выбранного симптома, например, псориаза или другого патологического состояния кожи.

Количество соединения, соли или композиции, вводимое пациенту, будет изменяться в зависимости от того, что вводится, цели введения, как, например, профилактика или терапия, состояния пациента, способа введения и тому подобного. Для терапевтических целей композиции можно вводить пациенту, уже страдающему от заболевания, в количестве, достаточном для лечения или по меньшей мере частичного ослабления симптомов заболевания или его осложнений. Эффективные дозы будут зависеть от патологического состояния, подвергаемого лечению, а также от заключения лечащего врача, исходя из таких факторов, как тяжесть заболевания, возраст, масса и общее состояние пациента и тому подобное.

Композиции, вводимые пациенту, могут быть в форме фармацевтических композиций, описанных выше. Эти композиции можно стерилизовать, используя традиционные способы стерилизации или используя стерилизующее фильтрование. Водные растворы можно упаковывать для применения в неизменном виде или лиофилизировать, причем лиофилизированный препарат объединяют со стерильным водным носителем до введения. Значения pH препаратов с соединениями, как правило, должны составлять от 3 до 11, более предпочтительно от 5 до 9 и наиболее предпочтительно от 7 до 8. Понятно, что использование некоторых из вышеупомянутых вспомогательных веществ, носителей или стабилизаторов будет приводить к образованию фармацевтически приемлемых солей.

Терапевтическая дозировка соединения или соли по настоящей заявке может изменяться, например, в соответствии с конкретной целью, для которой осуществляется лечение, способом введения соединения или соли, состоянием здоровья и патологическим состоянием пациента и заключением лечащего врача. Доля или

концентрация соединения или соли по данному изобретению в фармацевтической композиции может изменяться в зависимости от ряда факторов, в том числе дозировки, химических характеристик (например, гидрофобности) и способа введения. Например, соединения и соли по данному изобретению могут находиться в водном физиологическом буферном растворе, содержащем от около 0,1 до около 10% (масса к объему) соединения, для парентерального введения. Некоторые типичные дозы находятся в интервалах от около 1 мкг/кг до около 1 г/кг массы тела в сутки. В некоторых вариантах реализации изобретения доза находится в интервале от около 0,01 мг/кг до около 100 мг/кг массы тела в сутки. Дозировка может зависеть от таких факторов, как тип и степень прогрессирования заболевания или расстройства, общее состояние здоровья конкретного пациента, относительная биологическая эффективность выбранного соединения, состав вспомогательных веществ и способ введения. Эффективные дозы можно экстраполировать из кривых зависимости «доза-ответ», полученных *in vitro*, или из тестовых модельных систем на животных.

Композиции по данному изобретению могут дополнительно содержать один или более дополнительных фармацевтических агентов, таких как химиотерапевтический агент, стероид, противовоспалительное соединение или иммунодепрессант, примеры которых представлены в данном документе.

Наборы

Настоящая заявка также включает фармацевтические наборы, эффективные, например, при лечении или профилактике заболеваний или расстройств, связанных с РІЗК, таких как рак, которые включают одну или более емкостей, содержащих фармацевтическую композицию с терапевтически эффективным количеством соединения по данному изобретению. Такие наборы могут дополнительно содержать, если необходимо, один или более различных традиционных компонентов для фармацевтических наборов, таких как, например, емкости с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями, дополнительные емкости и т. д., что очевидно для специалистов в данной области техники. Также в

набор можно включать инструкции, либо в виде вкладыша, либо в виде этикетки, с указанием количеств компонентов, которые нужно принять, указаниями по приему и/или указаниями по смешиванию компонентов.

Изобретение будет более подробно описано на конкретных примерах. Следующие примеры служат для иллюстративных целей, и никоим образом не предназначены для ограничения данного изобретения. Специалисты в данной области техники легко найдут множество некритичных параметров, которые можно изменить или модифицировать, чтобы получить точно такие же результаты. Установлено, что солянокислая соль соединения формулы I и соединение формулы I являются ингибиторами РІЗК в соответствии с по меньшей мере одним анализом, описанным в данном документе.

ПРИМЕРЫ

Изобретение будет более подробно описано на конкретных примерах. Следующие примеры служат для иллюстративных целей, и никоим образом не предназначены для ограничения данного изобретения. Соединения примеров или их соли, содержащие один или более хиральных центров, были получены в рацемической форме или в виде смесей изомеров, если не указано иное.

Общие методики

Очистку некоторых полученных соединений с помощью препаративной ЖХ/МС выполняли на системах фракционирования Waters с масс-спектрометрическим детектором. Основное оборудование, протоколы и управляющее программное обеспечение для эксплуатации этих систем подробно описаны в литературе. См., например, "Two-Pump At Column Dilution Configuration for Preparative LC-MS", K. Blom, *J. Combi. Chem.*, 4, 295 (2002); "Optimizing Preparative LC-MS Configurations and Methods for Parallel Synthesis Purification", K. Blom, R. Sparks, J. Doughty, G. Everlof, T. Haque, A. Combs, *J. Combi. Chem.*, 5, 670 (2003); и "Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, *J. Combi. Chem.*, 6, 874-883 (2004). Выделенные соединения, как правило, подвергали анализу с использованием аналитической

жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ЖХ/МС) для определения чистоты при следующих условиях: прибор; Agilent серии 1100, ЖХ/МСД, колонка: Waters Sunfire™ C₁₈ 5 мкм, 2,1×50 мм, буферные растворы: подвижная фаза А: 0,025% ТФУ в воде, и подвижная фаза В: ацетонитрил; градиент от 2% до 80% В за 3 минуты со скоростью потока 2,0 мл/минута.

Некоторые полученные соединения также разделяли в препаративном масштабе с помощью обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ) с масс-спектрометрическим детектором или флэш-хроматографии (силикагель), как указано в Примерах. Типичные условия препаративной колоночной обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ) представлены ниже.

Очистка при pH=2: колонка Waters Sunfire™ C₁₈ 5 мкм, 19×100 мм, элюирование подвижной фазой А: 0,1% ТФУ (трифторуксусной кислоты) в воде, и подвижная фаза В: ацетонитрил; скорость потока составляла 30 мл/минута, разделяющий градиент оптимизировали для каждого соединения с использованием протокола оптимизации методики, специфичной к соединению, как описано в литературе [см. "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, *J. Comb. Chem.*, **6**, 874-883 (2004)]. Как правило, скорость потока, используемая для колонки 30×100 мм, составляла 60 мл/минута.

Очистка при pH=10: колонка Waters XBridge C₁₈ 5 мкм, 19×100 мм, элюирование подвижной фазой А: 0,15% NH₄OH в воде, и подвижная фаза В: ацетонитрил; скорость потока составляла 30 мл/минута, разделяющий градиент оптимизировали для каждого соединения с использованием протокола оптимизации методики, специфичной к соединению, как описано в литературе [см. "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, *J. Comb. Chem.*, **6**, 874-883 (2004)]. Как правило, скорость потока, используемая для колонки 30×100 мм, составляла 60 мл/минута.

Некоторые из полученных соединений также анализировали с

помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК). Типичные параметры оборудования для ДСК являются следующими:

прибор для дифференциальной сканирующей калориметрии TA Instrument, модель Q200 с автоматическим пробоотборником: 30–350°C при 10 °C/мин.; алюминиевый тигель для образцов с крышкой T-zero; поток газообразного азота со скоростью 50 мл/мин.

Прибор для дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) 822 производства Mettler Toledo: 40–340°C со скоростью нагрева 10 °C/мин.

Некоторые из полученных соединений также анализировали с помощью термогравиметрического анализа (ТГА). Типичные параметры оборудования для ТГА являются следующими:

термогравиметрический анализатор TA Instrument, модель Pyris: диапазон температур от 25°C до 300 °C при 10 °C/мин.; поток газообразного азота для продувки со скоростью 60 мл/мин.; керамический тигель для образцов для ТГА.

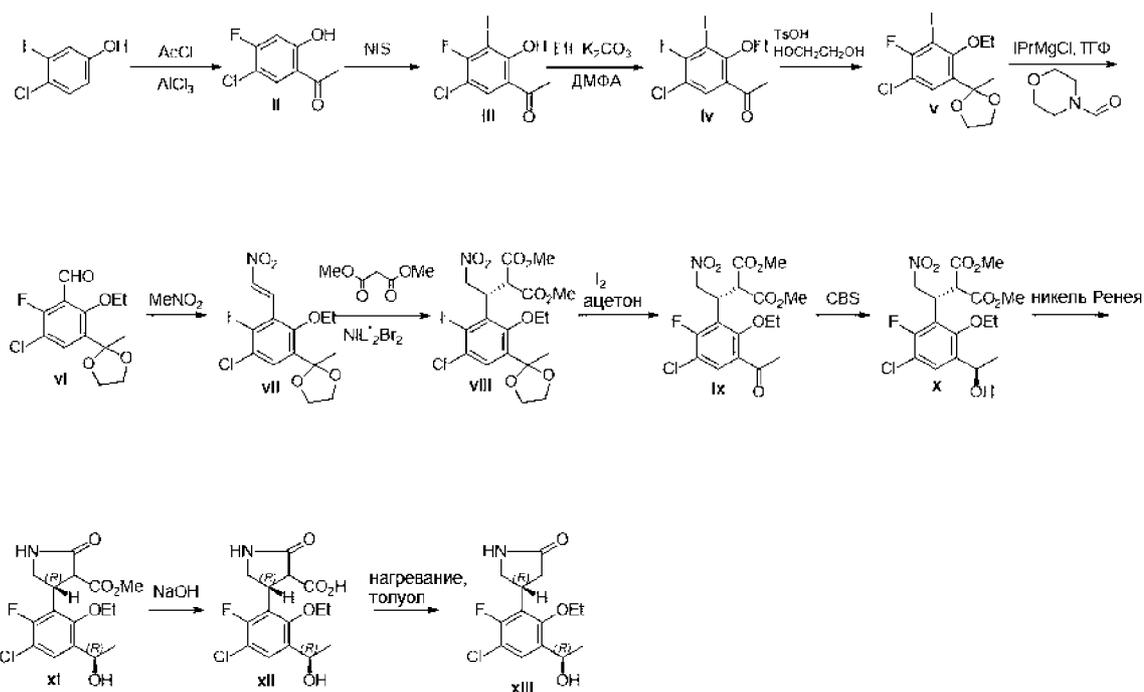
Прибор TA Instruments Q500: диапазон температур от 20 °C до 300 °C при 10 °C/мин.

Некоторые из полученных соединений также анализировали с использованием порошковой рентгеновской дифракции (ПРД). Типичные параметры оборудования для ПРД являются следующими:

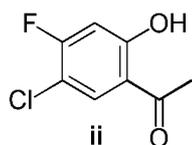
порошковый рентгеновский дифрактометр Bruker D2 PHASER: длина волны рентгеновского излучения: 1,05406 Å CuK α I; мощность рентгеновского излучения: 30 кВ, 10 мА; порошкообразный образец: диспергирован в держателе для образца с нулевым фоном; общие условия измерений: начальный угол – 5 градусов, предельный угол – 60 градусов, шаг – 0,015 градуса, скорость сканирования – 2 градуса/мин.

Порошковый дифрактометр Rigaku Miniflex: Cu при 1,054056 Å с K β -фильтром; общие условия измерений: начальный угол – 3 градуса, предельный угол – 45 градусов, шаг – 0,02 градуса, скорость сканирования – 2 градуса/мин.

Пример 1. Синтез (R)-4-(3-хлор-6-этокси-2-фтор-5-((R)-1-гидроксиэтил)фенил)пирролидин-2-она



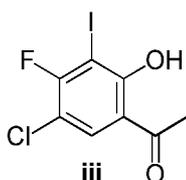
Стадия 1. 1-(5-Хлор-4-фтор-2-гидроксифенил)этанон (ii)



В колбу вместимостью 5 л при комнатной температуре помещали 4-хлор-3-фторфенол (i, 166 г, 1,11 моль) и ацетилхлорид (107 мл, 1,50 моль). Реакционную смесь перемешивали, и она превращалась в прозрачный раствор в то время, как было зарегистрировано, что температура смеси уменьшилась до 6 °С. Затем реакционную смесь нагревали до 60°С в течение 2 ч. К реакционной смеси добавляли нитробензол (187,5 мл, 1,82 моль), а затем охлаждали до комнатной температуры. Затем к смеси добавляли хлорид алюминия (160 г, 1,2 ммоль) тремя порциями (50 г, 50 г и 60 г с интервалами 5 мин.). После завершения добавления температура смеси увеличилась до 78°С. Затем реакционную смесь нагревали при 100-120°С в течение 3 ч, в этот момент ВЭЖХ-анализ показал, что реакция завершена. Затем реакционную смесь охлаждали до 0°С и добавляли смесь изомеров гексана (0,45 л), этилацетат (0,55 л), а затем медленно при комнатной температуре добавляли 1,0 н. водный раствор соляной кислоты (1,0 л). Добавление водного раствора соляной кислоты было экзотермическим, и температура

смеси увеличилась с 26°C до 60 °С. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 минут. Слои разделяли и органический слой последовательно промывали 1,0 н. водным раствором соляной кислоты (2×600 мл) и водой (400 мл). Затем органический слой экстрагировали 1,0 н. водным раствором гидроксида натрия (2×1,4 л). Объединенный основной раствор подкисляли до pH 2 путем добавления 12 н. водного раствора соляной кислоты до того, пока не прекращал образовываться осадок. Полученное твердое вещество отделяли фильтрованием, промывали водой и сушили на фильтр-воронке под вакуумом, что давало соединение **ii** в виде желтого твердого вещества (187,4 г, 89,5%). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 12,44 (д, J=1,4 Гц, 1H), 7,78 (д, J=8,1 Гц, 1H), 6,77 (д, J=10,2 Гц, 1H), 2,61 (с, 3H).

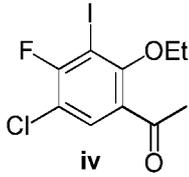
Стадия 2. 1-(5-Хлор-4-фтор-2-гидрокси-3-йодофенил)этанон (**iii**)



1-(5-Хлор-4-фтор-2-гидроксифенил)этанон (**ii**, 100,0 г, 530,3 ммоль) растворяли в уксусной кислоте (302 мл) и к раствору добавляли N-йодсукцинимид (179,2 г, 796,5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при от около 61°C до около 71°C в течение 2 ч, в этот момент ВЭЖХ-анализ показал, что реакция завершена. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, добавляли воду (613 мл) и полученную взвесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Продукт собирали с помощью фильтрования и промывали водой, чтобы получить коричневое твердое вещество. Влажный продукт растворяли в уксусной кислоте (400 мл) при 60 °С. К раствору добавляли (в течение 15 мин.) воду (800 мл) для осаждения чистого продукта. Продукт собирали с помощью фильтрования и промывали водой (100 мл). Продукт сушили на фильтр-воронке под вакуумом в течение 18 ч, что давало соединение **iii** в виде коричневого твердого вещества (164,8 г, выход 95,0%). ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 13,34 (с, 1H), 8,26 (д,

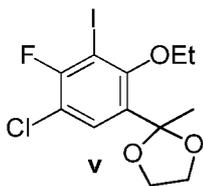
$J=8,4$ Гц, 1H), 2,68 (с, 3H).

Стадия 3. 1-(5-Хлор-2-этокси-4-фтор-3-йодофенил)этанон (iv)



В трехгорлой круглодонной колбе вместимостью 5 л, оснащенной холодильником и термометром, 1-(5-хлор-4-фтор-2-гидрокси-3-йодофенил)этанон (iii, 280 г, 840 ммоль) растворяли в *N,N*-диметилформамиде (600 мл). В процессе растворения внутренняя температура упала с 19,3°C до 17,0 °C. К полученной смеси добавляли йодэтан (81,2 мл, 1020 ммоль). Затем к реакционной смеси добавляли карбонат калия (234 г, 1690 ммоль) в течение 2 мин., в температуре смеси не наблюдали никаких изменений. Реакционную смесь нагревали до 60°C в течение 3 ч, в этот момент ВЭЖХ-анализ показал, что реакция завершена. Реакционной смеси давали охладиться до комнатной температуры и продукт собирали с помощью фильтрования. Твердые вещества растворяли в смеси ДХМ (1,0 л), гексана (500 мл) и воды (2,1 л). Двухфазную систему перемешивали при 20°C в течение 20 мин. Слои разделяли и водный слой экстрагировали ДХМ (1,0 л). Объединенный органический слой промывали водой (2×250 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (60 мл). Органическую фазу отделяли, сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме досуха, что давало соединение iv в виде желтого твердого вещества (292 г, выход 94%). ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 7,69 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 3,95 (к, $J=7,0$ Гц, 2H), 2,62 (с, 3H), 1,49 (т, $J=7,0$ Гц, 3H). ЖХ/МС для C₁₀H₁₀ClFIO₂ (M+H)⁺: m/z=342,9.

Стадия 4. 2-(5-Хлор-2-этокси-4-фтор-3-йодфенил)-2-метил-1,3-диоксолан (v)

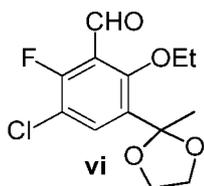


Раствор 1-(5-хлор-2-этокси-4-фтор-3-йодфенил)этанона (iv,

250,0 г, 693,4 ммоль) и 1,2-этандиола (58,0 мл, 1040 ммоль) в толуоле (1,5 л) обрабатывали моногидратом *p*-толуолсульфоновой кислоты (10,6 г, 55,5 ммоль). На реакционную колбу устанавливали ловушку Дина-Старка и смесь нагревали с обратным холодильником в течение 7 ч. ЖХ/МС-анализ показал, что реакционная смесь содержала 8,3% исходного вещества и 91,7% продукта. Реакционную смесь охлаждали до 106°C и с помощью шприца добавляли дополнительное количество 1,2-этандиола (11,6 мл, 208 ммоль). Затем реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение еще 8 ч. ЖХ/МС-анализ показал, что реакционная смесь содержала 3,6% исходного вещества и 96,4% продукта. Реакционную смесь охлаждали до 106°C и с помощью шприца добавляли дополнительное количество 1,2-этандиола (7,73 мл, 139 ммоль). Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение еще 15,5 ч. ЖХ/МС-анализ показал, что реакционная смесь содержала 2,2% исходного вещества и 97,8% продукта.

Затем реакционную смесь охлаждали до 0 °C и добавляли воду (200 мл) и водный насыщенный раствор NaHCO₃ (300 мл), чтобы довести pH смеси до 9. Добавляли ДХМ (200 мл) и смесь перемешивали в течение 10 мин. Слои разделяли и водный слой экстрагировали толуолом (300 мл). Объединенный органический слой последовательно промывали смесью воды (200 мл) и насыщенного водного раствора NaHCO₃ (200 мл), водой (300 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (300 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме досуха, чтобы получить неочищенное соединение **v** в виде светло-коричневого твердого вещества (268 г, выход 100%). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 7,59 (д, *J*=8,6 Гц, 1H), 4,26-3,96 (м, 4H), 3,92-3,72 (м, 2H), 1,74 (с, 3H), 1,50 (т, *J*=7,0 Гц, 3H). ЖХ/МС для C₁₂H₁₄ClFIO₃ (M+H)⁺: m/z=387,0.

Стадия 5. 3-Хлор-6-этокси-2-фтор-5-(2-метил-1,3-диоксолан-2-ил)бензальдегид (*vi*)

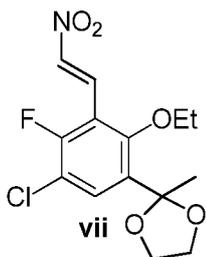


К раствору 2-(5-хлор-2-этокси-4-фтор-3-йодфенил)-2-метил-1,3-диоксолана (**v**, 135,0 г, 349,2 ммоль) (чистота, определенная с помощью ВЭЖХ, 86,8% с 5,5% кетона) в безводном тетрагидрофуране (300 мл) при от около 0°C до около 3°C при перемешивании медленно добавляли комплекс изопротилмагнийхлорида и хлорида лития в ТГФ с концентрацией 1,3 М (322,3 мл, 419,0 ммоль) в течение 1 ч. Реакционную смесь перемешивали при от около 0°C до около 5°C в течение 30 мин., в этот момент ВЭЖХ-анализ показал, что реакция замещения йода на магний завершена. Затем к реакционной смеси добавляли *N*-формилморфолин (71,1 мл, 700 ммоль) в течение 1 ч при от около 0°C до около 8°C. Реакционную смесь перемешивали при от около 0°C до около 8°C в течение еще 1 ч, в этот момент ЖХ/МС- и ВЭЖХ-анализ показали, что исходное вещество было израсходовано, и наблюдалось значительное количество побочного продукта дейодирования, 2-(5-хлор-2-этокси-4-фторфенил)-2-метил-1,3-диоксолана. Реакцию гасили водным раствором лимонной кислоты (120,8 г, 628,6 ммоль) в воде (1,20 л) при 0 °C. Погашенную реакционную смесь затем экстрагировали EtOAc (2×600 мл). Фазы легко разделяли. Объединенный органический слой последовательно промывали водой (300 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (500 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии на силикагеле с использованием 0-10% EtOAc/гексан, что давало неочищенный продукт **vi** в виде бледно-желтого твердого вещества, которое представляло собой смесь, содержащую необходимый продукт, 3-хлор-6-этокси-2-фтор-5-(2-метил-1,3-диоксолан-2-ил)бензальдегид (**vi**, 80 г, 80%), и 36 мол. % побочного продукта дейодирования, 2-(5-хлор-2-этокси-4-фторфенил)-2-метил-1,3-диоксолана, что установлено с помощью ЯМР-анализа. Неочищенный продукт **vi** дополнительно очищали путем образования

соответствующего аддукта с гидросульфитом натрия.

Гидросульфит натрия (36,91 г, 354,7 ммоль) растворяли в воде (74,3 мл, 4121 ммоль). К раствору неочищенного 3-хлор-6-этокси-2-фтор-5-(2-метил-1,3-диоксолан-2-ил)бензальдегида (**vi**, 80,00 г, 177,3 ммоль) в этилацетате (256,0 мл) при перемешивании одной порцией добавляли свежеприготовленный раствор гидросульфита натрия. Раствор перемешивали в течение около 10 мин. и наблюдали образование осадка. Взвесь затем перемешивали в течение еще 1 ч. Аддукт альдегида с гидросульфитом собирали с помощью фильтрования, промывали EtOAc и сушили под вакуумом и в атмосфере азота в течение 20 ч, что давало белое твердое вещество (58,2 г, выход 83,6%). К аддукту альдегида с гидросульфитом (58,2 г, 148 ммоль), который перемешивали в 1,0 М водном растворе гидроксида натрия (296 мл, 296 ммоль), добавляли метил-трет-бутиловый эфир (600 мл) (МТБЭ). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 мин., что давало прозрачную двухфазную смесь, и перемешивание продолжали в течение еще 5 мин. Органическую фазу собирали, а водный слой экстрагировали МТБЭ (2×300 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (300 мл), сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме досуха, что давало чистое соединение **vi** в виде белого кристаллического вещества (31,4 г, выход 73,4%). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 10,27 (с, 1H), 7,78 (д, J=8,5 Гц, 1H), 4,10-3,96 (м, 4H), 3,87-3,76 (м, 2H), 1,72 (с, 3H), 1,44 (т, J=7,0 Гц, 3 H). ЖХ/МС для C₁₃H₁₅ClFO₄ (M+H)⁺: m/z=289,0.

Стадия 6. (E)-2-(5-Хлор-2-этокси-4-фтор-3-(2-нитровинил)фенил)-2-метил-1,3-диоксолан (**vii**)



В четырехгорлую круглодонную колбу вместимостью 5 л, оснащенную верхнеприводной мешалкой, мембраной, термopарой,

отверстием для подвода азота и холодильником, помещали 3-хлор-6-этокси-2-фтор-5-(2-метил-1,3-диоксолан-2-ил) бензальдегид (**vi**, 566,2 г, 1961 ммоль), нитрометан (1060 мл, 19600 ммоль) и ледяную уксусную кислоту (1120 мл). Затем к реакционной смеси добавляли бензиламин (53,6 мл, 490 ммоль) и полученную смесь нагревали до 60 °С, за реакцией следили с помощью ЖХ/МС в течение 5,5 ч. Первоначальный анализ исходного уровня выполняли при $t=0$. Реакцию контролировали через 2 ч и 5 ч. Через 2 ч осталось около 20% непрореагировавшего исходного альдегида. Через 5 ч профиль реакции был следующим: исходное соединение **vi** (< 2%), промежуточный имин (< 4%), полученное соединение **vii** (> 93%) и аддукт Михаэля бензиламина (не обнаружен). Через 5,5 ч реакцию считали завершённой. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли этилацетатом (3,0 л). Для обработки смесь разделяли пополам вследствие большого задействованного объема.

Каждую половину обрабатывали в соответствии со следующей методикой. Вначале реакционную смесь промывали 1,5 М раствором NaCl в воде (2×1500 мл; после каждого промывания выходной объем водного раствора увеличивался по сравнению с вводимым, что указывало на удаление уксусной кислоты и/или нитрометана). Затем смесь охлаждали до около 15°C и промывали 4 М водным раствором NaOH (4×300 мл) до того, пока водный экстракт не достиг pH 8–9. При первоначальных промываниях водный слой оставался кислотным, но по мере того, как водный слой становился немного основным при последующих промываниях, смесь нагревалась и экстракт становился темным. Слои разделяли. Затем органический слой после корректировки pH промывали 1,5 М раствором хлорида натрия в воде (1000 мл) и водой (500 мл). В процессе этих заключительных промываний наблюдали образование эмульсии и медленное разделение. Органическую фазу сушили над безводным MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученную янтарную вязкую жидкость помещали под высокий вакуум на ночь. Вязкая жидкость затвердевала, было получено 740 г неочищенного продукта.

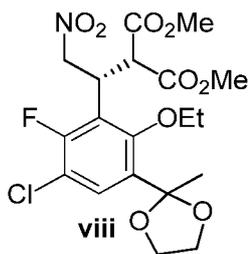
К неочищенному продукту добавляли гептан (1,3 л), получая взвесь, которую нагревали на водяной бане с температурой 60 °С, пока не растворились все твердые вещества. Полученный раствор фильтровали на мелкопористом фильтре в чистую четырехгорлую круглодонную колбу вместимостью 3 л, оснащенную верхнеприводной мешалкой и отверстием для подвода азота. Фильтр промывали гептаном (40 мл). Отфильтрованный раствор охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение 5 ч. Наблюдали образование осадка и взвесь охлаждали до 0°С на ледяной бане в течение 1 ч. Продукт собирали с помощью фильтрования и полученный влажный осадок на фильтре промывали 500 мл ледяного гептана. Продукт частично сушили на фильтре под вакуумом и дополнительно сушили под высоким вакуумом в течение ночи. Фильтрат и промывной раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток подвергали очистке на колонке.

Твердые вещества, полученные при кристаллизации в гептане, растворяли в небольшом объеме ДХМ и 20% EtOAc/гексан и вводили в колонку, содержащую около 1 кг силикагеля. Колонку элюировали смесью 20% EtOAc/гексан. Необходимые фракции объединяли и концентрировали при пониженном давлении, что давало желтое твердое вещество. Твердое вещество сушили под высоким вакуумом в течение ночи, что давало 497 г продукта **vii** в виде бледно-желтого кристаллического вещества.

Концентрированный фильтрат и промывную жидкость от кристаллизации в гептане загружали в ту же самую колонку с использованием 20% EtOAc/гексан. Колонку элюировали с использованием той же системы растворителей для удаления исходных примесей и остаточной уксусной кислоты. Необходимые фракции объединяли и концентрировали при пониженном давлении, что давало красновато-янтарное масло. Масло помещали под высокий вакуум и получали около 220 г неочищенного продукта. Этот неочищенный продукт растворяли в гептане (500 мл) и затравливали небольшим количеством первой порции твердого продукта. Суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч, а затем охлаждали на ледяной бане в течение 3 ч. Вторую порцию продукта

собирали с помощью фильтрования. Продукт сушили под высоким вакуумом и получали 110 г продукта в виде желтого твердого вещества. Общее количество продукта **vii** составило 607 г (выход 93,3%). ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,94 (с, 2H), 7,68 (д, $J=8,9$ Гц, 1H), 4,07–3,95 (м, 4H), 3,82–3,73 (м, 2H), 1,65 (с, 3H), 1,39 (т, $J=7,0$ Гц, 3H). ЖХ/МС для $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{ClFNO}_5$ (M+H) $^+$: m/z=332,0.

Стадия 7. (R)-Диметил-2-(1-(3-хлор-6-этокси-2-фтор-5-(2-метил-1,3-диоксолан-2-ил)фенил)-2-нитроэтил)малонат (**viii**)



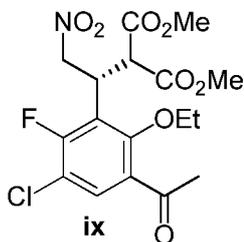
В круглодонную колбу вместимостью 2 л с магнитной мешалкой и отверстием для подвода азота, содержащую (E)-2-(5-хлор-2-этокси-4-фтор-3-(2-нитровинил)фенил)-2-метил-1,3-диоксолан (**vii**, 352,8 г, 1064 ммоль), добавляли безводный тетрагидрофуран (1,06 л) и диметилмалонат (146 мл, 1280 ммоль). К реакционной смеси добавляли (1S,2S)-N,N'-дибензилциклогексан-1,2-диаминдибромникель (катализатор Эванса, 21,4 г, 26,6 ммоль). Реакционная смесь становилась коричневого цвета и наблюдалось образование гомогенного раствора. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18,5 часов. Через 18,5 ч реакционную смесь анализировали с помощью ВЭЖХ. Непрореагировавшее исходное вещество, соединение **vii**, присутствовало в количестве 2%. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении для удаления ТГФ и полученный остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (для загрузки использовали ДХМ/смесь изомеров гексана, для этой колонки использовали 1422 г силикагеля, и колонку элюировали смесью 10%-20% EtOAc /гексан; за фракциями из колонки наблюдали с помощью ТСХ, используя 30% EtOAc /гексан в качестве элюента и визуализировали с помощью УФ). Необходимые фракции объединяли и концентрировали при пониженном давлении. Остаток сушили под высоким вакуумом. Со временем вязкая жидкость превращалась в

светло-желтые твердые вещества (503,3 г), отбирали образец для хирального ВЭЖХ-анализа. Хиральная чистота составляла 95,7% требуемого (*R*)-энантиомера и 4,3% нежелательного (*S*)-энантиомера. К твердым веществам добавляли этанол (1,0 л) и смесь нагревали на водяной бане с температурой 60 °С, пока не растворились все твердые вещества. Раствор фильтровали на мелкопористом фильтре с использованием фильтровальной бумаги № 1 Whatman в чистую четырехгорлую круглодонную колбу вместимостью 3 л. Отфильтрованный раствор охлаждали до комнатной температуры при перемешивании. После 30 мин. перемешивания наблюдали образование кристаллов и взвесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. Взвесь охлаждали на ледяной бане в течение 1 ч. Продукт собирали с помощью фильтрования и полученный осадок на фильтре промывали ледяным этанолом (500 мл) и частично сушили на фильтре. Твердые вещества сушили под высоким вакуумом, что давало требуемый продукт **viii** (377,5 г) в виде белых кристаллических веществ. Хиральная чистота, определенная с помощью хиральной ВЭЖХ, составляла 100% требуемого (*R*)-энантиомера и 0% нежелательного (*S*)-энантиомера.

Фильтрат и промывную жидкость объединяли и концентрировали при пониженном давлении, получая масло (118,9 г). Масло растворяли в этаноле (475,0 мл) (4 мл/г) и затравливали первой порцией кристаллов. Полученную суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч, а затем охлаждали на ледяной бане в течение 5,5 ч. Вторую порцию продукта выделяли с помощью фильтрования и частично сушили на фильтре. Ее сушили под высоким вакуумом, что давало вторую порцию продукта (31,0 г). Хиральная чистота, определенная с помощью хиральной ВЭЖХ, составляла 98,3% требуемого (*R*)-энантиомера и 1,7% нежелательного (*S*)-энантиомера. Объединенный выход первой и второй порций продукта составлял 408,5 г (выход 82,8%). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 7,51 (д, *J*=9,0 Гц, 1H), 5,20-4,81 (м, 2H), 4,62 (м, 1H), 4,14-4,03 (м, 2H), 4,03-3,97 (м, 2H), 3,95-3,88 (м, 1H), 3,84-3,72 (м, 2H), 3,70 (с, 3H), 3,38 (с, 3H), 1,61 (с, 3H), 1,39 (т, *J*=6,9 Гц, 3H). ЖХ/МС для C₁₉H₂₄ClFO₉ (M+H)⁺:

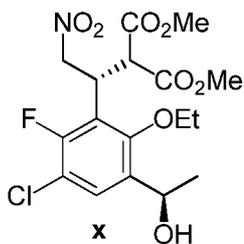
$m/z=463,9$.

Стадия 8. (R)-Диметил-2-(1-(3-ацетил-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)-2-нитроэтил)малонат (ix)



К раствору (R)-диметил-2-(1-(3-хлор-6-этокси-2-фтор-5-(2-метил-1,3-диоксолан-2-ил)фенил)-2-нитроэтил)малоната (viii, 244,0 г, 526,0 ммоль) в ацетоне (1,2 л) в трехгорлой круглодонной колбе вместимостью 5 л, оснащенной механической мешалкой, при перемешивании добавляли йод (13,4 г, 52,6 ммоль) при комнатной температуре. Полученный коричневый раствор нагревали при 50°C на водяной бане в течение 30 мин., в этот момент ЖХ/МС-анализ показал завершение реакции. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, а затем гасили раствором тиосульфата натрия (17,0 г, 108 ммоль) в воде (160 мл), что давало бледно-желтый прозрачный раствор. В этот момент в погашенный раствор добавляли дополнительное количество воды (1,2 л) и полученную белую взвесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем твердое вещество собирали с помощью фильтрования и повторно растворяли в ацетоне (1,4 л) при 40 °С. Раствор охлаждали до комнатной температуры, а затем добавляли дополнительное количество воды (1,4 л). Полученную белую взвесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Твердое вещество собирали с помощью фильтрования и промывали водой (3×100 мл). Твердый продукт сушили на фильтр-воронке под вакуумом в потоке азота в течение 46 ч, что давало соединение ix в виде белого твердого вещества (212 г, выход 96%). ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 7,54 (д, J=8,6 Гц, 1H), 5,09-4,67 (м, 3H), 4,10-3,83 (м, 3H), 3,90 (с, 3H), 3,57 (с, 3H), 2,57 (с, 3H), 1,46 (т, J=7,0 Гц, 3H). ЖХ/МС для C₁₇H₂₀ClFNO₈ (M+H)⁺: m/z=420,1.

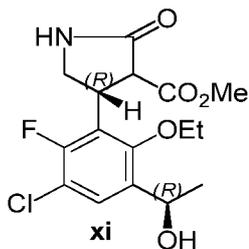
Стадия 9. Диметил-2-((R)-1-(3-хлор-6-этокси-2-фтор-5-((R)-1-гидроксиэтил)фенил)-2-нитроэтил)малонат (x)



К раствору (3*aS*)-1-метил-3,3-дифенилтетрагидро-3*H*-пирроло[1,2-*c*][1,3,2]оксазаборола, ((*S*)-MeCBS, 16,39 г, 59,12 ммоль, 0,1 экв.) в безводном ТГФ (100 мл) в круглодонной колбе вместимостью 5 л при перемешивании при комнатной температуре добавляли 1,0 М раствор комплекса боран-ТГФ в ТГФ (591 мл, 591 ммоль, 1 экв.), а затем эфират трифторида бора (3,75 мл, 29,6 ммоль, 0,05 экв.). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем по каплям с помощью капельной воронки в течение 60 мин. добавляли раствор диметил-[(1*R*)-1-(3-ацетил-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)-2-нитроэтил]малоната (**ix**, 253,0 г, 591,2 ммоль) в безводном ТГФ (1,7 л). Колбу, которая содержала кетон **ix**, промывали безводным ТГФ (135 мл) и раствор по каплям добавляли с помощью капельной воронки к реакционной смеси. Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение еще 10 мин., в этот момент ЖХ/МС-анализ показал полное превращение кетона в спирт. Реакционную смесь гасили путем добавления по каплям метанола (71,8 мл, 1770 ммоль) при 0 °С. Погашенную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. до того, как ее концентрировали под вакуумом, что давало неочищенный продукт. Неочищенные продукты из этой загрузки и аналогичной загрузки (с использованием 200 г исходного вещества) объединяли и очищали с помощью хроматографии на колонке из силикагеля с использованием 0-5% MeOH/ДХМ в качестве элюента, что давало соединение **x** в виде белого твердого вещества (437 г, выход 97,9%). ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 7,50 (д, *J*=8,8 Гц, 1H), 5,13 (к, *J*=6,3 Гц, 1H), 5,01-4,65 (м, 3H), 4,14-3,89 (м, 3H), 3,79 (с, 3H), 3,57 (с, 3H), 1,57-1,42 (м, 6H). ЖХ/МС для C₁₇H₂₁ClFNO₈ (M+Na)⁺: m/z=444,0.

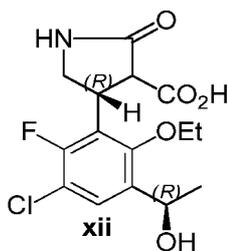
Стадия 10. (4*R*)-Метил-4-(3-хлор-6-этокси-2-фтор-5-((*R*)-1-

гидроксиэтил)фенил)-2-оксопирролидин-3-карбоксилат (xi)



3-горлую круглодонную колбу Мортонa, содержащую диметил-((1R)-1-{3-хлор-6-этокси-2-фтор-5-[(1R)-1-гидроксиэтил]фенил}-2-нитроэтил)малонат (**x**, 100,0 г, 237,1 ммоль) в тетрагидрофуране (800,0 мл) и никель Ренея (120 г после удаления воды с помощью пипетки), оснащали холодильником, механической мешалкой (стеклянный стержень для перемешивания и тефлоновая опора) и двумя шарами, заполненными газообразным водородом (продувка после вакуумирования). Колбу помещали на масляную баню при 65°C. Смесь энергично перемешивали в течение 16 ч, а шары периодически снимали и снова наполняли водородом. Отбирали образец и анализировали с помощью ВЭЖХ. Продукт, соединение **xi**, присутствовал в количестве 83%. В реакционной смеси присутствовало 7,8% не замкнутого в цикл амина и 5,5% гидроксиламина в качестве побочных продуктов. Катализатор отфильтровывали (необходимо следить за тем, никель Ренея не высыхал и не подвергался воздействию воздуха). Фильтрат испаряли досуха, что давало 91 г неочищенного продукта в виде белой пены. Неочищенный продукт (91 г, чистота 82,6% по площади) объединяли с такой же порцией неочищенного продукта (93 г, чистота 72,8%) для очистки. Объединенный неочищенный продукт (184 г) очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле (EtOAc/гексан в качестве элюента), что давало соединение **xi** (101,1 г, чистота, определенная с помощью ВЭЖХ, 93%, выход неочищенного продукта 59,3%). Неочищенное вещество использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХ/МС для C₁₆H₂₀ClFNO₅ (M+H)⁺: m/z=360,0.

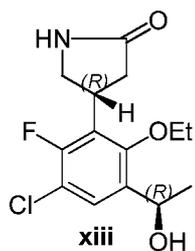
Стадия 11. (4R)-4-(3-Хлор-6-этокси-2-фтор-5-((R)-1-гидроксиэтил)фенил)-2-оксопирролидин-3-карбоновая кислота (xii)



В четырехгорлую круглодонную колбу вместимостью 5 л, оснащенную верхнеприводной мешалкой и отверстием для подвода азота, помещали раствор (4*R*)-метил-4-(3-хлор-6-этокси-2-фтор-5-((*R*)-1-гидроксиэтил)фенил)-2-оксопирролидин-3-карбоксилат (**xi**, 268 г, 581 ммоль) в тетрагидрофуране (2150 мл, 26500 ммоль). К раствору добавляли 1,0 М раствор гидроксида натрия в воде (1420 мл, 1420 ммоль). Полученный мутный раствор становился прозрачным в течение 1 мин. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь анализировали с помощью ЖХ/МС через 15 ч, и реакцию считали завершенной, поскольку не наблюдалось исходного вещества. Реакционную смесь охлаждали на ледяной бане до внутренней температуры 9. 5°C и смесь подкисляли до pH 1-2 путем добавления 6,0 М водного раствора соляной кислоты (237,0 мл, 1422 ммоль) с помощью капельной воронки в течение 30 мин. Реакционную смесь разделяли пополам и каждую половину экстрагировали этилацетатом (2×1 л). Объединенные водные слои дополнительно экстрагировали этилацетатом (500 мл). Два органических слоя промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (20% масс. NaCl/вода, 2×1000 мл), сушили над безводным MgSO₄, фильтровали и концентрировали, что давало неочищенную промежуточную кислоту **xii** в виде желтоватой пены, которую использовали непосредственно на следующей стадии реакции. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 12,68 (ш. с., 1H), 8,26 (с, 1H), 7,52 (д, *J*=8,0 Гц, 1H), 5,27 (ш. с., 1H), 4,90 (к, *J*=6,3 Гц, 1H), 4,28 (к, *J*=8,8 Гц, 1H), 3,92-3,81 (м, 1H), 3,76-3,65 (м, 1H), 3,57 (т, *J*=9,6 Гц, 1H), 3,46 (д, *J*=9,4 Гц, 1H), 3,23 (к, *J*=9,5 Гц, 1H), 1,33 (т, *J*=6,9 Гц, 3H), 1,28 (д, *J*=6,4 Гц, 3H). ЖХ/МС для C₁₅H₁₇ClFNNaO₅ (M+Na)⁺: m/z=368,0.

Стадия 12. (*R*)-4-(3-Хлор-6-этокси-2-фтор-5-((*R*)-1-

гидроксиэтил) фенил) пирролидин-2-он (xiii)



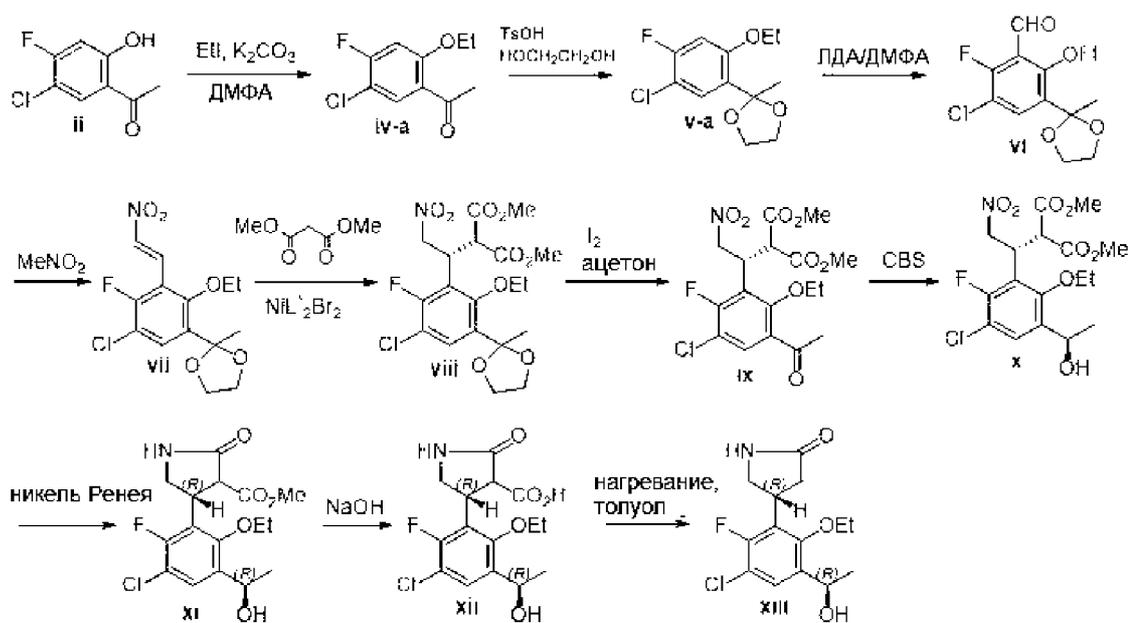
Неочищенное соединение **xii** растворяли в 1,4-диоксане (976 мл) и толуоле (976 мл) и полученный желтый раствор нагревали при 100°C. По мере протекания реакции цвет раствора становился коричневым. Образцы отбирали в моменты времени: 1 ч, 2 ч и 2,5 ч. Через 2,5 ч ВЭЖХ-анализ показал, что кислота, соединение **12**, присутствовала в количестве 0,38%, а требуемый продукт, соединение **xiii**, в количестве 78,8%. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали на мелкопористом фильтре в чистую круглодонную колбу вместимостью 3 л. Затем раствор концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток помещали под высокий вакуум, что давало коричневую пену (254 г).

К коричневой вязкой жидкости добавляли ацетонитрил (350 мл) и нагревали на водяной бане при 65°C до растворения. Раствор охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение 16 ч. Твердые вещества отделяли от раствора. Полученную взвесь охлаждали на ледяной бане в течение 1 ч. Продукт собирали с помощью фильтрования и полученный осадок на фильтре промывали 400 мл ледяного ацетонитрила. Твердые вещества, по-видимому, гигроскопичны. Твердое вещество растворяли в ДХМ (2,0 л) и концентрировали до вязкой жидкости, которую помещали под высокий вакуум, что давало соединение **xiii** в виде белой пены (106,4 г).

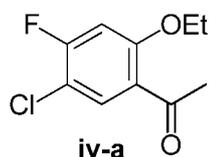
Фильтрат концентрировали до темной вязкой жидкости (около 120 г), которую очищали с помощью флэш-хроматографии (колонки из силикагеля 4×330 г, вводили с использованием ДХМ, элюировали смесью от 50% до 100% EtOAc/гексан, контролировали с помощью ТСХ с использованием 100% EtOAc в качестве элюента). Фракции, полученные при хроматографировании, концентрировали при пониженном давлении и помещали под высокий вакуум, что давало светло-коричневую пену (54,4 г). К пене добавляли МТВЭ (400 мл)

и MeOH (10 мл) и нагревали на водяной бане при 56°C в течение 15 минут, осталось некоторое количество твердых веществ. Взвесь охлаждали до комнатной температуры при перемешивании. Взвесь фильтровали для удаления нерастворимых веществ. Фильтрат концентрировали до вязкой жидкости и помещали под высокий вакуум, что давало пену. К пене добавляли ацетонитрил (72 мл, 1,5 мл/г) и нагревали на водяной бане при 60°C, пока раствор не становился гомогенным. Раствор охлаждали до комнатной температуры при перемешивании, твердые вещества осаждались из раствора, и он становился очень густым. Добавляли дополнительное количество ацетонитрила (24 мл) так, чтобы разбавление составляло 2 мл/г. Суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч, а затем охлаждали на ледяной бане в течение 1 часа. Продукт собирали с помощью фильтрования и промывали ацетонитрилом. Соединение **xiii** (25 г) получали в виде второй порции. Всего было получено 131,4 г соединения **xiii** с выходом 74,9% из соединения **xi**. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,83 (с, 1H), 7,47 (д, J=8,7 Гц, 1H), 5,24 (д, J=4,5 Гц, 1H), 4,96-4,85 (м, 1H), 4,08-3,92 (м, 1H), 3,80 (кТ, J=6,9, 3,5 Гц, 2H), 3,61-3,51 (м, 1H), 3,25 (т, J=9,1 Гц, 1H), 2,61-2,50 (м, 1H), 2,35-2,26 (м, 1H), 1,33 (т, J=7,0 Гц, 3H), 1,27 (д, J=6,4 Гц, 3H). ЖХ/МС для C₁₄H₁₈ClFNO₃ (M+H)⁺: m/z=302,0.

Пример 2. Альтернативный синтез (R)-4-(3-хлор-6-этокси-2-фтор-5-((R)-1-гидроксиэтил)фенил)пирролидин-2-она



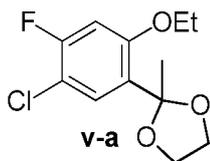
Стадия 1. 1-(5-Хлор-2-этоксифенил)этанон (**iv-a**)



1-(5-Хлор-4-фтор-2-гидроксифенил)этанон (соединение **ii** из примера 1, стадия 1, 1350 г, 7160 ммоль), N,N -диметилформамид (3,32 л), йодэтан (1340 г, 8590 ммоль) и карбонат калия (1980 г, 14300 ммоль) смешивали вместе и перемешивали при комнатной температуре в течение 45 мин. Температура смеси повысилась с 22°C до 55°C . Реакционную смесь нагревали до 60°C в течение 1 ч (температура смеси достигла 67°C через 30 мин., а затем упала до 60°C). ВЭЖХ-анализ показал, что было израсходовано все исходное вещество. Одной порцией добавляли воду (10 л) (взбалтывание прекратится, если воду добавлять порциями). Полученную взвесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Продукт собирали с помощью фильтрования и промывали водой (3 л). Продукт сушили на фильтре под вакуумом в течение 5 дней, что давало соединение **iv-a** в виде желтовато-коричневого твердого вещества (1418 г). ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 7,69 (д, $J=8,9$ Гц, 1H), 7,30 (д, $J=11,6$ Гц, 1H), 4,15 (к, $J=7,0$ Гц, 2H), 2,51 (с, 3H), 1,37 (т, $J=7,0$ Гц, 3H).

Стадия 2. 2-(5-Хлор-2-этоксифенил)-2-метил-1,3-

диоксолан (v-a)

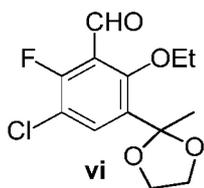


Раствор 1-(5-хлор-2-этокси-4-фторфенил)этанона (**iv-a**, 1481,0 г, 6836,3 ммоль) растворяли в толуоле (6 л). К раствору добавляли 1,2-этандиол (953 мл, 17100 ммоль) и моногидрат *p*-толуолсульфоновой кислоты (104 г, 547 ммоль). Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником при 104-110°C в течение 17,4 ч с использованием ловушки Дина-Старка для удаления воды. ВЭЖХ-анализ показал, что осталось 37% непрореагировавшего исходного вещества. Отгоняли около 600 мл дистиллята и реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение еще 5 ч (всего 22 ч). ВЭЖХ-анализ показал, что реакция более не протекала.

Предположили, что остаточное количество K_2CO_3 в исходном соединении **iv-a** может останавливать реакцию. Поэтому реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и промывали 1 н. водным раствором соляной кислоты (3×6,66 л). После промывания водным раствором кислоты органический слой переносили назад в реакционный сосуд. Добавляли 1,2-этандиол (381 мл, 6840 ммоль) и моногидрат *p*-толуолсульфоновой кислоты (104 г, 547 ммоль) и реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 16 ч. ВЭЖХ-анализ показал, что осталось около 20% непрореагировавшего исходного вещества. Отгоняли около 100 мл дистиллята. Добавляли 1,2-этандиол (380 мл, 6800 ммоль) и кипятили с обратным холодильником в течение 6 ч (всего 22 ч). ВЭЖХ показала, что осталось 7% непрореагировавшего исходного вещества. Отгоняли около 125 мл дистиллята. Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 6 ч (всего 28 ч). ВЭЖХ показала, что осталось 5,4% непрореагировавшего исходного вещества. Отгоняли около 125 мл дистиллята. Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение еще 7 ч. ВЭЖХ-анализ показал, что осталось 3,5% непрореагировавшего исходного вещества. Отгоняли около 80 мл дистиллята. В этот момент времени реакцию считали завершённой.

Реакционную смесь промывали 1 н. водным раствором хлорида натрия (2×5,5 л). Первый основной промывной раствор экстрагировали толуолом (2,1 л). Объединенный толуольный раствор промывали водой (7 л) и концентрировали, что давало 2153 г темного масла. ВЭЖХ-анализ показал, что чистота продукта составляла 93,8% с 1,90% исходного вещества и 0,79% продукта дейодирования. ^1H ЯМР-анализ показал, что в продукте осталось около 0,5 эквивалента толуола (около 256 г). Скорректированный выход соединения **v-a** составлял 88,0%. ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 7,51 (д, $J=8,8$ Гц, 1H), 6,70 (д, $J=11,0$ Гц, 1H), 4,17-3,92 (м, 4H), 3,91-3,80 (м, 2H), 1,75 (с, 3H), 1,46 (т, $J=7,0$ Гц, 3H).

Стадия 3. 3-Хлор-6-этокси-2-фтор-5-(2-метил-1,3-диоксолан-2-ил)бензальдегид (*vi*)



В высушенную в печи четырехгорлую круглодонную колбу вместимостью 3 л, оснащенную верхнеприводной мешалкой, капельной воронкой вместимостью 500 мл, отверстием для подвода азота, мембраной и термопарой, помещали *N,N*-диизопропиламин (87,8 мл, 626 ммоль) и безводный тетрагидрофуран (1090 мл, 13500 ммоль). Этот раствор охлаждали до -72°C и к нему добавляли 2,5 М *n*-бутиллития в смеси изомеров гексана (261 мл, 652 ммоль). Раствор *n*-бутиллития добавляли в течение 18 мин. Максимальная внутренняя температура в процессе добавления составляла -65° . Баню, содержащую сухой лед и ацетон, заменяли на баню, содержащую лед и воду, и реакционную смесь нагревали до от около -5°C до около 0°C и выдерживали в течение 15 мин. Затем реакционную смесь охлаждали до $-74,5^\circ\text{C}$.

В отдельную круглодонную колбу вместимостью 1 л, содержащую 2-(5-хлор-2-этокси-4-фторфенил)-2-метил-1,3-диоксолан (**v-a**, 136,1 г, 522,1 ммоль), добавляли безводный тетрагидрофуран (456 мл) для растворения твердых веществ. Полученный раствор охлаждали на ледяной бане до около 0°C . Раствор, содержащий

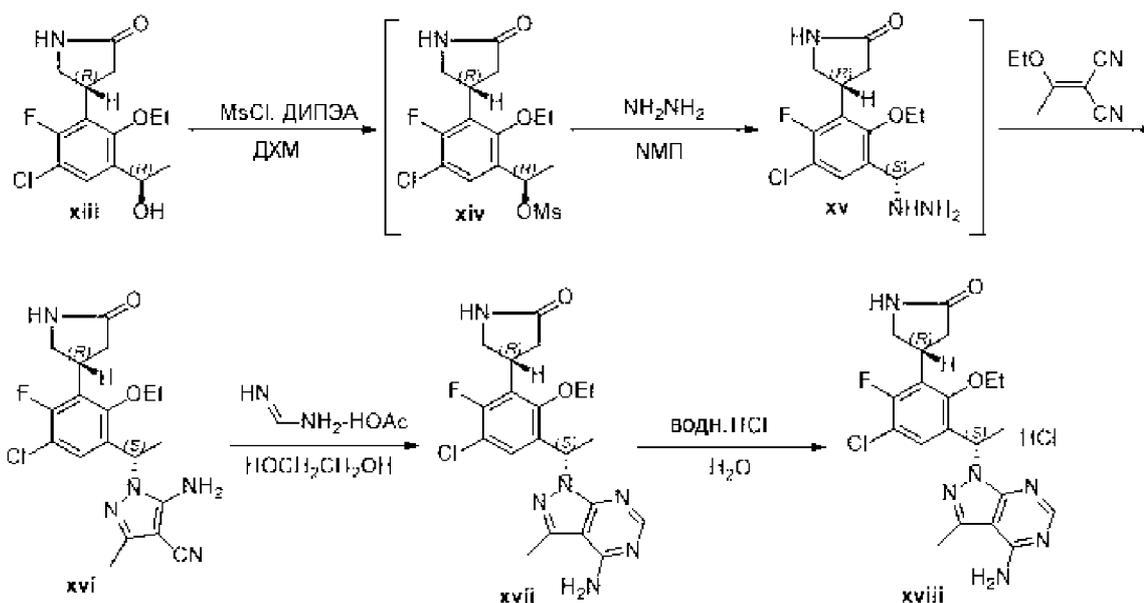
соединение **v-a**, переносили в раствор ЛДА (диизопропиламида лития) в течение 40 минут с помощью иглы, при этом поддерживая температуру реакции между -70°C и $-72,5^{\circ}\text{C}$. Реакционная смесь становилась желтой взвесью, и ее перемешивали в течение 37 мин. при -74°C . Одной порцией с помощью шприца добавляли *N,N*-диметилформаид (60,6 мл, 783 ммоль), это добавление приводило к выделению тепла и повышению температуры от $-74,5^{\circ}\text{C}$ до $-66,5^{\circ}\text{C}$. Реакцию контролировали с помощью ВЭЖХ через 90 мин. после добавления. Исходное вещество присутствовало в количестве 2,9%. Охлаждающую баню убирали и реакционную смесь нагревали до температуры окружающей среды. Через 3 ч отбирали образец реакционной смеси и его анализировали, непрореагировавшее исходное вещество присутствовало в количестве 1,5%. Реакцию считали завершённой, и гасили путем добавления реакционного раствора в ледяную воду (1,4 л), и разбавляли этилацетатом (1,5 л). Водный слой экстрагировали этилацетатом (1,5 л), а органические слои объединяли и промывали насыщенным раствором хлорида натрия (20% масс. водн. NaCl, 2×600 мл) и сушили над безводным MgSO₄. MgSO₄ удаляли фильтрованием и фильтрат концентрировали до масла, в котором присутствовало некоторое количество твердых веществ. Остаток растворяли в метиленхлориде и вносили в слой силикагеля (586 г). Слой силикагеля элюировали смесью 2% EtOAc/ДХМ (слеждали с помощью ТСХ с использованием 100% ДХМ в качестве элюента). Необходимые фракции объединяли и концентрировали при пониженном давлении, что давало светло-янтарное масло. Масло помещали под высокий вакуум, что давало соединение **vi** в виде желтого твердого вещества (146,5 г, выход 95,1%). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 10,27 (с, 1H), 7,78 (д, J=8,5 Гц, 1H), 4,10-3,96 (м, 4H), 3,87-3,76 (м, 2H), 1,72 (с, 3H), 1,44 (т, J=7,0 Гц, 3 H). ЖХ/МС для C₁₃H₁₅ClFO₄ (M+H)⁺: m/z=289,1.

Стадии 4-10. (R)-4-(3-Хлор-6-этокси-2-фтор-5-((R)-1-гидроксиэтил)фенил)пирролидин-2-он (xiii)

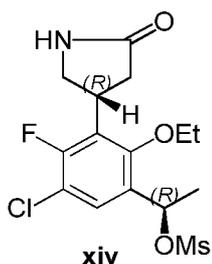
Целевое соединение получали с использованием методик, аналогичных описанным в Примере 1, стадии 6-12.

Пример 3. (R)-4-(3-((S)-1-(4-Амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-

d) пириимидин-1-ил) этил) -5-хлор-2-этокси-6-фторфенил) пирролидин-2-она гидрохлорид

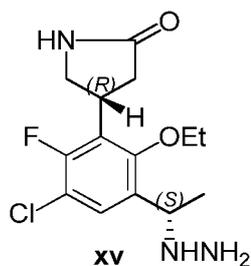


Стадия 1. (R)-1-(5-Хлор-2-этокси-4-фтор-3-((R)-5-оксопирролидин-3-ил)фенил)этилметансульфонат (xiv)



(R)-4-(3-Хлор-6-этокси-2-фтор-5-((R)-1-гидроксиэтил)фенил)пирролидин-2-он (xiii, 172,0 г, 570,0 ммоль) (состоит из 147 г, 99,83%: хиральная чистота 0,09%, химическая чистота 99,33%; и 25 г, 87,46%: хиральная чистота 12,54%, химическая чистота 86,74%) растворяли в метиленхлориде (860 мл). К раствору добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (149 мл, 855 ммоль) при температуре от около -7°C до около 2°C . К реакционной смеси в течение 25 мин. по каплям добавляли метансульфонилхлорид (57,4 мл, 741 ммоль). Суспензия превращалась в прозрачный раствор. Через 30 мин. протекания реакции ВЭЖХ показала завершение реакции. Реакционную смесь, содержащую соединение **xiv**, использовали непосредственно на следующей стадии.

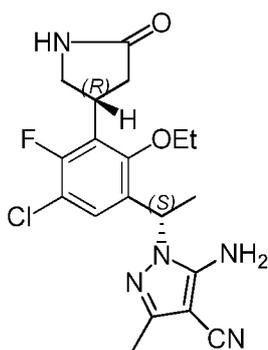
Стадия 2. (R)-4-(3-Хлор-6-этокси-2-фтор-5-((S)-1-гидразинилэтил)фенил)пирролидин-2-он (xv)



При 0°С одной порцией добавляли гидразин (178,9 мл, 5,7 моль), а затем *N*-метилпирролидинон (860 мл) к реакционной смеси, содержащей соединение **xiv** из стадии 1. Реакционная смесь становилась мутной, и образовывалось некоторое количество осадка. Смесь нагревали до 40-57°С в атмосфере азота в течение 90 мин. ВЭЖХ показала, что весь мезилат был израсходован.

Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли насыщенный раствор гидрокарбоната натрия (28,3 г) в воде (300 мл). Смесь перемешивали в течение 20 мин., после чего добавляли дихлорметан (300 мл). Органический слой отделяли и перемешивали с раствором гидрокарбоната натрия (14,2 г) в воде (150 мл). Водный слой экстрагировали дихлорметаном (200 мл x 2). Объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (80 мл), сушили над безводным Na₂SO₄ (311 г), концентрировали и перегоняли в виде азеотропной смеси с толуолом (250 мл), что давало бесцветный раствор, содержащий соединение **xv** в *N*-метилпирролидиноне, который использовали непосредственно для следующей реакции. Образец очищали для ЯМР-анализа. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆), δ 7,88 (с, 1H), 7,66 (д, *J*=8,5 Гц, 1H), 4,42 (к, *J*=6,7 Гц, 1H), 4,06-3,88 (м, 2H), 3,79-3,66 (м, 1H), 3,65-3,51 (м, 1H), 3,24 (т, *J*=8,8 Гц, 1H), 2,60-2,46 (м, 1H), 2,36-2,25 (м, 1H), 1,37 (т, *J*=6,9 Гц, 3H), 1,26 (д, *J*=6,8 Гц, 3H). ЖХ/МС для C₁₄H₁₉ClFN₃O₂ (M+H)⁺: m/z=316,1.

Стадия 3. 5-Амино-1-((*S*)-1-(5-хлор-2-этокси-4-фтор-3-((*R*)-5-оксопирролидин-3-ил)фенил)этил)-3-метил-1H-пиразол-4-карбонитрил (**xvi**)

**xvi**

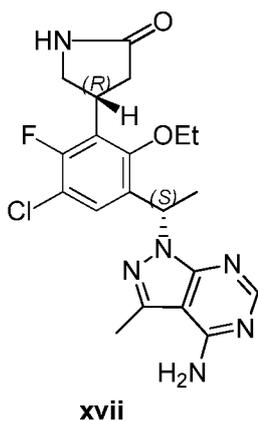
При перемешивании к раствору соединения **xv** из стадии 2 в *N*-метилпирролидиноне порциями добавляли (1-этоксиэтилиден)малононитрил (101 г, 741 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в атмосфере азота. Через 15 мин. ВЭЖХ-анализ показал 11% исходного гидразина, соединения **xv** относительно продукта, соединения **xvi**. Добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (15 мл, 86 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч. ВЭЖХ-анализ показал, что осталось 5,6% непрореагировавшего исходного вещества. Добавляли *N,N*-диизопропилэтиламин (5 мл, 30 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. ВЭЖХ показала, что осталось 5,6% исходного вещества. Реакционную смесь перемешивали в течение 2,5 дней, и объединяли с двумя подобными порциями, и обрабатывали вместе.

Объединяли реакционные смеси трех порций соединения **xvi**. Добавляли 0,5 М водный раствор гидроксида натрия (3,8 л) при 10–20°C и перемешивали в течение 5 мин. ВЭЖХ показала, что было израсходовано все исходное вещество, (1-этоксиэтилиден)малононитрил. Добавляли этилацетат (4,0 л) и смесь перемешивали в течение 15 мин. Слои разделяли. Органический слой промывали 0,5 М раствором гидроксида натрия в воде (2,38 л). Слои разделяли. Объединенный органический слой экстрагировали этилацетатом (2×2 л). Объединенные органические слои промывали 1,0 М водным раствором соляной кислоты (3,56 л), и значение рН полученного водного слоя составляло 2–3. Органический слой промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (5 л), сушили над безводным Na₂SO₄, концентрировали и сушили под высоким вакуумом в течение 40 ч, что давало

соединение **xvi** в виде светло-коричневого пенящегося твердого вещества (702,7 г). ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6) δ 7,78 (с, 1H), 7,44 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 6,53 (с, 2H), 5,64 (к, $J=6,7$ Гц, 1H), 3,96 (м, 1H), 3,74 (м, 1H), 3,34 (м, 1H), 3,58 (м, 2H), 2,59-2,50 (м, 1H), 2,29 (м, 1H), 2,04 (с, 3H), 1,57 (д, $J=6,8$ Гц, 3H), 1,37 (т, $J=6,9$ Гц, 3H). ЖХ/МС для $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{ClFN}_5\text{O}_2$ (M+H) $^+$: m/z=406,1.

Рассчитано, что общий выход соединения **xvi** за три стадии (мезилирование, гидразинолиз и образование пиразола), составлял 72,8% от общего вводимого количества соединения **xiii**. Чистота, определенная с помощью ВЭЖХ, составляла около 80%. ВЭЖХ-анализ указал на продукт, находящийся в основном водном слое, который последовательно экстрагировали EtOAc (2 л), промывали 1,0 М водным раствором соляной кислоты и насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушили над безводным сульфатом натрия, концентрировали и сушили с помощью высоковакуумного насоса в течение 40 ч, чтобы получить соединение **xvi** в виде коричневого масла (134 г, 13,9%).

Стадия 4. (R)-4-(3-((S)-1-(4-Амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он (**xvii**)



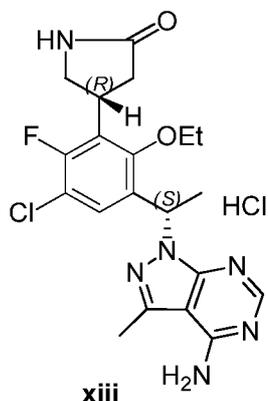
В реакционный сосуд с формамидина ацетатом (1802 г, 17,31 моль) и 1,2-этанジオлом (3,51 л) добавляли 5-амино-1-((S)-1-(5-хлор-2-этокси-4-фтор-3-((R)-5-оксопирролидин-3-ил)фенил)этил)-3-метил-1H-пиразол-4-карбонитрил (**xvi**, 702,7 г, 1731 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 102-103°C при перемешивании в течение 18 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной

температуры, и добавляли этилацетат (7 л) и воду (6 л), и двухфазную смесь перемешивали в течение 15 мин. Органический слой отделяли, и водный слой разбавляли дополнительным количеством воды (4,5 л) и этилацетатом (3 л), и перемешивали в течение 10 мин. Органический слой отделяли. Водный слой дополнительно экстрагировали этилацетатом (2 л). Органические слои объединяли и смешивали с водой (4,5 л). Водный слой отделяли и органический слой фильтровали через слой целита (около 1 кг). Органический слой экстрагировали 1,0 М водным раствором соляной кислоты (7 л) путем перемешивания смеси в течение 10 мин. Водный слой отделяли. Прозрачный коричневый органический слой перемешивали с дополнительным количеством 1,0 М водного раствора соляной кислоты (3 л) в течение 10 мин. Водный слой отделяли. Водные кислые слои объединяли и промывали толуолом (500 мл). Водный кислый раствор охлаждали на бане со льдом и водой и добавляли метиленхлорид (4 л). Медленно добавляли раствор гидроксида натрия (530 г) в воде (530 мл) (50%-й раствор NaOH) при 5-15 °С, пока значение рН раствора не составило 11-12. Наблюдалось образование осадка. Добавляли дополнительное количество метиленхлорида (3,5 л) и метанола (300 мл) и смесь перемешивали в течение 10-15 мин. Твердый продукт собирали фильтрованием и сушили на фильтре под вакуумом в течение 16 ч, что давало соединение **xvii** (289,7 г) в виде коричневого твердого вещества. ^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 8,11 (с, 1H), 7,82 (с, 1H), 7,52 (д, $J=8,5$ Гц, 1H), 7,30 (ш. с., 2H), 6,23 (к, $J=7,0$ Гц, 1H), 3,97 (п, $J=9,2$ Гц, 1H), 3,90-3,73 (м, 2H), 3,57 (т, $J=9,9$ Гц, 1H), 3,25 (дд, $J=9,2, 8,7$ Гц, 1H), 2,48 (с, 3H), 2,60-2,50 (м, 1H), 2,36-2,20 (м, 1H), 1,69 (д, $J=7,1$ Гц, 3 H), 1,39 (т, $J=6,9$ Гц, 3H). ЖХ/МС для $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{ClFN}_6\text{O}_2$ (M+H) $^+$: m/z=433,3.

Фильтрат переносили в делительную воронку и органический слой отделяли. Водный слой перемешивали с метиленхлоридом (5 л) и метанолом (200 мл). Объединенный органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, концентрировали, сушили с использованием высоковакуумного насоса в течение 16 ч, что

давало дополнительное количество 259,3 г в виде коричневого твердого вещества. Общий выход **xvii** составил 548,3 г (выход 73,2%).

Стадия 5. (*R*)-4-(3-((*S*)-1-(4-Амино-3-метил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она гидрохлорид (**xviii**)



1,0 М водный раствор соляной кислоты (HCl, 5,0 л, 5,0 моль) добавляли к (*R*)-4-(3-((*S*)-1-(4-амино-3-метил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-ону (**xvii**, 609,8 г, 1,409 моль) при комнатной температуре. Затем полученную густую суспензию нагревали до 50 °С, чтобы получить прозрачный раствор. К прозрачному раствору при 50°C дополнительно добавляли 1,82 л 1,0 М водного раствора соляной кислоты (HCl, 1,82 л, 1,82 моль; всего 6,82 л, 6,82 моль, 4,84 экв.), а затем раствор фильтровали через мелкопористый фильтр при приблизительно 50 °С. Отфильтрованную на мелкопористом фильтре реакцию смесь постепенно охлаждали до комнатной температуры в течение 2 ч, прежде чем ее дополнительно охлаждали до 0-5 °С. Реакционную смесь перемешивали при 0-5°C в течение по меньшей мере 20 мин. для иницирования образования осадка. Полученные твердые вещества собирали фильтрованием, промывали порцией холодного маточного раствора, затем 1,0 М водным раствором соляной кислоты (HCl, 200 мл) и сушили на фильтр-воронке при комнатной температуре под вакуумом до постоянной массы (в течение около 39 ч), чтобы получить солянокислую соль соединения формулы **I**: (*R*)-4-(3-((*S*)-1-(4-амино-3-метил-1*H*-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-1-

ил) этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил) пирролидин-2-она гидрохлорид (**xviii**, 348,7 г, теоретически 661,2 г, 52,7%) в виде белого кристаллического порошка. ^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 9,39 (ш. с., 1H), 9,05 (ш. с., 1H), 8,50 (с, 1H), 7,84 (с, 1H), 7,59 (д, $J=8,4$ Гц, 1H), 6,28 (к, $J=6,9$ Гц, 1H), 3,95 (м, 1H), 3,79 (м, 2H), 3,55 (м, 1H), 3,22 (м, 1H), 2,59 (с, 3H), 2,55 (ддд, $J=16,8, 10,3, 2,3$ Гц, 1H), 2,28 (ддд, $J=16,8, 8,6, 1,5$ Гц, 1H), 1,73 (д, $J=7,0$ Гц, 3H), 1,38 (т, $J=6,9$ Гц, 3H) м. д. ^{13}C ЯМР (100 МГц, ДМСО- d_6) δ 175,3, 156,4 ($J_{\text{CF}}=249,8$ Гц), 153,8 ($J_{\text{CF}}=7,0$ Гц), 152,4, 150,8, 147,3, 144,3, 131,4 ($J_{\text{CF}}=3,5$ Гц), 127,3, 126,4 ($J_{\text{CF}}=12,6$ Гц), 116,1 ($J_{\text{CF}}=18,4$ Гц), 98,0, 72,1, 49,1, 46,6, 36,0, 29,4, 21,0, 15,4, 14,6 м. д. ^{19}F ЯМР (376 МГц, ДМСО- d_6) δ - 113,6 (д, $J_{\text{FH}}=7,7$ Гц) м. д. $\text{C}_{20}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{FN}_6\text{O}_2$ (мол. масса 469,34); ЖХ/МС (ЭИ) m/e 433,2 (M^++H ; точная масса **xvii**:432,15). Содержание воды по методу КФ (титрование по Карлу Фишеру): 3,63% по массе; содержание хлоридов (Cl^-), определенное с помощью титрования: 7,56% по массе (теоретическое 7,56%).

Интервал плавления/разложения кристаллической формы соли (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил) пирролидин-2-она гидрохлорида определяли с помощью ДСК от исходной температуры 30°C до конечной температуры 350°C, используя скорость нагрева 10 °C/мин. На термограмме ДСК наблюдался один эндотермический процесс с началом при 194,37°C и пиком при 206,55 °C, как показано на фиг. 1.

Термограмма ТГА показала общую потерю массы, составляющую 4,3% до 210 °C. Выше 210°C соль начинает разлагаться, как показано на фиг. 2.

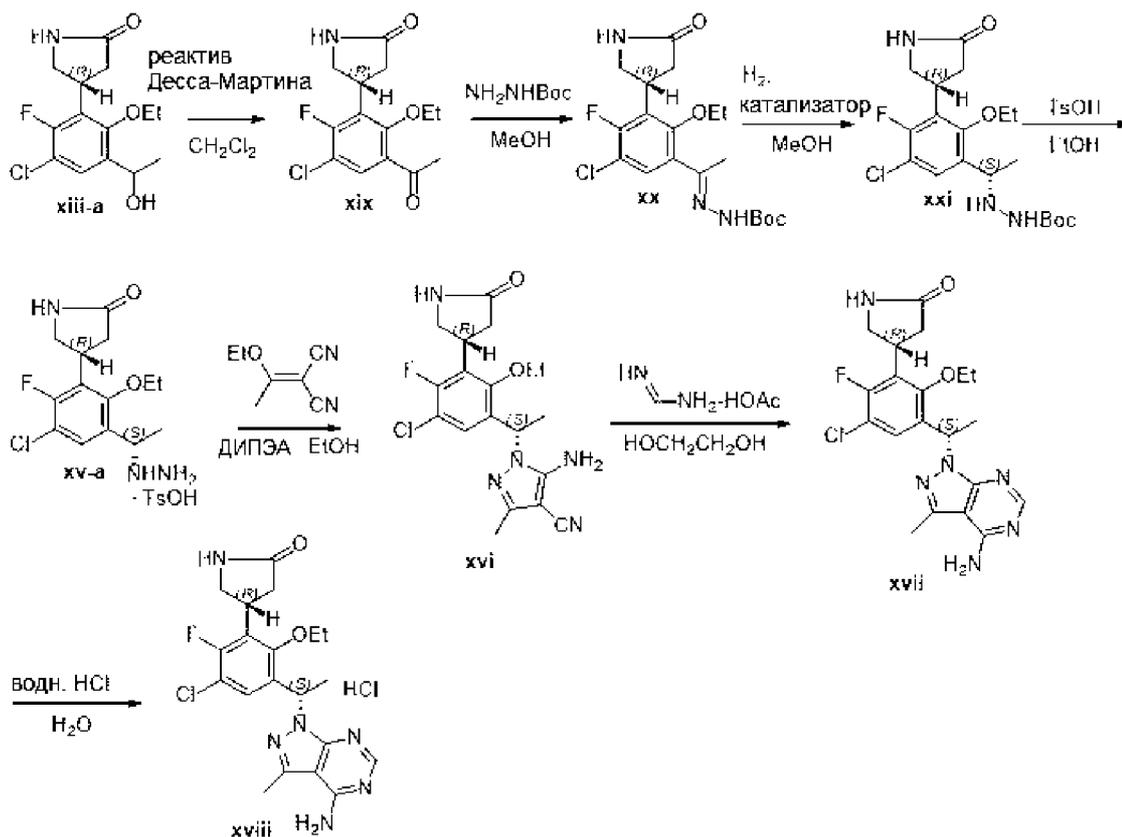
Типичная дифрактограмма, полученная с помощью порошковой рентгеновской дифракции (ПРД), показана на фиг. 3, а Таблица 2 демонстрирует соответствующие пики и интенсивности.

Таблица 2.

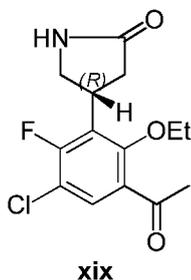
2-тета	Относительная интенсивность		2-тета	Относительная интенсивность		2-тета	Относительная интенсивность
--------	-----------------------------	--	--------	-----------------------------	--	--------	-----------------------------

	НОСТЬ			НОСТЬ			НОСТЬ
5,739	2,20%		25,098	2,20%		42,916	2,40%
7,133	1,20%		25,66	7,00%		43,373	0,50%
7,736	0,10%		25,895	4,00%		44,148	0,40%
10,225	2,30%		27,168	3,10%		45,29	0,30%
11,283	99,00%		27,792	8,50%		46,089	1,40%
11,303	94,10%		28,1	10,00%		47,572	0,40%
13,666	2,90%		28,464	5,50%		48,897	0,70%
14,166	0,90%		30,134	3,20%		49,647	0,50%
14,833	0,10%		31,239	13,70%		50,589	0,30%
15,364	3,80%		31,918	1,30%		51,042	0,10%
16,354	9,70%		32,827	9,50%		51,687	0,40%
17,136	0,50%		33,818	0,70%		52,624	0,40%
16,866	2,70%		34,198	2,80%		53,287	0,50%
17,435	5,50%		35,033	2,10%		54,104	0,20%
17,635	3,30%		35,423	2,10%		54,127	0,10%
18,811	5,10%		36,226	0,30%		54,159	0,20%
18,898	6,60%		36,676	0,90%		55,42	0,30%
19,603	1,50%		37,47	0,90%		56,821	0,10%
20,157	1,80%		37,951	0,50%			
20,593	0,50%		38,457	1,70%			
21,039	11,10%		39,055	0,20%			
21,308	3,80%		39,968	0,20%			
22,169	7,50%		40,184	0,30%			
23,002	11,50%		40,962	0,20%			
24,628	6,60%		42	1,30%			

Пример 4. Альтернативный синтез (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она гидрохлорида



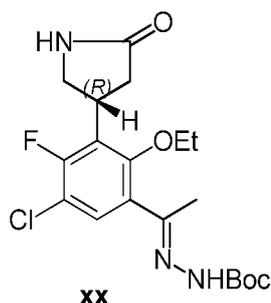
Стадия 1. (R)-4-(3-ацетил-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он (**xix**)



(4R)-4-[3-Хлор-6-этокси-2-фтор-5-(1-гидроксиэтил)фенил]пирролидин-2-он (в виде смеси двух диастереомеров с *R*-конfigurацией на пирролидиноне и *R*- или *S*-конfigurациями на вторичном спирте) (**xiii**, 16,7 г, 55,3 ммоль) растворяли в дихлорметане (167 мл). Раствор охлаждали на бане со льдом и водой и небольшими порциями добавляли периодинан Десса-Мартина (35,2 г, 83,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов, в этот момент ВЭЖХ-анализ показал, что реакция завершена. К реакционной смеси добавляли раствор сульфата натрия (28 г, 220 ммоль) в воде (70 мл) и смесь перемешивали в течение 20 мин. К смеси добавляли 1,0 М раствор гидроксида натрия и перемешивали в течение 10 мин.

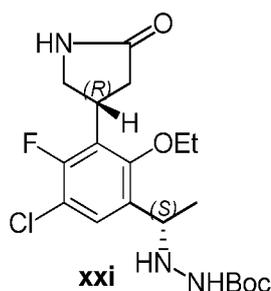
Слоям давали отстояться и органический слой отделяли и последовательно промывали 1 М водным раствором гидроксида натрия (66 мл) и водой (60 мл). Органический слой сушили над безводным сульфатом натрия. Осушитель удаляли фильтрованием и фильтрат концентрировали, что давало (*R*)-4-[3-ацетил-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил]пирролидин-2-он в виде масла, которое использовали для следующей реакции без дополнительной очистки.

Стадия 2. (*R,E*)-трет-Бутил-2-(1-(5-хлор-2-этокси-4-фтор-3-(5-оксопирролидин-3-ил)фенил)этилиден)гидразинкарбоксилат (**xx**)



Неочищенный (*R*)-4-[3-ацетил-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил]пирролидин-2-он (соединение **xix** из стадии 1) растворяли в метаноле (60 мл) и к раствору добавляли трет-бутилкарбазат (8,04 г, 60,8 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 65°C в течение 3,5 дней, в этот момент ВЭЖХ-анализ показал, что реакция завершена. Смесь концентрировали при пониженном давлении и остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле, элюируя смесью 0-5% метанола в этилацетате, что давало (*R,E*)-трет-бутил-2-(1-(5-хлор-2-этокси-4-фтор-3-(5-оксопирролидин-3-ил)фенил)этилиден)гидразинкарбоксилат (**xx**, 19,5 г, 85%). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9,83 (с, 1H), 7,78 (с, 1H), 7,36 (д, *J*=8,6 Гц, 1H), 4,07 (п, *J*=9,1 Гц, 1H), 3,84-3,69 (м, 2H), 3,59 (т, *J*=9,5 Гц, 1H), 3,28 (т, *J*=9,5 Гц, 1H), 2,54 (м, 1H), 2,33 (м, 1H), 2,14 (с, 3H), 1,46 (с, 9H), 1,25 (т, *J*=7,0 Гц, 3H). ЖХ/МС для C₁₉H₂₅ClFN₃NaO₄ (M+Na)⁺: m/z=436,1.

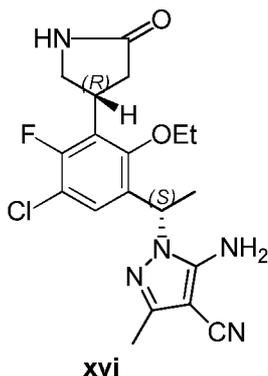
Стадия 3. трет-Бутил-2-((*S*)-1-(5-хлор-2-этокси-4-фтор-3-((*R*)-5-оксопирролидин-3-ил)фенил)этил)гидразинкарбоксилат (**xxi**)



(*R, E*)-*трет*-Бутил-2-(1-(5-хлор-2-этокси-4-фтор-3-(5-оксопирролидин-3-ил) фенил) этилиден) гидразинкарбоксилат (**xx**, 0,5 г, 1,2 ммоль) растворяли в метаноле (25 мл) и через раствор барботировали газообразный азот в течение 5 мин. К раствору добавляли бис(1,5-циклооктадиен)родия(I) тетрафторборат (35 мг, 0,086 ммоль) и (*R*)-(-)-1-[(*S*)-2-[бис(4-трифторметилфенил) фосфин] ферроценил] этил-ди-*трет*-бутилфосфин (64 мг, 0,094 ммоль) и через полученную реакционную смесь барботировали газообразный азот в течение 30 мин. Затем реакционную смесь встряхивали под давлением водорода (386 кПа (56 фунтов на квадратный дюйм)) в течение 2,5 дней. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток очищали с помощью хроматографии на колонке с силикагелем, элюируя смесью метанола (0-10%) в этилацетате. Требуемые фракции концентрировали, что давало *трет*-бутил-2-((*S*)-1-(5-хлор-2-этокси-4-фтор-3-((*R*)-5-оксопирролидин-3-ил) фенил) этил) гидразинкарбоксилат (**xxi**, 428 мг, выход 85%). ¹H ЯМР (500 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 8,18 (с, 1H), 7,78 (с, 1H), 7,53 (д, *J*=8,2 Гц, 1H), 4,73 (с, 1H), 4,41 (ш. с., 1H), 3,98 (м, 1H), 3,75 (м, 2H), 3,61 (м, 1H), 3,26 (м, 1H), 2,53 (м, 1H), 2,29 (дд, *J*=17,6, 8,6 Гц, 1H), 1,32 (с, 12H), 1,10 (д, *J*=6,5 Гц, 1H). ЖХ/МС для C₁₉H₂₇ClFN₃NaO₄ (M+Na)⁺: m/z=437,9. Хиральный ВЭЖХ-анализ показал, что продукт содержал требуемый диастереомер *трет*-бутил-2-((*S*)-1-(5-хлор-2-этокси-4-фтор-3-((*R*)-5-оксопирролидин-3-ил) фенил) этил) гидразинкарбоксилат (**xxi**) в количестве 85,6% и нежелательный диастереомер *трет*-бутил-2-((*R*)-1-(5-хлор-2-этокси-4-фтор-3-((*R*)-5-оксопирролидин-3-ил) фенил) этил) гидразинкарбоксилат в количестве 14,3%.

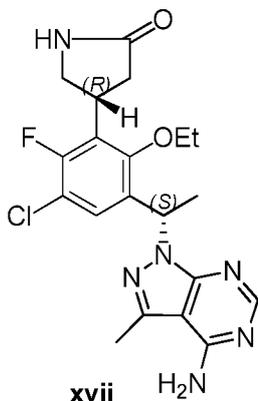
Стадия 4. 5-Амино-1-((*S*)-1-(5-хлор-2-этокси-4-фтор-3-((*R*)-5-оксопирролидин-3-ил) фенил) этил) -3-метил-1H-пиразол-4-

карбонитрил (xvi)



трет-Бутил-2-((*S*)-1-(5-хлор-2-этоксифтор-3-((*R*)-5-оксопирролидин-3-ил)фенил)этил)гидразинкарбоксилат (**xxi**, 130 мг, 0,31 ммоль) и моногидрат *p*-толуолсульфоновой кислоты (86 мг, 0,45 ммоль) добавляли к этанолу (3 мл) и реакционную смесь нагревали при 50°C в течение 20 ч. ВЭЖХ-анализ показал, что осталось около 88% непрореагировавшего исходного вещества. Добавляли дополнительное количество *p*-толуолсульфоновой кислоты (86 мг, 0,45 ммоль) и реакционную смесь нагревали до 60°C в течение 24 ч. ВЭЖХ-анализ показал полное снятие Вос-защиты. К этой реакционной смеси добавляли (1-этоксиэтилиден)малононитрил (61 мг, 0,45 ммоль) и *N,N*-диизопропилэтиламин (260 мкл, 1,5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. ВЭЖХ показала завершение образования пиразольного кольца. К реакционной смеси добавляли 1,0 М водный раствор гидроксида натрия и перемешивали в течение 20 мин. К смеси добавляли этилацетат (20 мл) и перемешивали. Двухфазной смеси давали отстояться. Этилацетатный слой собирали и водный слой экстрагировали этилацетатом (10 мл). В объединенный этилацетатный раствор добавляли 1 М водный раствор соляной кислоты (5 мл) и перемешивали в течение 15 мин. Двухфазной смеси давали отстояться и органический слой собирали и сушили над безводным сульфатом натрия. Сульфат натрия удаляли фильтрованием и фильтрат концентрировали, что давало 5-амино-1-((*S*)-1-(5-хлор-2-этоксифтор-3-((*R*)-5-оксопирролидин-3-ил)фенил)этил)-3-метил-1*H*-пиразол-4-карбонитрил (**xvi**, 126 мг, количественный выход неочищенного продукта), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки.

Стадия 5. (R)-4-(3-((S)-1-(4-Амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он (xvii)



К 5-амино-1-((1S)-1-[5-хлор-2-этокси-4-фтор-3-(5-оксопирролидин-3-ил)фенил]этил)-3-метил-1H-пиразол-4-карбонитрилу (**xvi**, 126 мг, 0,31 ммоль) добавляли формамина ацетат (323 мг, 3,1 ммоль) и 1,2-этандиол (2 мл). Реакционную смесь нагревали при 104–105°C при перемешивании. Через 18 ч ВЭЖХ-анализ показал, что осталось около 44% исходного соединения **xvi**. Реакционную смесь нагревали до 115°C в течение 24 ч. ВЭЖХ-анализ показал, что реакция завершена. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли этилацетат (10 мл) и воду (5 мл). Двухфазную смесь перемешивали. Слоям позволяли разделиться. Органический слой собирали, а водный слой экстрагировали этилацетатом (5 мл). Объединенный этилацетатный раствор промывали водой (5 мл), сушили над безводным сульфатом натрия. Сульфат натрия удаляли фильтрованием и фильтрат концентрировали до остатка. Остаток очищали с помощью хроматографии на силикагеле. Колонку элюировали смесью метанола (0–5%) в метиленхлориде. Требуемые фракции объединяли и испаряли, что давало (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он (**xvii**, 94 мг, выход 69,9%). ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,11 (с, 1H), 7,82 (с, 1H), 7,52 (д, J=8,5 Гц, 1H), 7,30 (ш. с., 2H), 6,23 (к, J=7,0 Гц, 1H), 3,97 (п, J=9,2 Гц, 1H), 3,90–3,73 (м, 2H), 3,57 (т, J=9,9 Гц, 1H), 3,25 (дд, J=9,2, 8,7 Гц, 1H), 2,48 (с, 3H), 2,60–2,50 (м, 1H), 2,36–2,20 (м, 1H), 1,69 (д, J=7,1

Гц, 3 Н), 1,39 (т, $J=6,9$ Гц, 3Н). ЖХ/МС для $C_{20}H_{23}ClFN_6O_2$ (M+H)⁺: m/z=433,3.

Хиральный ВЭЖХ-анализ продукта показал, что он содержал требуемый диастереомер (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он (**xvii**) в количестве 87% и нежелательный диастереомер (R)-4-(3-((R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он в количестве 13%.

Стадия 6. (R)-4-(3-((S)-1-(4-Амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она гидрохлорид

Целевой продукт получали в соответствии с методикой, описанной в примере 3, стадия 5. Полученная гидрохлоридная соль хорошо соответствует веществу, полученному с использованием способа синтеза, описанного в *Примере 3*, в каждом сопоставимом аспекте, включая химическую чистоту, хиральную чистоту и характеристики твердого состояния.

Пример А1. Анализ ферментов PI3K

Набор для люминесцентного анализа PI3-киназы, включающий липидный субстрат для киназы, D-миофосфатидилинозитол-4,5-бифосфат (PtdIns(4,5)P₂), D(+)-sn-1,2-ди-О-октаноилглицерил, 3-О-фосфо-связанный (PIP₂), биотинилированный I(1,3,4,5)P₄, белок для обнаружения PI(3,4,5)P₃, приобретен в Echelon Biosciences (Солт-Лейк-Сити, Юта). Набор для обнаружения GST AlphaScreen™, включающий донорные и акцепторные шарики, приобретен в PerkinElmer Life Sciences (Уолтем, Массачусетс). PI3Kδ (p110δ/p85α) приобретена в Millipore (Бедфорд, Массачусетс). АТФ, MgCl₂, ДТТ, ЭДТК, HEPES и CHAPS приобретены в Sigma-Aldrich (Сент-Луис, Миссури).

Анализ AlphaScreen™ для PI3Kδ

Реакцию с киназой проводят в 384-луночном планшете REMP производства Thermo Fisher Scientific, конечный объем составляет 40 мкл. Ингибиторы вначале последовательно разбавляют ДМСО и добавляют в лунки планшета до добавления других компонентов

реакции. Конечная концентрация ДМСО для анализа составляет 2%. Анализ PI3K проводят при комнатной температуре в 50 mM HEPES, pH 7,4, 5 mM MgCl₂, 50 mM NaCl, 5 mM ДТТ и 0,04% CHAPS. Реакции инициируют добавлением АТФ, при этом конечную реакционную смесь, которая состоит из 20 мкМ PIP₂, 20 мкМ АТФ, 1,2 нМ PI3K δ , инкубируют в течение 20 минут. 10 мкл реакционной смеси затем переносят к 5 мкл биотинилированного I(1,3,4,5)P₄ с концентрацией 50 нМ в буфере для гашения: 50 mM HEPES, pH 7,4, 150 mM NaCl, 10 mM ЭДТК, 5 mM ДТТ, 0,1% твин-20, затем добавляют 10 мкл донорных и акцепторных шариков AlphaScreen™, суспендированных в буфере для гашения, содержащем 25 нМ белка для обнаружения PI(3,4,5)P₃. Конечная концентрация как донорных, так и акцепторных шариков составляет 20 мг/мл. После запечатывания планшетов их инкубируют в темном месте при комнатной температуре в течение 2 часов. Активность продукта определяют на ридере для микропланшетов Fusion-alpha (Perkin-Elmer). Определение IC₅₀ выполняют с помощью аппроксимации кривой зависимости доли от активности контрольного образца (в процентах) от логарифма концентрации ингибитора, используя программное обеспечение GraphPad Prism 3.0.

Пример А2. Анализ ферментов PI3K

Вещества. Липидный субстрат для киназы, фосфоинозитол-4,5-бифосфат (PIP₂), приобретен в Echelon Biosciences (Солт-Лейк-Сити, Юта). Изоформы PI3K α , β , δ и γ приобретены в Millipore (Бедфорд, Массачусетс). АТФ, MgCl₂, ДТТ, ЭДТК, MOPS и CHAPS приобретены в Sigma-Aldrich (Сент-Луис, Миссури).

Реакции с киназой проводят в 96-луночном планшете с прозрачным дном производства Thermo Fisher Scientific, конечный объем составляет 24 мкл. Ингибиторы вначале последовательно разбавляют ДМСО и добавляют в лунки планшета до добавления других компонентов реакции. Конечная концентрация ДМСО для анализа составляет 0,5%. Анализ PI3K проводят при комнатной температуре в 20 mM MOPS, pH 6,7, 10 mM MgCl₂, 5 mM ДТТ и 0,03% CHAPS. Реакционную смесь готовят так, чтобы она содержала 50 мкМ PIP₂, киназу и различные концентрации ингибиторов. Реакции

инициируют добавлением АТФ, содержащего 2,2 мкКи [γ - ^{33}P]АТФ так, чтобы конечная концентрация составляла 1000 мкМ. Конечные концентрации изоформ РІЗК α , β , δ и γ для анализа составляют 1,3, 9,4, 2,9 и 10,8 нМ, соответственно. Реакционные смеси инкубируют в течение 180 минут, и реакции завершают путем добавления 100 мкл буфера для гашения, содержащего 1 М фосфата калия, рН 8,0, 30 мМ ЭДТК. Аликвоту 100 мкл реакционного раствора затем переносят в 96-луночный фильтрующий планшет из ПВДФ с размером пор 0,45 мкм Millipore MultiScreen IP (фильтрующий планшет предварительно по очереди смачивают 200 мкл 100% этанола, дистиллированной воды и 1 М раствора фосфата калия с рН 8,0). Жидкость из фильтрующего планшета аспирируют под вакуумом с использованием Millipore Manifold и планшет промывают 18 × 200 мкл промывочного буферного раствора, содержащего 1 М фосфата калия с рН 8,0 и 1 мМ АТФ. После высушивания с помощью аспирации и впитывания планшет сушат на воздухе в термостате при 37°C в течение ночи. Затем к планшету присоединяют адаптер Packard TopCount (Millipore) после добавления 120 мкл сцинтилляционного коктейля Microscint 20 (Perkin Elmer) в каждую лунку. После запечатывания планшета определяют радиоактивность продукта путем подсчета сцинтилляций на приборе Topcount (Perkin-Elmer). Определение IC_{50} выполняют с помощью аппроксимации кривой зависимости доли от активности контрольного образца (в процентах) от логарифма концентрации ингибитора, используя программное обеспечение GraphPad Prism 3.0.

В анализе примера А2 исследовали солянокислую соль (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она, и было установлено, что она является селективным ингибитром РІЗК δ .

В анализе примера А2 исследовали солянокислую соль (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она, и было установлено, что она является в 100 раз более селективным ингибитором РІЗК δ по сравнению с каждой из РІЗК α , РІЗК β и РІЗК γ .

Пример А3. Сцинтилляционный проксимальный анализ РІЗК δ

Вещества

[γ -³³P]АТФ (10 мКи/мл) приобретен в Perkin-Elmer (Уолтем, Массачусетс). Липидный субстрат для киназы, D-мио-фосфатидилинозитол-4,5-бифосфат (PtdIns(4,5)P₂), D(+)-sn-1,2-ди-O-октаноилглицерил, 3-O-фосфо-связанный (PIP₂), CAS 204858-53-7, приобретен в Echelon Biosciences (Солт-Лейк-Сити, Юта). PI3K δ (p110 δ /p85 α) приобретена в Millipore (Бедфорд, Массачусетс). АТФ, MgCl₂, ДТТ, ЭДТК, MOPS и CHAPS приобретены в Sigma-Aldrich (Сент-Луис, Миссури). Сцинтилляционные шарики для SPA-анализа с иммобилизованным агглютинином зародышей пшеницы (АЗП) и YSi приобретены в GE Healthcare Life Sciences (Пискатавэй, Нью-Джерси).

Реакцию с киназой проводили в 384-луночном матричном белом полистирольном планшете производства Thermo Fisher Scientific, конечный объем составлял 25 мкл. Ингибиторы вначале последовательно разбавляли ДМСО и добавляли в лунки планшета до добавления других компонентов реакции. Конечная концентрация ДМСО для анализа составляла 0,5%. Анализ PI3K проводили при комнатной температуре в 20 мМ MOPS, pH 6,7, 10 мМ MgCl₂, 5 мМ ДТТ и 0,03% CHAPS. Реакции инициировали добавлением АТФ, конечная реакционная смесь состояла из 20 мкМ PIP₂, 20 мкМ АТФ, 0,2 мКи [γ -³³P] АТФ, 4 нМ PI3K δ . Реакционные смеси инкубировали в течение 210 минут, и реакции завершали путем добавления 40 мкл шариков для SPA-анализа, суспендированных в буфере для гашения: 150 мМ фосфата калия, pH 8,0, 20% глицерина, 25 мМ ЭДТК, 400 мкМ АТФ. Конечная концентрация шариков для SPA-анализа составляла 1,0 мг/мл. После запечатывания планшетов их встряхивали в течение ночи при комнатной температуре и центрифугировали при 1800 об/мин. в течение 10 минут, радиоактивность продукта определяли путем подсчета сцинтилляций на приборе Topcount (Perkin-Elmer). Определение IC₅₀ выполняли с помощью аппроксимации кривой зависимости доли активности контрольного образца (в процентах) от логарифма концентрации ингибитора, используя программное обеспечение GraphPad Prism 3.0. Установлено, что соединение формулы **I** в анализе примера АЗ имеет IC₅₀, составляющую \leq 10 нМ.

Пример В1. Анализ пролиферации В-клеток

Для получения В-клеток человеческие МКПК выделяют из периферической крови здоровых доноров, не принимающих лекарственных средств, с помощью стандартного центрифугирования в градиенте плотности на Ficoll-Hypaque (GE Healthcare, Пискатауэй, Нью-Джерси) и инкубируют с микрошариками с иммобилизованными анти-CD19 (Miltenyi Biotech, Оберн, Калифорния). Затем В-клетки очищают с помощью положительного иммуносортинга с использованием autoMacs (Miltenyi Biotech) в соответствии с инструкцией производителя.

Очищенные В-клетки (2×10^5 /лунка/200 мкл) культивируют в 96-луночных планшетах со сверхнизким связыванием (Corning, Корнинг, Нью-Йорк) в среде RPMI1640, содержащей 10% ФБС и козы F(ab')₂ против человеческих IgM (10 мкг/мл) (Invitrogen, Карлсбад, Калифорния), в присутствии различных количеств исследуемых соединений в течение трех дней. Затем к культурам В-клеток еще на 12 часов добавляют [³H]-тимидин (1 мКи/лунка) (PerkinElmer, Бостон, Массачусетс) в ФБС, после чего введенную радиоактивность отделяют с помощью фильтрования с водой через фильтры GF/B (Packard Bioscience, Мериден, Коннектикут) и определяют путем подсчета сцинтилляций в жидкой фазе с использованием TopCount (Packard Bioscience).

Пример В2. Анализ пролиферации клеток Pfeiffer

Клеточная линия Pfeiffer (диффузная В-крупноклеточная лимфома) приобретена в АТСС (Манассас, Вирджиния), и ее культивируют в рекомендуемой питательной среде (RPMI и 10% ФБС). Для измерения антипролиферативной активности соединений клетки Pfeiffer высевают в питательной среде (2×10^3 клеток/лунка/ на 200 мкл) в 96-луночные планшеты со сверхнизким связыванием (Corning, Корнинг, Нью-Йорк) в присутствии или в отсутствие исследуемых соединений в различных концентрациях. Через 3-4 дня к культуре клеток еще на 12 часов добавляют [³H]-тимидин (1 мКи/лунка) (PerkinElmer, Бостон, Массачусетс) в ФБС, после чего введенную радиоактивность отделяют с помощью фильтрования с водой через фильтры GF/B (Packard Bioscience, Мериден, Коннектикут) и

определяют путем подсчета сцинтилляций в жидкой фазе с использованием TopCount (Packard Bioscience).

Пример В3. Анализ пролиферации клеток SUDHL-6

Клеточная линия SUDHL-6 (диффузная В-крупноклеточная лимфома) приобретена в АТСС (Манассас, Вирджиния), и ее культивировали в рекомендуемой питательной среде (RPMI и 10% ФБС). Для измерения антипролиферативной активности соединений посредством количественного определения АТФ клетки SUDHL-6 высевали в питательной среде (5000 клеток/лунка/ на 200 мкл) в 96-луночном полистирольном прозрачном черном планшете, обработанном для культивирования тканей (Greiner-bio-one посредством VWR, Нью-Джерси), в присутствии или в отсутствие исследуемых соединений в различных концентрациях. Через 3 дня в каждую лунку на 10 минут при комнатной температуре добавляли агент для клеточных культур Cell Titer-GLO (люминесцентный) (Promega, Мадисон, Висконсин) для стабилизации люминесцентного сигнала. Данный анализ определяет количество жизнеспособных клеток в культуре на основе количественного определения присутствующего АТФ, который указывает на присутствие метаболически активных клеток. Люминесценцию измеряли с помощью TopCount 384 (Packard Bioscience посредством Perkin Elmer, Бостон, Массачусетс).

Пример С. Анализ фосфорилирования Akt

Клетки Ramos (В-лимфоциты полученные из лимфома Беркитта) получены в АТСС (Манассас, Вирджиния), и их культивируют в среде RPMI1640 и 10% ФБС. Клетки (3×10^7 клеток /пробирка/3 мл в RPMI) инкубируют с различными количествами исследуемых соединений в течение 2 ч при 37 °С, а затем стимулируют козьими F(ab')₂ против IgM человека (5 мкг/мл) (Invitrogen) в течение 17 минут на водяной бане с температурой 37 °С. Стимулированные клетки центрифугируют при 4°С и готовят цельный клеточный экстракт с использованием 300 мкл буфера для лизиса (Cell Signaling Technology, Данверс, Массачусетс). Полученные лизаты обрабатывают ультразвуком и собирают надосадочные жидкости. Уровень фосфорилирования Akt в надосадочных жидкостях определяют

с использованием наборов PathScan phospho-Akt1 (Ser473) для проведения ИФА «сэндвич»-типа (Cell Signaling Technology) в соответствии с инструкцией производителя.

Для специалистов в данной области техники из предыдущего описания будут очевидны различные модификации изобретения в дополнение к описанным в данном документе. Предполагается, что такие модификации также входят в объем прилагаемой формулы изобретения. Каждый источник, включая все патенты, патентные заявки и публикации, цитируемые в настоящей заявке, включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

В настоящей заявке предложено следующее:

1. Соль, которая представляет собой солянокислую соль (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она.

2. Соль по п. 1, которая представляет собой стехиометрическое отношение 1:1 (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она к соляной кислоте.

3. Соль по п. 1 или 2, которая является кристаллической.

4. Соль по любому из пп. 1-3, которая по существу выделена.

5. Соль по любому из пп. 1-4, которая характеризуется термограммой ДСК, на которой наблюдается эндотермический пик при около 207 °С.

6. Соль по любому из пп. 1-4, имеющая термограмму ДСК практически такую же, как показано на фиг. 1.

7. Соль по любому из пп. 1-6, имеющая термограмму ТГА практически такую же, как показано на фиг. 2.

8. Соль по любому из пп. 1-7, характеризующаяся по меньшей мере одним пиком ПРД, в единицах 2-тета выбранным из около 11,3°, около 16,4°, около 21,0°, около 23,0°, около 28,1°, около 31,2° и около 32,8°.

9. Соль по любому из пп. 1-7, характеризующаяся по меньшей мере двумя пиками ПРД, в единицах 2-тета выбранными из около 11,3°, около 16,4°, около 21,0°, около 23,0°, около 28,1°, около 31,2° и около 32,8°.

10. Соль по любому из пп. 1-7, характеризующаяся по меньшей мере тремя пиками ПРД, в единицах 2-тета выбранными из около $11,3^\circ$, около $16,4^\circ$, около $21,0^\circ$, около $23,0^\circ$, около $28,1^\circ$, около $31,2^\circ$ и около $32,8^\circ$.

11. Соль по любому из пп. 1-7, характеризующаяся по меньшей мере четырьмя пиками ПРД, в единицах 2-тета выбранными из около $11,3^\circ$, около $16,4^\circ$, около $21,0^\circ$, около $23,0^\circ$, около $28,1^\circ$, около $31,2^\circ$ и около $32,8^\circ$.

12. Соль по любому из пп. 1-7, характеризующаяся по меньшей мере пятью пиками ПРД, в единицах 2-тета выбранными из около $11,3^\circ$, около $16,4^\circ$, около $21,0^\circ$, около $23,0^\circ$, около $28,1^\circ$, около $31,2^\circ$ и около $32,8^\circ$.

13. Соль по любому из пп. 1-7, имеющая дифрактограмму ПРД практически такую же, как показано на фиг. 3.

14. Фармацевтическая композиция, содержащая соль по любому из пп. 1-13 и фармацевтически приемлемый носитель.

15. Способ ингибирования активности киназы PI3K, включающий приведение киназы в контакт с солью по любому из пп. 1-13.

16. Способ по п. 15, отличающийся тем, что PI3K представляет собой PI3K δ .

17. Способ по п. 16, отличающийся тем, что указанная соль представляет собой селективный ингибитор PI3K δ по сравнению с одной или более из PI3K α , PI3K β или PI3K γ .

18. Способ лечения заболевания у пациента, в котором указанное заболевание связано с аномальной экспрессией или активностью киназы PI3K, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества соли по любому из пп. 1-13.

19. Способ по п. 18, отличающийся тем, что заболевание выбрано из идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ИТП), аутоиммунной гемолитической анемии, васкулита, системной красной волчанки, волчаночного нефрита, пемфигуса, аутоиммунной гемолитической анемии (АГА), мембранозной нефропатии, хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ), неходжкинской лимфомы

(НХЛ), волосатоклеточного лейкоза, лимфомы из клеток мантийной зоны, лимфомы Беркитта, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфоплазмоцитарной лимфомы, экстранодальной лимфомы из клеток маргинальной зоны, лимфомы Ходжкина, макроглобулинемии Вальденстрема, пролимфоцитарного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, миелофиброза, лимфомы, возникающей из лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистыми оболочками (MALT), В-клеточной лимфомы, медиастинальной (тимической) В-крупноклеточной лимфомы, лимфогранулематоза, лимфомы из клеток маргинальной зоны селезенки, первичной выпотной лимфомы, внутрисосудистой В-крупноклеточной лимфомы, плазмноклеточного лейкоза, экстрамедуллярной плазмацитомы, тлеющей миеломы (также называемой бессимптомной миеломой), моноклональной гаммапатии неопределенного значения (МГНЗ) и В-клеточной лимфомы.

20. Способ по п. 19, отличающийся тем, что представляет собой способ лечения идиопатической тромбоцитопенической пурпуры (ИТП), выбранной из рецидивирующей ИТП и рефрактерной ИТП.

21. Способ по п. 19, отличающийся тем, что представляет собой способ лечения васкулита, выбранного из болезни Бехчета, синдрома Когана, гигантоклеточного артериита, ревматической полимиалгии (РП), артериита Такаясу, болезни Бюргера (облитерирующего тромбангиита), васкулита центральной нервной системы, болезни Кавасаки, нодозного полиартериита, синдрома Чарга-Стросса, смешанного криоглобулинемического васкулита (эссенциального или вызванного вирусом гепатита С (ВГС)), пурпуры Шенлейна-Геноха (ПШГ), лейкоцитокластического васкулита, микроскопического полиангиита, гранулематоза Вегенера и ассоциированного с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (АНЦА) системного васкулита (ААСВ).

22. Способ по п. 19, отличающийся тем, что представляет собой способ лечения неходжкинской лимфомы (НХЛ), выбранной из рецидивирующей НХЛ, рефрактерной НХЛ и вторичной фолликулярной НХЛ.

23. Способ по п. 19, отличающийся тем, что представляет собой способ лечения В-клеточной лимфомы, причем указанная В-

клеточная лимфома представляет собой диффузную В-крупноклеточную лимфому (ДВККЛ).

24. Способ по п. 19, отличающийся тем, что представляет собой способ лечения В-клеточной лимфомы, причем указанная В-клеточная лимфома представляет собой диффузную В-крупноклеточную лимфому из клеток, подобных активированным В-клеткам (АВК), или диффузную В-крупноклеточную лимфому из В-клеток зародышевого центра (ЗЦВ).

25. Способ по п. 18, отличающийся тем, что указанное заболевание представляет собой остеоартрит, рестеноз, атеросклероз, поражения костей, артрит, диабетическую ретинопатию, псориаз, доброкачественную гипертрофию предстательной железы, воспаление, ангиогенез, панкреатит, заболевание почек, воспалительное заболевание кишечника, миастению гравис, рассеянный склероз или синдром Шегрена.

26. Способ по п. 18, отличающийся тем, что указанное заболевание представляет собой ревматоидный артрит, аллергию, астму, гломерулонефрит, волчанку или воспаление, связанное с любым заболеванием из вышеперечисленных.

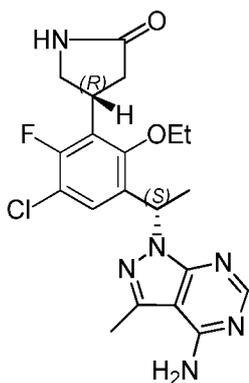
27. Способ по п. 26, отличающийся тем, что волчанка представляет собой системную красную волчанку или волчаночный нефрит.

28. Способ по п. 18, отличающийся тем, что указанное заболевание представляет собой рак молочной железы, рак предстательной железы, рак толстой кишки, рак эндометрия, рак мозга, рак мочевого пузыря, рак кожи, рак матки, рак яичника, рак легкого, рак поджелудочной железы, рак почки, рак желудка или гемобластоз.

29. Способ по п. 28, отличающийся тем, что указанный гемобластоз представляет собой острый миелобластный лейкоз или хронический миелоидный лейкоз.

30. Способ по п. 18, отличающийся тем, что указанное заболевание представляет собой острое повреждение легких (ОПЛ) или острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) у взрослых.

31. Способ получения соли по любому из пп. 1-13, включающий приведение соединения формулы I:



I

в контакт с соляной кислотой с получением указанной соли.

32. Способ по п. 31, отличающийся тем, что указанная соляная кислота представляет собой 1 М водный раствор соляной кислоты.

33. Способ по п. 31 или 32, отличающийся тем, что на 1 эквивалент соединения формулы **I** используют от около 3,3 до около 3,7 эквивалента соляной кислоты.

34. Способ по любому из пп. 31-33, отличающийся тем, что указанное приведение в контакт осуществляют при температуре от около 45°C до около 55 °C.

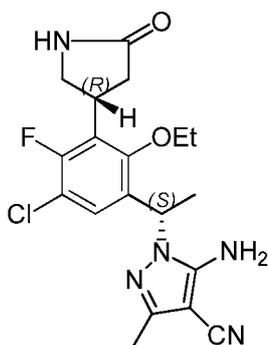
35. Способ по любому из пп. 31-33, отличающийся тем, что способ включает:

добавление к соединению формулы **I** при комнатной температуре соляной кислоты с образованием взвеси;

нагревание указанной взвеси до температуры от около 45°C до около 55°C с образованием раствора; и

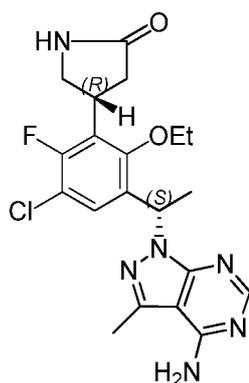
охлаждение раствора до температуры от около 0°C до около 5°C для кристаллизации указанной соли.

36. Способ, включающий приведение соединения формулы **XVI**:



XVI

в контакт с ацетатом формамидина с получением соединения формулы **I**:



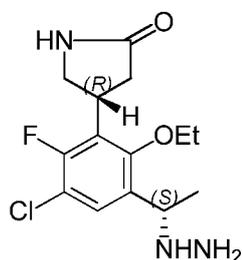
I.

37. Способ по п. 36, отличающийся тем, что указанное приведение в контакт соединения формулы **XVI** с ацетатом формамидина осуществляют в компоненте растворителя, содержащем 1,2-этанediол.

38. Способ по п. 36 или 37, отличающийся тем, что указанное приведение в контакт соединения формулы **XVI** с ацетатом формамидина осуществляют при температуре от около 100°C до около 105 °C.

39. Способ по любому из пп. 36-38, отличающийся тем, что на 1 эквивалент соединения формулы **XVI** используют от около 8 до около 10 эквивалентов ацетата формамидина.

40. Способ по любому из пп. 36-39, дополнительно включающий получение соединения формулы **XVI** с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **XV**:



XV

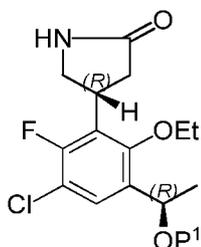
с (1-этоксиэтилиден)малоннитрилом в присутствии третичного амина.

41. Способ по п. 40, отличающийся тем, что указанный третичный амин представляет собой *N*-метилпирролидинон.

42. Способ по п. 40 или 41, отличающийся тем, что указанное

приведение в контакт соединения формулы **XV** с (1-этоксиэтилиден)малоннитрилом осуществляют при температуре около комнатной температуры.

43. Способ по любому из пп. 40-42, дополнительно включающий получение соединения формулы **XV** с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **XIV-a**:



XIV-a

с гидразином в присутствии третичного амина, где R^1 представляет собой C_{1-6} алкилсульфонил.

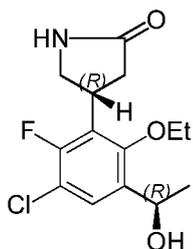
44. Способ по п. 43, отличающийся тем, что указанный третичный амин представляет собой *N*-метилпирролидинон.

45. Способ по п. 43 или 44, отличающийся тем, что указанное приведение в контакт соединения формулы **XIV-a** с гидразином осуществляют при температуре от около 35°C до около 60 °C.

46. Способ по любому из пп. 43-45, отличающийся тем, что указанное приведение в контакт соединения формулы **XIV-a** с гидразином осуществляют в компоненте растворителя, содержащем дихлорметан.

47. Способ по любому из пп. 43-46, отличающийся тем, что R^1 представляет собой метансульфонильную группу.

48. Способ по любому из пп. 43-47, дополнительно включающий получение соединения формулы **XIV** с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **XIII**:



XIII

с C_{1-6} алкилсульфонилгалогенидом в присутствии третичного амина.

49. Способ по п. 48, отличающийся тем, что указанный C₁₋₆ алкилсульфонилгалогенид представляет собой метансульфонилхлорид.

50. Способ по п. 48 или 49, отличающийся тем, что указанный третичный амин представляет собой *N,N*-диизопропилэтиламин.

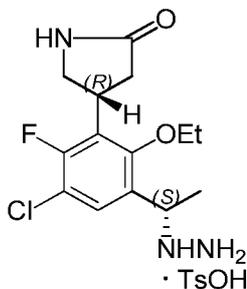
51. Способ по любому из пп. 48-50, отличающийся тем, что на 1 эквивалент соединения формулы **XIII** используют от около 1,1 до около 1,5 эквивалента алкилсульфонилгалогенида.

52. Способ по любому из пп. 48-51, отличающийся тем, что указанное приведение в контакт указанного соединения формулы **XIII** с C₁₋₆ алкилсульфонилгалогенидом осуществляют при температуре от около -10°C до около 5 °C.

53. Способ по любому из пп. 48-52, отличающийся тем, что указанное приведение в контакт указанного соединения формулы **XIII** с C₁₋₆ алкилсульфонилгалогенидом осуществляют в компоненте растворителя, содержащем дихлорметан.

54. Способ по любому из пп. 36-53, отличающийся тем, что стадии, в которых: (i) приводят указанное соединение формулы **XIII** в контакт с C₁₋₆ алкилсульфонилгалогенидом; (ii) приводят указанное соединение формулы **XIV-a** в контакт с гидразином в присутствии третичного амина с образованием соединения формулы **XV**; и (iii) приводят указанное соединение формулы **XV** в контакт с ацетатом формамидина с образованием соединения формулы **XVI**, осуществляют в одном и том же реакторе без выделения соединения формулы **XIV-a** или соединения формулы **XV**.

55. Способ по любому из пп. 36-39, дополнительно включающий получение соединения формулы **XVI** с помощью способа, включающего приведение в контакт соли формулы **XV-a**:



XV-a

с (1-этоксидэтилен)малонитрилом в присутствии третичного амина, где TsOH представляет собой *p*-толуолсульфоновую кислоту.

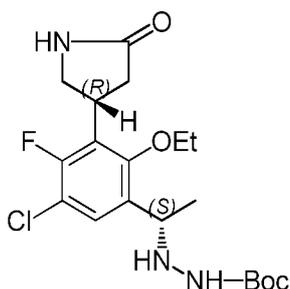
56. Способ по п. 55, отличающийся тем, что указанный третичный амин представляет собой *N,N*-диизопропилэтиламин.

57. Способ по п. 55 или 56, отличающийся тем, что указанное приведение в контакт соли формулы **XV-a** с (1-этоксиэтилиден)малононитрилом осуществляют при температуре около комнатной температуры.

58. Способ по любому из пп. 55-57, отличающийся тем, что на 1 эквивалент соли формулы **XV-a** используют от около 1,3 до около 1,6 эквивалента (1-этоксиэтилиден)малононитрила.

59. Способ по любому из пп. 55-58, отличающийся тем, что указанное приведение в контакт соли формулы **XV-a** с (1-этоксиэтилиден)малононитрилом осуществляют в компоненте растворителя, содержащем этанол.

60. Способ по любому из пп. 55-59, дополнительно включающий получение соли формулы **XV-a** с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **XXI**:



XXI

с *p*-толуолсульфоновой кислотой, где Boc представляет собой трет-бутоксикарбонил.

61. Способ по п. 60, отличающийся тем, что указанная *p*-толуолсульфоновая кислота представляет собой моногидрат *p*-толуолсульфоновой кислоты.

62. Способ по п. 60 или 61, отличающийся тем, что на 1 эквивалент соединения формулы **XXI** используют от около 1,3 до около 1,6 эквивалента *p*-толуолсульфоновой кислоты.

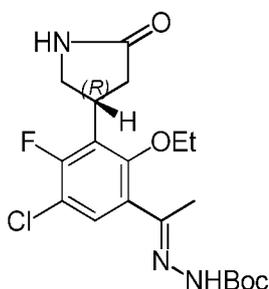
63. Способ по любому из пп. 60-62, отличающийся тем, что указанное приведение в контакт указанного соединения формулы **XXI** с *p*-толуолсульфоновой кислотой осуществляют при температуре от около 45°C до около 65 °C.

64. Способ по любому из пп. 60-63, отличающийся тем, что

приведение в контакт указанного соединения формулы **XXI** с *p*-толуолсульфоновой кислотой осуществляют в компоненте растворителя, содержащем этанол.

65. Способ по любому из пп. 60-64, отличающийся тем, что стадии, в которых: (i) приводят указанное соединение формулы **XXI** в контакт с *p*-толуолсульфоновой кислотой с образованием соли формулы **XV-a**; и (ii) приводят указанную соль формулы **XV-a** в контакт с (1-этоксиэтилиден)малононитрилом, осуществляют в одном и том же реакторе без выделения соли формулы **XV-a**.

66. Способ по любому из пп. 60-65, дополнительно включающий получение соединения формулы **XXI** с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **XX**:



XX

с газообразным водородом в присутствии одного или более независимо выбранных катализаторов гидрирования, где Boc представляет собой *трет*-бутоксикарбонил.

67. Способ по п. 66, отличающийся тем, что указанное приведение в контакт соединения формулы **XX** с газообразным водородом осуществляют в присутствии двух независимо выбранных катализаторов гидрирования.

68. Способ по п. 67, отличающийся тем, что один катализатор гидрирования представляет собой бис(1,5-циклооктадиен)родия(I) тетрафторборат, а другой представляет собой (*R*)-(-)-1-{(*S*)-2-[бис(4-трифторметилфенил)фосфин]ферроценил}этил-ди-*трет*-бутилфосфин.

69. Способ по п. 68, отличающийся тем, что на 1 эквивалент соединения формулы **XX** используют от около 13,5 до около 14,5 эквивалентов бис(1,5-циклооктадиен)родия(I) тетрафторбората.

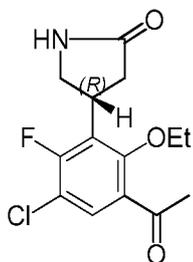
70. Способ по п. 68 или 69, отличающийся тем, что на 1 эквивалент соединения формулы **XX** используют от около 12 до около

трифторметилфенил) фосфин] ферроценил} этил-ди-*трет*-бутилфосфина.

71. Способ по любому из пп. 66-70, отличающийся тем, что указанное приведение в контакт соединения формулы **XX** с газообразным водородом осуществляют при температуре около комнатной температуры.

72. Способ по любому из пп. 66-71, отличающийся тем, что указанное приведение в контакт соединения формулы **XX** с газообразным водородом осуществляют в компоненте растворителя, содержащем метанол.

73. Способ по любому из пп. 66-72, дополнительно включающий получение соединения формулы **XX** с помощью способа, включающего приведение в контакт соединения формулы **XIX**:



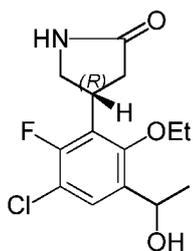
XIX

с *трет*-бутилкарбазатом.

74. Способ по п. 73, отличающийся тем, что указанное приведение в контакт соединения формулы **XIX** с *трет*-бутилкарбазатом осуществляют при температуре от около 60°C до около 70 °C.

75. Способ по п. 73 или 74, отличающийся тем, что указанное приведение в контакт соединения формулы **XIX** с *трет*-бутилкарбазатом осуществляют в компоненте растворителя, содержащем метанол.

76. Способ по любому из пп. 73-75, дополнительно включающий получение соединения формулы **XIX** с помощью способа, включающего окисление соединения формулы **XIII-a**:

**XIII-a**

в присутствии окисляющего агента.

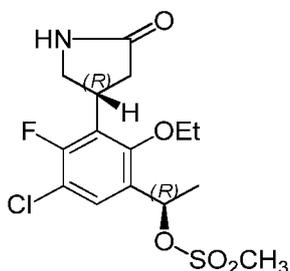
77. Способ по п. 76, отличающийся тем, что указанный окисляющий агент представляет собой периодинан Десса-Мартина.

78. Способ по п. 76 или 77, отличающийся тем, что на 1 эквивалент соединения формулы **XIII-a** используют от около 1,2 до около 1,7 эквивалента указанного окисляющего агента.

79. Способ по любому из пп. 76-78, отличающийся тем, что указанное окисление соединения формулы **XIII-a** осуществляют при температуре около комнатной температуры.

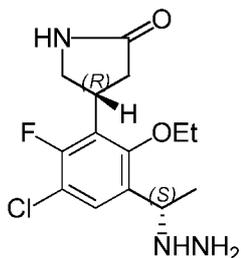
80. Способ по любому из пп. 76-79, отличающийся тем, что указанное окисление соединения формулы **XIII-a** осуществляют в компоненте растворителя, содержащем дихлорметан.

81. Соединение формулы **XIV**:

**XIV**

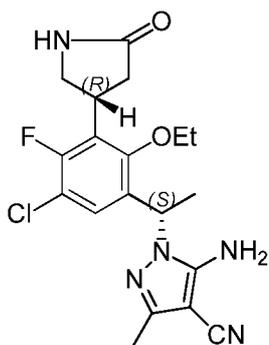
или его фармацевтически приемлемая соль.

82. Соединение формулы **XV**:

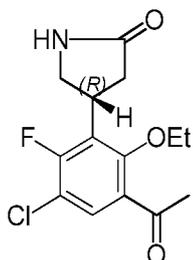
**XV**

или его фармацевтически приемлемая соль.

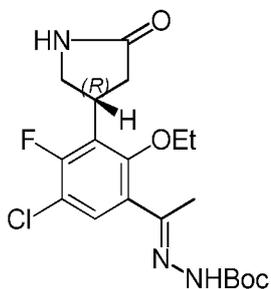
83. Соединение формулы **XVI**:

**XVI**

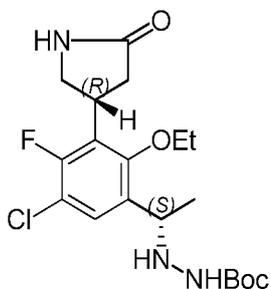
или его фармацевтически приемлемая соль.

84. Соединение формулы **XIX**:**XIX**

или его фармацевтически приемлемая соль.

85. Соединение формулы **XX**:**XX**

или его фармацевтически приемлемая соль.

86. Соединение формулы **XXI**:**XXI**

или его фармацевтически приемлемая соль.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соль, которая представляет собой солянокислую соль (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она.

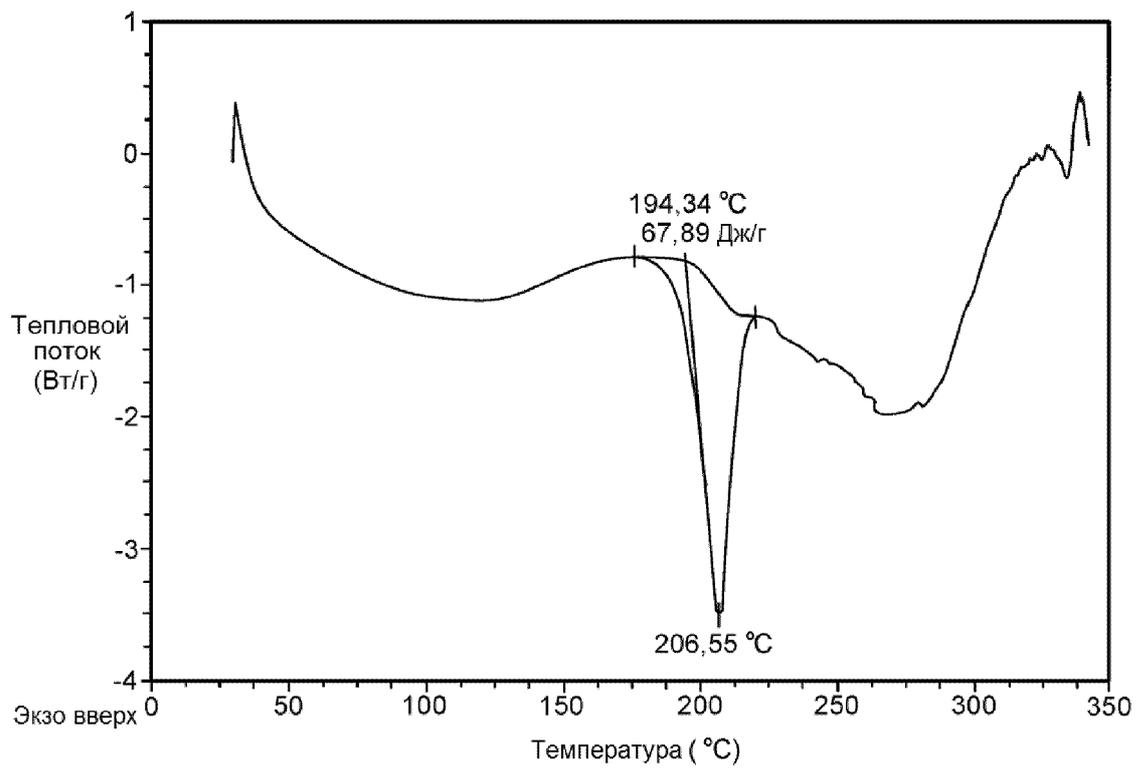
2. Соль по п. 1, которая представляет собой стехиометрическое отношение 1:1 (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она к соляной кислоте.

3. Соль по п. 1 или 2, которая является кристаллической.

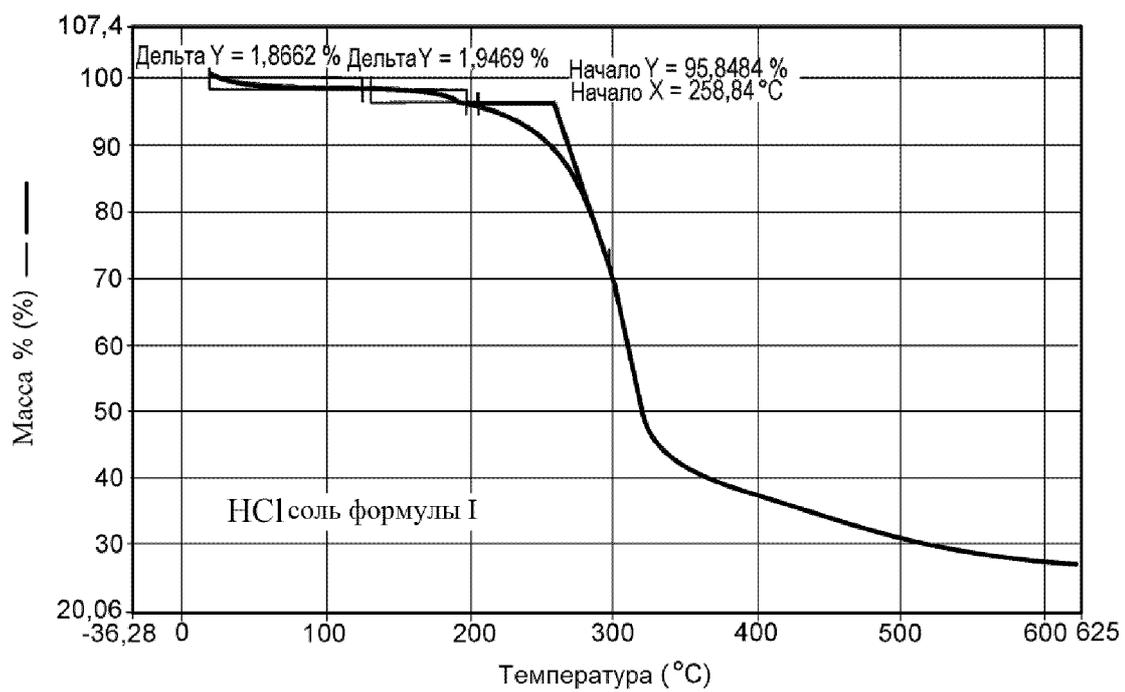
4. Соль по любому из пп. 1-3, которая по существу выделена.

5. Соль по любому из пп. 1-4, которая характеризуется термограммой ДСК, на которой наблюдается эндотермический пик при около 207 °С.

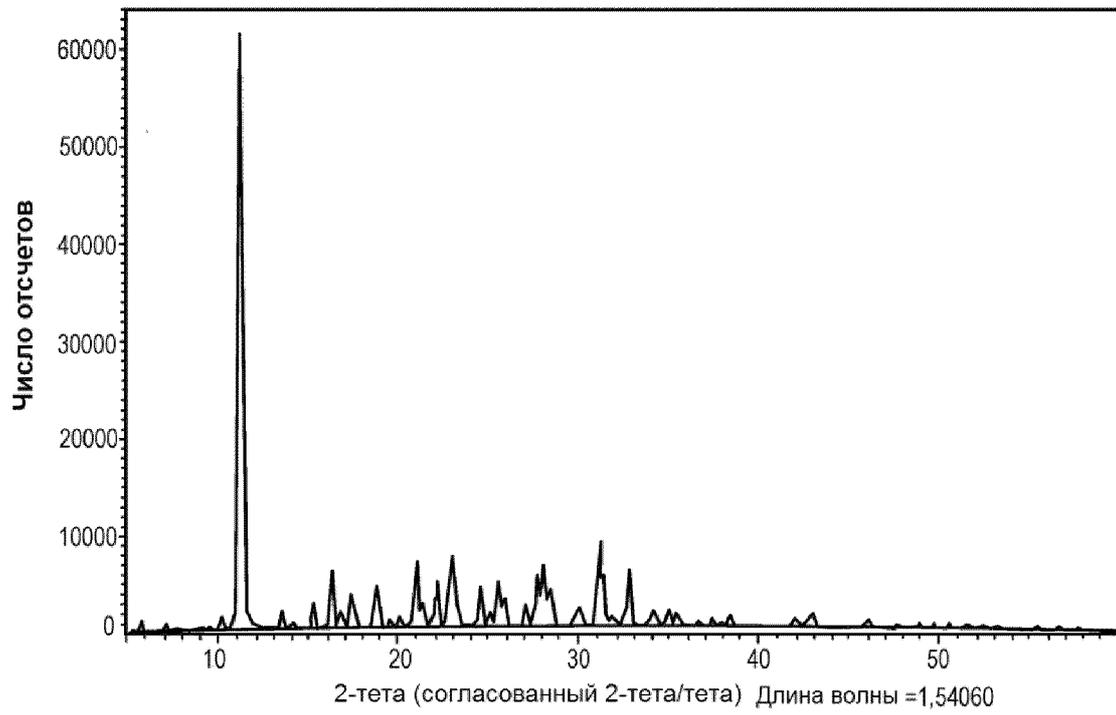
По доверенности



ФИГ. 1



Фиг. 2



Фиг. 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2016/019741

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07D487/04 A61K31/519 A61P35/00 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	US 2014/249132 A1 (LI YUN-LONG [US] ET AL) 4 September 2014 (2014-09-04) page 1, column 1, paragraph 2 page 9, column 1, paragraph 138 page 82, column 1, paragraph 0563 - page 85, column 2, paragraph 579; compounds 345-348 <p style="text-align: center;">-----</p>	1-35 36-86
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family	
Date of the actual completion of the international search 19 July 2016	Date of mailing of the international search report 02/08/2016	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Bissmire, Stewart	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2016/019741

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2016/019741

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2014249132 A1	04-09-2014	AR 094964 A1	09-09-2015
		AU 2014223257 A1	24-09-2015
		CA 2901993 A1	04-09-2014
		CL 2015002442 A1	05-02-2016
		CN 105120871 A	02-12-2015
		CR 20150472 A	04-01-2016
		EA 201591612 A1	31-05-2016
		EP 2961410 A1	06-01-2016
		JP 2016510035 A	04-04-2016
		KR 20150135327 A	02-12-2015
		PH 12015501920 A1	18-01-2016
		SG 11201506654U A	29-09-2015
		TW 201444846 A	01-12-2014
		US 2014249132 A1	04-09-2014
		WO 2014134426 A1	04-09-2014

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-35

The HCl salt of
(R)-4-(3-((S)-1-(4-amino-3-methyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)ethyl)-5-chloro-2-ethoxy-6-fluorophenyl)pyrrolidin-2-one, processes for its production and use

2. claims: 36-86

A process for the preparation of
(R)-4-(3-((S)-1-(4-amino-3-methyl-1H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl)ethyl)-5-chloro-2-ethoxy-6-fluorophenyl)pyrrolidin-2-one and intermediates for use therein
