

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202291483** (13) **A2**

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

(43) Дата публикации заявки
2022.08.31

(22) Дата подачи заявки
2014.03.05

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

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

(31) **61/773,659**

(32) **2013.03.06**

(33) **US**

(62) **201891157; 2014.03.05**

(71) Заявитель:
**ИНСАЙТ ХОЛДИНГС
КОРПОРЕЙШН (US)**

(72) Изобретатель:

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

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к способам и промежуточным соединениям для изготовления {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил, полезными при лечении заболеваний, связанных с активностью киназы Януса (JAK), включая воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания, рак, и других заболеваний.

202291483

A2

A2

202291483

СПОСОБЫ И ПРОМЕЖУТОЧНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ИНГИБИТОРА JAK

Настоящая заявка заявляет приоритет предварительной заявки США № 61/773659, поданной 6 марта 2013 года, которая включена в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

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

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

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

Стимулированные цитокином иммунные и воспалительные ответы способствуют патогенезу заболеваний: патологиям, таким как тяжелый комбинированный иммунодефицит (SCID), которые являются

результатом подавления иммунной системы, в то время как гиперактивная или неадекватная иммунная/воспалительная реакция способствует патологии аутоиммунных заболеваний (например, астма, системная красная волчанка, тиреоидит, миокардит), и болезням, таким как склеродерма и остеоартрит (Ortmann, R. A., T. Cheng, et al.. (2000) *Артрит Res* 2(1): 16-32).

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

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

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

благоприятным для раковых пациентов по причине дополнительного усиления потенциальной противоопухолевой активности.

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

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

JAK1 играет центральную роль в ряде сигнальных путей цитокинов и факторов роста, которые, когда дисрегулированы, могут привести к, или способствуют болезненным состояниям. Например, уровни IL-6 растут при ревматоидном артрите, болезни, в которой, как полагают, это имеет пагубные последствия (Fonesca, J.E. et al., *Autoimmunity Reviews*, 8:538-42, 2009). Поскольку IL-6 передает сигнал, по меньшей мере частично, через JAK1, противодействие IL-6 прямо или опосредованно через ингибирование JAK1, как ожидается, может обеспечить благоприятный клинический эффект (Guschin, D., N., et al *Embo J* 14:1421, 1995; Smolen, J. S., et al. *Lancet* 371:987, 2008). Кроме того, в некоторых видах рака JAK1 в результате мутировал, что привело к нежелательному росту опухолевых клеток и их выживаемости (Mullighan CG, *Proc Natl Acad Sci U S A.*106:9414-8, 2009; Flex E., et al. *J Exp Med.* 205:751-8, 2008). В других аутоиммунных заболеваниях и при раке, увеличивались системные уровни воспалительных цитокинов, которые активируют JAK1, которые также могут способствовать болезни и/или связанным с ними симптомам. Следовательно, пациенты с такими заболеваниями

могут получать пользу от ингибирования JAK1. Селективные ингибиторы JAK1 могут быть эффективными, пока возможно предотвращение ненужных и потенциально нежелательных эффектов ингибирования других киназ JAK.

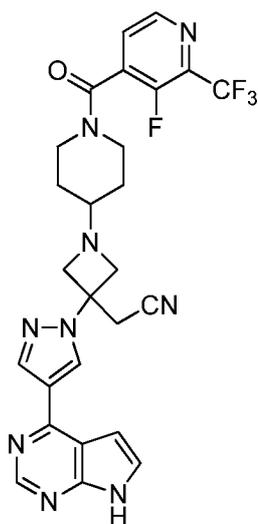
Селективные ингибиторы JAK1, относящиеся к другим киназам JAK, могут иметь несколько терапевтических преимуществ по сравнению с менее селективными ингибиторами. В отношении селективности по отношению к JAK2, ряд важных цитокинов и факторов роста передают сигнал через JAK2, в том числе, например, эритропоэтин (Еро) и тромбопоэтин (Тро) (Parganas E, et al. Cell. 93:385-95, 1998). Еро является ключевым фактором роста для производства красных кровяных телец; следовательно, недостаток Еро -зависимой сигнализации может привести к сокращению числа красных кровяных клеток и анемии (Kaushansky K, NEJM 354:2034-45, 2006). Тро, другой пример JAK2, которая зависит от фактора роста, которая играет центральную роль в контроле пролиферации и созревания мегакариоцитов - клеток, из которых производятся тромбоциты (Kaushansky K, NEJM 354:2034-45, 2006). Таким образом, снижение сигнализации Тро будет уменьшать количество мегакариоцитов (мегакарицитопения) и снижать количество циркулирующих тромбоцитов (тромбоцитопения). Это может привести к нежелательному и/или не поддающемуся контролю кровотечению. Снижение ингибирования других JAK, таких как JAK3 и Тук2, также может быть желательным, так как у людей, не имеющих функциональную версию этих киназ, как было показано, страдают от многочисленных болезней, таких как тяжелый комбинированный иммунодефицит или синдромом гипериммуноглобулина Е (Minegishi, Y, et al. Immunity 25:745-55, 2006; Macchi P, et al. Nature. 377:65-8, 1995). Следовательно, ингибитор JAK1 с пониженной аффинностью к другим JAK будет иметь значительные преимущества по сравнению с менее селективным ингибитором в отношении снижения побочных эффектов, включая подавление иммунитета, анемию и тромбоцитопению.

Благодаря полезности ингибиторов JAK существует необходимость в разработке новых способов получения ингибиторов

ЖАК. Данное изобретение направлено на удовлетворение этой и других потребностей.

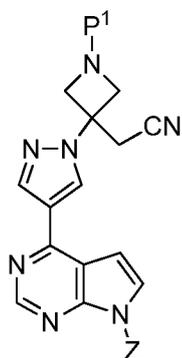
СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Ингибиторы ЖАК описаны в патенте США 2011/0224190, которая включена в данное описание в полном объеме посредством ссылки в, в том числе {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил, который изображен ниже в виде Формулы I.



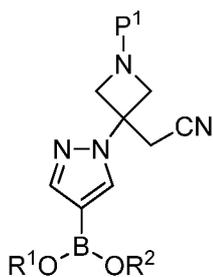
I

В данном изобретении предложены, в частности, способы и промежуточные соединения для получения соединения Формулы I. В частности, настоящее изобретение относится к способам получения соединения Формулы II:



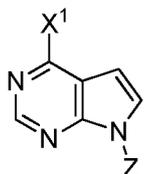
II

включающим приведение в контакт соединение Формулы III:



III

с соединением Формулы IV



IV

в условиях реакции Сузуки с получением соединения Формулы II, где:

Z представляет собой H или защитную группу;

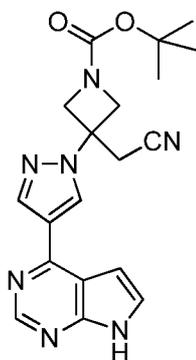
P¹ представляет собой защитную группу;

X¹ представляет собой галоген; и

R¹ и R² каждый независимо представляет собой H или C₁₋₆ алкил; или

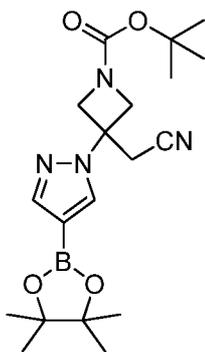
R¹ и R², вместе с двумя атомами кислорода, к которым они присоединены и атомом бора, к которому присоединены атомы кислорода, образуют 5- или 6-членное гетероциклоалкильное кольцо, которое необязательно замещено 1, 2, 3 или 4 C₁₋₄ алкильными группами.

Настоящее изобретение также относится к способам получения соединения Формулы IIa:



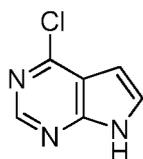
IIa

включающим приведение в контакт соединения Формулы IIIa:



IIIa

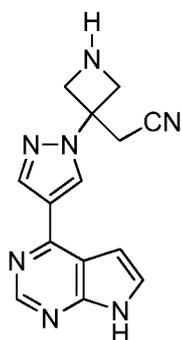
с соединением Формулы IVa:



IVa

в условиях реакции Сузуки с получением соединения Формулы IIa, причем условия реакции Сузуки включают нагревание реакционной смеси, содержащей соединение Формулы IIIa, соединение Формулы IVa, [1,1'-бис(дициклогексилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий (II), фторид цезия, и компонент растворителя, причем компонент растворителя содержит воду и *трет*-бутанол.

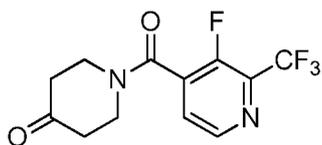
Способ дополнительно включает способ снятия защитных групп с соединения Формулы II или IIa, с получением соединения Формулы V:



V

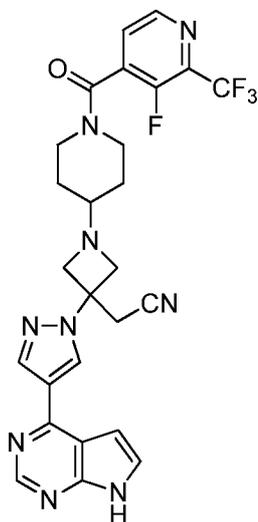
или его соли.

В данном изобретении также предложен способ, дополнительно включающий приведение в контакт соединения Формулы V, или его соли, с соединением Формулы VI:



VI

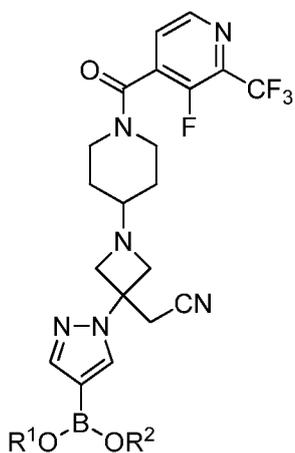
в присутствии восстанавливающего агента с получением соединения Формулы I:



I

или его соли.

В данном изобретении дополнительно предложены соединения Формулы VII:



VII

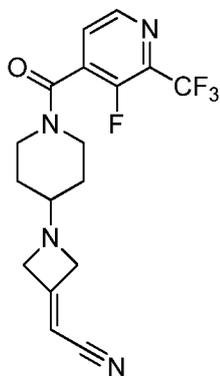
или их соли, где:

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

R^1 и R^2 , вместе с двумя атомами кислорода, к которым они присоединены и атомом бора, к которому присоединены атомы кислорода, образуют 5- или 6-членное гетероциклоалкильное

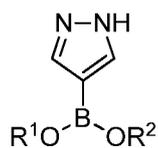
кольцо, которое необязательно замещено 1, 2, 3 или 4 C₁₋₄ алкильными группами.

В данном изобретении дополнительно предложены способы получения соединения Формулы VII, включающие приведение в контакт соединения Формулы VIII:



VIII

с соединением Формулы IX:



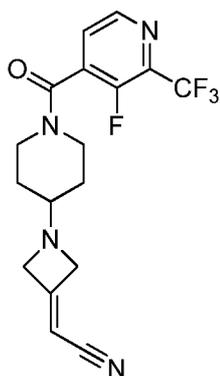
IX

в присутствии связывающего агента с получением соединения Формулы VII; где:

R¹ и R² каждый независимо представляет собой H или C₁₋₆ алкил; или

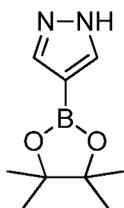
R¹ и R², вместе с двумя атомами кислорода, к которым они присоединены, и атомом бора, к которому присоединены атомы кислорода, образуют 5- или 6-членное гетероциклоалкильное кольцо, которое необязательно замещено 1, 2, 3 или 4 C₁₋₄ алкильными группами.

Настоящее изобретение также относится к способам получения соединения Формулы VIIa, включающим взаимодействие соединения формулы VIII или его соли:



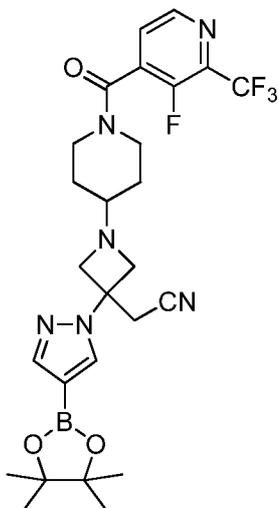
VIII

с соединением Формулы IXa:



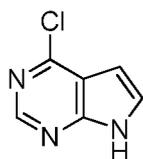
IXa

в присутствии агента связывания с получением соединения Формулы VIIa:



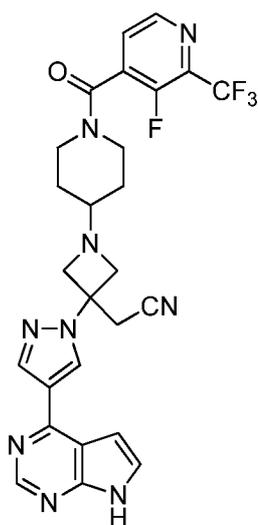
VIIa.

В данном изобретении дополнительно предложены способы получения соединения Формулы I, включающие приведение в контакт соединения Формулы VII или VIIa с соединением Формулы IVa:



IVa

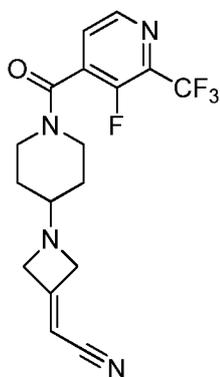
в условиях реакции Сузуки с получением соединения Формулы I:



I,

в котором условия реакции Сузуки включают нагревание реакционной смеси, содержащей соединение Формулы VII или VIIa, соединение Формулы IVa, связывающий катализатор Сузуки, основание и компонент растворителя.

В данном изобретении также предложено соединение Формулы VIII:



VIII

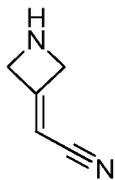
или его соль.

В данном изобретении дополнительно предложены способы получения соединения Формулы VIII или его соли, включающие приведение в контакт соединения Формулы VI:



VI

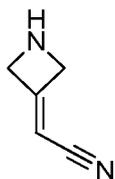
с соединением Формулы X:



X

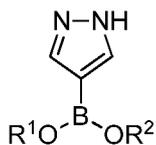
или его солью, в присутствии восстанавливающего агента.

В данном изобретении дополнительно предложены способы получения соединения Формулы III, включающие приведение в контакт соединения Формулы X:



X

или его соли, с соединением Формулы IX:



IX

в присутствии агента связывания с получением соединения формулы III или его соли; где:

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

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

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В различных местах в данном описании, заместители соединений изобретения, описаны в группах или в диапазонах. В частности это подразумевает, что настоящее изобретение включает в себя каждые отдельные подкомбинации указанных членов таких групп и диапазонов. Например, термин " C_{1-6} алкил" специально

предназначен, чтобы описать по отдельности метил, этил, C₃ алкил, C₄ алкил, C₅ алкил, и C₆ алкил.

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

Термин "n-членный", где n является целым числом, обычно описывает количество образующих кольцо атомов в фрагменте, где количество образующих кольцо атомов представляет собой n. Например, пиперидинил представляет собой пример 6-членного кольца гетероциклоалкильного кольца и 1,2,3,4-тетрагидронафталин представляет собой пример 10-членной циклоалкильной группы.

Для соединений по данному изобретению, в котором переменная встречается более одного раза, каждая переменная может быть другим фрагментом, независимо выбранным из группы, определяющей переменную. Например, если описанная структура представляет собой две группы R, которые одновременно присутствуют в одном и том же соединении, эти две группы R могут представлять собой различные фрагменты, независимо выбранные из группы, определенной для R.

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

Как используют в данном документе, термин "алкил", используемый отдельно или в комбинации с другими терминами, относится к насыщенной углеводородной группе, которая может быть линейной или разветвленной цепью. В некоторых вариантах реализации изобретения алкильная группа содержит от 1 до 12, от 1 до 8, или от 1 до 6 атомов углерода. Примеры алкильных фрагментов включают, но не ограничиваются ими, химические группы, такие как метил, этил, n-пропил, изопропил, n-бутил,

трет-бутил, *изобутил*, *втор*-бутил; высшие гомологи такие как 2-метил-1-бутил, *н*-пентил, 3-пентил, *н*-гексил, 1,2,2-триметилпропил, *н*-гептил, *н*-октил, и подобные. В некоторых вариантах реализации изобретения, алкильный фрагмент представляет собой метил, этил, *н*-пропил, *изо*пропил, *н*-бутил, *изобутил*, *трет*-бутил, *н*-пентил, *изопентил*, *неопентил*, *н*-гексил, или 2,4,4-триметилпентил. В некоторых вариантах реализации изобретения алкильный фрагмент представляет собой метил.

Как используют в данном документе, термины "галo" и "галоген", используемые отдельно или в комбинации с другими терминами, относятся к фтор, хлору, бром и йоду. В некоторых вариантах реализации изобретения гало представляет собой хлоро, бром, или йодо. В некоторых вариантах реализации изобретения, галопредставляет собой хлоро.

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

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

Как используют в данном документе термин "приведение в контакт" используют так, как известно в данной области техники и обычно он относится к приведению в контакт реагентов таким образом, чтобы сделать возможным их взаимодействие на молекулярном уровне для достижения химического или физического превращения. В некоторых вариантах реализации изобретения приведение в контакт включает два реагента, причем один или

более эквивалентов второго реагента используют по отношению к первому реагенту. Этапы приведения в контакт способов, описанных в данном документе, могут быть проведены в течение времени и в условиях, подходящих для получения идентифицированного продукта.

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

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

Подходящие растворители могут включать галогенированные растворители, такие как четыреххлористый углерод, бромдихлорметан, дибромхлорметан, бромформ, хлороформ, бромхлорметан, дибромметан, бутил хлорид, дихлорметан, тетрачлорэтилен, трихлорэтилен, 1,1,1-трихлорэтан, 1,1,2-трихлорэтан, 1,1-дихлорэтан, 2-хлорпропан, α,α,α -трифтортолуол,

1,2-дихлорэтан, 1,2-дибромэтана, 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, диметиловый эфир этиленгликоля, диэтиловый эфир этиленгликоля, диметиловый эфир диэтиленгликоля, диэтиловый эфир диэтиленгликоля, диметиловый эфир триэтиленгликоля, анизол, *трет*-бутилметиловый эфир, их смеси и т.п.

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

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

Подходящие углеводородные растворители включают бензол, циклогексан, пентан, гексан, толуол, циклопептан, метилциклогексан, гептан, этилбензол, *м*-, *о*- или *п*-ксилол, октан, индан, нонан, или нафталин.

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

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

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

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

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

Примеры оснований включают гидроксид лития, гидроксид натрия, гидроксид калия, карбонат лития, карбонат натрия, карбонат калия, и бикарбонат натрия. Некоторые примеры сильных оснований включают, но не ограничиваются ими, гидроксид, алкоксиды, амиды металлов, гидриды металлов, диалкиламиды

металлов и ароматические амины, причем; алкоксиды включают соли лития, натрия и калия метил-, этил- и *трет* бутил оксидов; амиды металлов включают амид натрия, амид калия и амид лития; гидриды металлов включают гидрид натрия, гидрид калия и гидрид лития; и диалкиламида металлов включают натриевые и калиевые соли метил-, этил-, *n*-пропил, изопропил, *n*-бутил, *трет*-бутил, триметилсилил и циклогексил замещенных амидов.

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

При получении соединений согласно способам описанных в данном документе, могут быть использованы обычные действия по выделению и очистке, такие как концентрация, фильтрация,

экстракция, твердофазная экстракция, перекристаллизация, хроматография и т.п., чтобы выделить требуемый продукт.

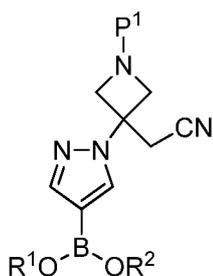
В некоторых вариантах реализации изобретения соединения, описанные в данном документе, и их соли, в существенной степени выделены. Под "в существенной степени выделенный" подразумевают, что соединение по меньшей мере частично или существенно отделено от среды, в которой оно образовано, или обнаружено.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

Способы получения некоторых промежуточных продуктов можно найти в предварительной патентной заявке США № 61/531896, поданной 7 сентября 2011, патентной заявке США № 12/687623, поданной 14 января 2010, и патентной заявке США № 13/043986, поданной 9 марта 2011, каждая из которых включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

СПОСОБЫ И ПРОМЕЖУТОЧНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

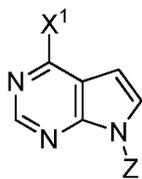
В данном изобретении предложены, в частности, способы и промежуточные соединения для получения соединения Формулы I. Соответственно, в одном аспекте настоящее изобретение относится к способу, включающему:

приведение в контакт соединения Формулы III:



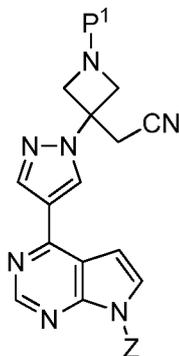
III

с соединением Формулы IV



IV

в условиях реакции Сузуки с получением соединения Формулы II:



II

где:

Z представляет собой H или защитную группу;

P¹ представляет собой защитную группу;

X¹ представляет собой галоген; и

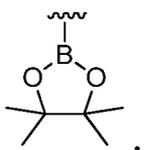
R¹ и R² каждый независимо представляет собой H или C₁₋₆ алкил; или

R¹ и R², вместе с двумя атомами кислорода, к которым они присоединены, и атомом бора, к которому присоединены атомы кислорода, образуют 5- или 6-членный гетероциклоалкильное кольцо, которое необязательно замещено 1, 2, 3 или 4 C₁₋₄ алкильными группами.

В некоторых вариантах реализации изобретения P¹ представляет собой *трет*-бутоксикарбонил. Соответствующие P₁ защитные группы включают, но не ограничиваются ими, защитные группы для аминов описанных в Wuts и Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 4 изд., John Wiley & Sons: New-Jersey, pages 696-887 (и, в частности, pages 872-887) (2007), которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации изобретения P₁ представляет собой бензилоксикарбонил (Cbz), 2,2,2-трихлорэтоксикарбонил (Troc), 2-(триметилсилил)этоксикарбонил (Teoc), 2-(4-

трифторметилфенилсульфонил)этоксикарбонил (Tsc), трет-бутоксикарбонил (BOC), 1-адамантилоксикарбонил (Adoc), 2-адамантилкарбонил (2-Adoc), 2,4-диметилпент-3-илоксикарбонил (Doc), циклогексилоксикарбонил (Hoc), 1,1-диметил-2,2,2-трихлорэтоксикарбонил (TсBOC), винил, 2-хлорэтил, 2-фенилсульфонилэтил, аллил, бензил, 2-нитробензил, 4-нитробензил, дифенил-4-пиридилметил, N',N'-диметилгидразинил, метоксиметил, трет-бутоксиметил (Bum), бензилоксиметил (BOM), или 2-тетрагидропиранил (THP). В некоторых вариантах реализации изобретения, P₁ представляет собой три(C₁₋₄ алкил)силил (например, три(изопропил)силил). В некоторых вариантах реализации изобретения P₁ представляет собой 1,1-диэтоксиметил. В некоторых вариантах реализации изобретения P₁ представляет собой 2-(триметилсилил)этоксиметил (SEM). В некоторых вариантах реализации изобретения P₁ представляет собой N-пивалоилоксиметил (POM).

В некоторых вариантах реализации изобретения $R^1O-B-OR^2$



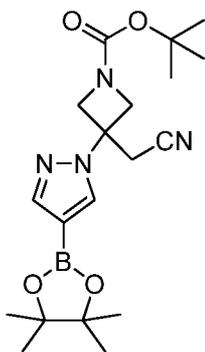
представляет собой .

В некоторых вариантах реализации изобретения R¹ и R² каждый независимо представляет собой метил или этил. В некоторых вариантах реализации изобретения R¹ и R² каждый представляет собой метил. В некоторых вариантах реализации изобретения R¹ и R² каждый представляет собой этил.

В некоторых вариантах реализации изобретения X¹ представляет собой хлор.

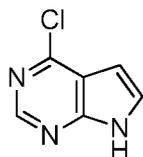
В некоторых вариантах реализации изобретения Z представляет собой H.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение Формулы III имеет Формулу IIIa:



IIIa.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение Формулы IV представляет собой Формулу IVa:



IVa.

В некоторых вариантах реализации изобретения условия реакции Сузуки включают нагревание реакционной смеси, которая содержит соединение Формулы III, соединение Формулы IV, катализатор реакции Сузуки, основания и компонента растворителя.

Реакция Сузуки в способах описанных в данном документе, может быть инициирована с помощью ряда различных известных катализаторов Сузуки, в том числе катализаторов на основе палладия (0) и палладия (II), и проведена в условиях, известных в данной области техники (см., например, Miyaura и Suzuki, *Chem. Rev.* **1995**, *95*, 2457-2483, которая включена в полном объеме в данное описание). В некоторых вариантах реализации изобретения "в присутствии катализатора" может относиться к добавлениям предшественника катализатора, который присутствует в какой-либо другой форме во время реакционного цикла. В некоторых вариантах реализации изобретения палладиевый катализатор представляет собой $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ и $\text{Pd}(\text{dppf})_2\text{Cl}_2$. В некоторых вариантах реализации изобретения катализатор представляет собой [1,1'-бис(дициклогексилфосфино) ферроцен]дихлорпалладий (II). В некоторых вариантах реализации изобретения палладиевый катализатор представляет собой [1,1'-бис(дициклогексилфосфино) ферроцен]дихлорпалладий (II), ("Pd-127"),

тетраakis-(трифенилфосфин)палладий (0), или тетраakis(три(о-толил)фосфин)палладий (0). В некоторых вариантах реализации изобретения палладиевый катализатор представляет собой тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0). В некоторых вариантах реализации изобретения загрузка палладиевого катализатора составляет от около 1×10^{-4} до около 0,1 эквивалентов. В некоторых вариантах реализации изобретения загрузка палладиевого катализатора составляет от около 0,0010 до около 0,0015 эквивалентов.

В некоторых вариантах реализации изобретения основание представляет собой фторид цезия. В некоторых вариантах реализации изобретения фторид цезия присутствует в количестве 3 эквивалентов или более (например, 3,5 эквивалента) в расчете на соединение Формулы IV. В некоторых вариантах реализации изобретения компонент растворителя может включать *трет*-бутанол и воду. В некоторых вариантах реализации изобретения *трет*-бутанол и вода присутствуют в объемном соотношении 1:1.

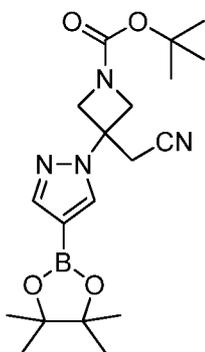
В некоторых вариантах реализации изобретения, соединения Формулы III и IV присутствуют в молярном соотношении около 1:1.

В некоторых вариантах реализации изобретения компонент растворителя содержит воду и органический растворитель. В некоторых вариантах реализации изобретения, органический растворитель представляет собой 1,4-диоксан, 1-бутанол, *трет*-бутанол, 1,2-диметоксиэтан (DME), DMF, 2-пропанол, толуол или этанол, или их комбинации.

В некоторых вариантах реализации изобретения основание представляет собой неорганическое основание. В некоторых вариантах реализации изобретения основание представляет собой органическое основание. В некоторых вариантах реализации изобретения основание представляет собой карбонат щелочного металла (например, K_2CO_3 или Na_2CO_3). В некоторых вариантах реализации изобретения, основание представляет собой карбонат калия (K_2CO_3) или CsF. В некоторых вариантах реализации изобретения применяют от двух до пяти эквивалентов основания (например, K_2CO_3 , CsF).

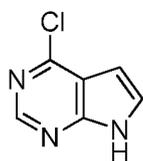
В некоторых вариантах реализации изобретения реакцию Сузуки проводят при температуре от около 80 °С до около 100 °С. В некоторых вариантах реализации изобретения реакцию проводят в течение от двух до двенадцати часов. В некоторых вариантах реализации изобретения соединения Формулы II или IIa могут быть необязательно выделены после водной обработки реакционной смеси реакции Сузуки или использованы непосредственно.

В другом аспекте данное изобретение относится к способам получения соединения Формулы IIa, включающим приведение в контакт соединения Формулы IIIa:



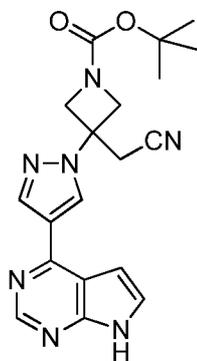
IIIa

с соединением Формулы IVa:



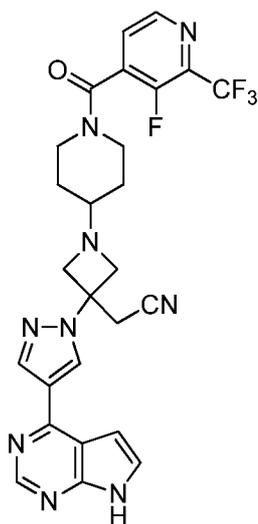
IVa

в условиях реакции Сузуки с образованием соединения Формулы IIa:



IIa,

причем условия реакции Сузуки включают нагревание реакционной смеси, содержащей соединение Формулы IIIa,



I

или его соли.

В некоторых вариантах реализации изобретения восстанавливающий агент представляет собой цианоборгидрид натрия или триацетоксиборгидрид натрия. В некоторых вариантах реализации изобретения восстанавливающий агент представляет собой триацетоксиборгидрид натрия. В некоторых вариантах реализации изобретения, применяют более чем 1 эквивалент (например, 2 эквивалента) триацетоксиборгидрида натрия в расчете на соединение Формулы V.

Восстанавливающим агентом может быть любой восстанавливающий агент, пригодный для использования в восстановительном аминировании, в том числе различные боргидридные и боран-содержащие восстанавливающие агенты, такие, как описанные в Ellen W. Baxter и Allen B. Reitz, Reductive Aminations of Carbonyl Compounds with Borohydride and Borane Reducing Agents, Organic Reactions, Chapter 1, Pages 1-57 (Wiley, 2002), которая включена в полном объеме в данный документ посредством ссылки. Неограничивающие классы подходящих восстановителей включают боргидрид, цианоборгидрид, три(C₁₋₄ ацил) оксиборгидрид (например, производные триацетоксиборгидрида), 9-боробицикло[3.3.1]нонангидрид, три(C₁₋₄ алкильные) боргидрид, и дизопинокампитилцианоборгидридные производные, аминобораны, боран-пиридин, и алкиламинные бораны. Неограничивающие примеры подходящих восстанавливающих агентов включают цианоборгидрид натрия, триацетоксиборгидрид натрия,

циано-9-борбицикло [3.3.1]нонангидрид натрия, цианоборогидрид тетрабутиламмония, цианоборгидрид на твердом носителе, триацетоксиборгидрид тетраметиламмония, триацетоксиборгидрид натрия, триэтилборгидрид лития, три (втор-бутил) боргидрид литий-, дизопинокамптилцианоборгидрид натрий, катехол боран, боран тетрагидрофуран, боргидрид натрия, боргидрид калия, боргидрид лития, палладий в присутствии газообразного водорода, 5-этил-2-метилпиридинборан (PEMB), 2-пиколинборан или полимерном носителе триацетоксиборогидрид. В некоторых вариантах реализации изобретения любой из вышеупомянутых, и, предпочтительно, цианоборгидрид натрия, используют в сочетании с добавкой титана (IV), дегидратирующего агента, или добавки галогенида цинка. В некоторых вариантах реализации изобретения восстанавливающий агент представляет собой тетра (C₁₋₄ алкил) аммиакцианоборгидрид или триацетоксиборгидрид, цианоборгидрид щелочного металла или триацетоксиборгидрид или цианоборгидрид щелочноземельных или триацетоксиборгидрид. В некоторых вариантах реализации изобретения, восстанавливающий агент представляет собой цианоборгидрид щелочного металла. В некоторых вариантах реализации изобретения, восстанавливающий агент выбран из цианоборгидрида натрия и триацетоксиборгидрида натрия. В некоторых вариантах реализации изобретения восстановитель представляет собой триацетоксиборгидрид натрия. Как используется в данном документе, добавка титана (IV) представляет собой кислоту Льюиса, которая содержит титан (IV) (например, тетрахлорид титана, изопропоксид титана, этоксид и т.п.).

В некоторых вариантах реализации изобретения соединение Формулы V, или его соль представляет собой 2-(3-(4-(7H-пирроло [2,3-d] пиримидин-4-ил) -1H-пирозол-1-ил) азетидин-3-ил) ацетонитрилдигидрохлорид. В некоторых вариантах реализации изобретения, приведение в контакт осуществляют в присутствии по меньшей мере двух эквивалентов второго основания. В некоторых вариантах реализации изобретения второе основание представляет собой третичный амин (например, триэтиламин). Как используется в данном документе, "второй" в фразе "второе основание" используют для различения основания от других оснований, используемых на

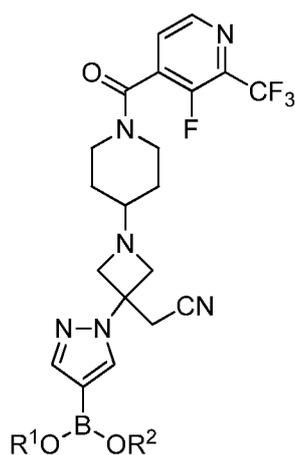
более ранних или более поздних этапах способа и не обозначает, что оба основания должны присутствовать.

В некоторых вариантах реализации изобретения применяют более, чем 1 эквивалент соединения Формулы VI по отношению к соединению Формулы V, или его соли.

В некоторых вариантах реализации изобретения приведение в контакт соединения Формулы V, или его соли с соединением Формулы VI выполняют в растворителе дихлорметане.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ дополнительно включает приведение в контакт соединения Формулы I с адипиновой кислотой с получением соли адипата соединения Формулы I

В другом аспекте, в данном изобретении приведено соединение Формулы VII:



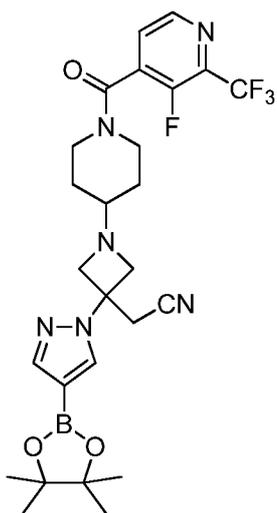
VII

или его соль; где:

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

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

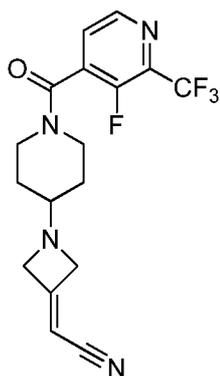
В некоторых вариантах реализации изобретения соединение Формулы VII представляет собой соединение Формулы VIIa:



VIIa

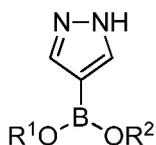
или его соль.

В данном изобретении также приведен способ получения соединения Формулы VII, включающий приведение в контакт соединения Формулы VIII:



VIII

с соединением Формулы IX:



IX

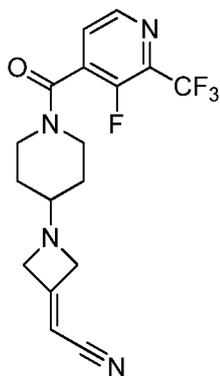
в присутствии агента кросс-сочетания с получением соединения Формулы VII; где:

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

R^1 и R^2 , вместе с двумя атомами кислорода, к которым они присоединены, и атомом бора, к которому присоединены атомы кислорода, образуют 5- или 6-членный гетероциклоалкильное

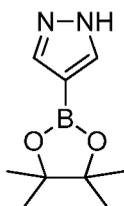
кольцо, которое необязательно замещено 1, 2, 3 или 4 C₁₋₄ алкильными группами.

В некоторых вариантах реализации изобретения способ включает способ получения соединения Формулы VIIa, включающий приведение в контакт соединения Формулы VIII:



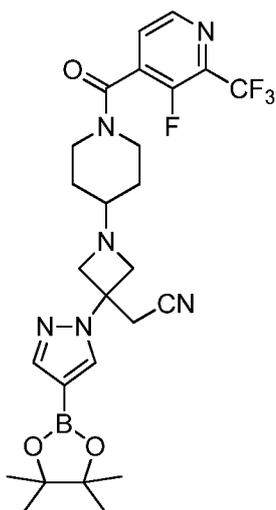
VIII

с соединением Формулы IXa:



IXa

в присутствии агента связывания с получением соединения Формулы VIIa:



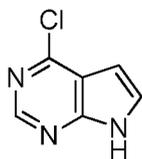
VIIa.

В некоторых вариантах реализации изобретения агент связывания для приведения в контакт соединения Формулы VIII с соединением Формулы IX или соединением Формулы IXa, представляет

собой 1,8-диазабицикло[5,4,0]ундецен. В некоторых вариантах реализации изобретения от около 1,05 до около 1,2 эквивалентов (например, 1,12 эквивалента) связующего агента применяют в расчете на количество соединения Формулы VIII.

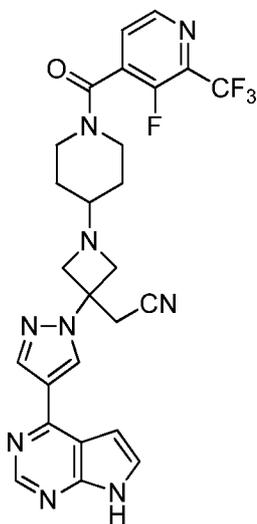
В некоторых вариантах реализации изобретения приведение в контакт соединения Формулы VIII с соединением Формулы IX или IXa проводят в растворителе, который содержит ацетонитрил при температуре от около 40 °С до около 60 °С. В некоторых вариантах реализации изобретения от 1 до 1.2 эквивалентов соединения Формулы IX или IXa применяют в расчете на количество соединения Формулы VIII.

В некоторых вариантах реализации изобретения, соединение Формулы VIIa приводят в контакт с соединением Формулы IVa:



IVa

в условиях реакции Сузуки с образованием соединения Формулы I:



I,

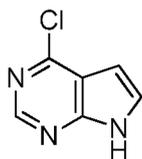
причем условия реакции Сузуки включают нагревание реакционной смеси, содержащей соединение Формулы VIIa, соединение Формулы IVa, катализатор реакции Сузуки, основание и второй компонент растворителя.

В некоторых вариантах реализации изобретения катализатор Сузуки представляет собой тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0). В некоторых вариантах реализации изобретения основание (например, бикарбонат натрия) присутствует в количестве 4 эквивалентов или более (например, 5 эквивалентов) в расчете на количество соединения Формулы VII или VIIa.

В некоторых вариантах реализации изобретения второй компонент растворителя содержит 1,4-диоксан и воду, например, 1:1 в объемном соотношении.

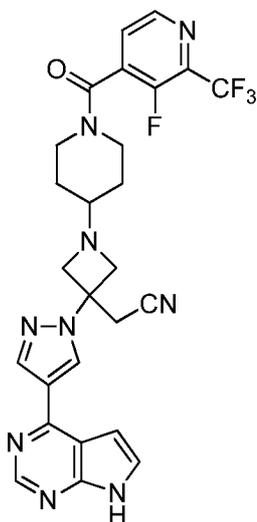
В некоторых вариантах реализации изобретения соединения Формулы VII или VIIa, и IVa, присутствуют в околмолярном соотношении около 1:1.

В некоторых вариантах реализации изобретения соединения Формулы VIIa приводят в контакт с соединением Формулы IVa:



IVa

в условиях реакции Сузуки с получением соединения Формулы I:

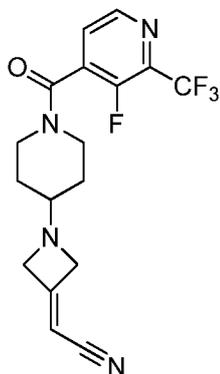


I

причем условия реакции Сузуки включают нагревание реакционной смеси, содержащей соединение Формулы VIIa, соединение Формулы IVa, тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0),

бикарбонат натрия, и второй компонент растворителя, причем второй компонент растворителя содержит воду и 1,4-диоксан.

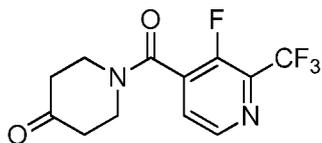
В другом аспекте, в настоящем изобретении также предложено соединение Формулы VIII:



VIII

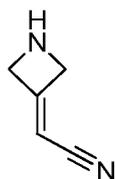
или его соль.

В еще одном аспекте, данное изобретение относится к способу получения соединения Формулы VIII, или его соли, включающему приведение в контакт соединения Формулы VI:



VI

с соединением Формулы X:



X

или его соль, в присутствии восстанавливающего агента.

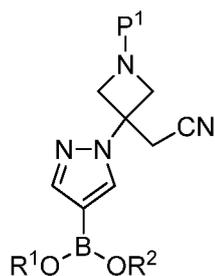
В некоторых вариантах реализации изобретения соединение Формулы X, или его соль, представляет собой 2-(азетидин-3-илиден)ацетонитрил гидрохлорид.

В некоторых вариантах реализации изобретения приведение в контакт соединения Формулы VI и соединения Формулы X, или его соли, проводят в присутствии восстанавливающего агента, такого как цианоборгидрид натрия или триацетоксиборгидрид натрия (например, триацетоксиборгидрид натрия). От около 1,5 до около 2,5 эквивалентов (например, 2 эквивалента) восстановителя

могут быть применены в расчете на количество соединения Формулы X, или его соли.

В некоторых вариантах реализации изобретения приведение в контакт соединения Формулы VI и соединения Формулы X, или его соли, осуществляют в компоненте растворителя, который содержит дихлорметан.

В еще одном аспекте, настоящее изобретение предлагает соединение Формулы III:



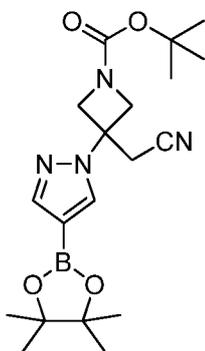
III

или его соли; где:

R¹ и R² каждый независимо представляет собой H или C₁₋₆ алкил; или

R¹ и R², вместе с двумя атомами кислорода, к которым они присоединены, и атомом бора, к которому присоединены атомы кислорода, образуют 5- или 6-членный гетероциклоалкильное кольцо, которое необязательно замещено 1, 2, 3 или 4 C₁₋₄ алкильными группами.

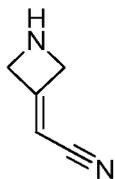
В некоторых вариантах реализации изобретения соединение Формулы III представляет собой соединение Формулы IIIa:



IIIa

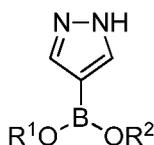
или его соль.

В другом аспекте, В данном изобретение предлагается способ получения соединения Формулы III, включающий приведение в контакт соединения Формулы X:



X

или его соли, с соединением Формулы IX:



IX

в присутствии агента связывания с получением соединения Формулы III, или его соли; где

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

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

В некоторых вариантах реализации изобретения, агент связывания применяемый для приведения в контакт с соединением Формулы X, или его соли, с соединением Формулы IX, представляет собой 1,8-диазабицикло[5,4,0]ундецен. В некоторых вариантах реализации изобретения, от 0,1 до 0,2 эквивалента агента связывания применяют в расчете на количество соединения Формулы X, или его соли.

В некоторых вариантах реализации изобретения приведение в контакт соединения Формулы X, или его соли, с соединением Формулы IX осуществляют в компоненте растворителя, содержащем изопропиловый спирт, например, при температуре от около 70°C до около 90 °C.

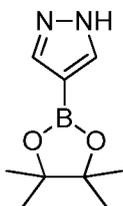
В некоторых вариантах реализации изобретения от 1 до 1.1 эквивалентов соединения Формулы IX применяют в расчете на количество соединения Формулы X, или его соли.

В еще одном аспекте настоящее изобретение предлагает способ получения соединения Формулы IIIa, включающий приведение в контакт соединения Формулы X:



X

с соединением Формулы IXa:



IXa

в присутствии агента связывания с образованием соединения Формулы III.

В некоторых вариантах реализации изобретения агент связывания применяемый в приведении в контакт соединения Формулы X с соединением Формулы IXa представляет собой 1,8-диазабицикло[5,4,0]ундецен. В некоторых вариантах реализации изобретения, от 0.1 до 0.2 эквивалентов агента связывания применяют в расчете на количество соединения Формулы X.

В некоторых вариантах реализации изобретения, приведение в контакт соединения Формулы X с соединением Формулы IXa осуществляют в компоненте растворителя, который содержит изопропиловый спирт, например, при температуре от около 70°C до около 90 °C.

В некоторых вариантах реализации изобретения от 1 до 1.1 эквивалентов соединения Формулы IXa применяют в расчете на количество соединения Формулы X.

Применение

Соединение Формулы I, {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-

пирроло [2, 3-d] пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил] азетидин-3-ил}ацетонитрил, является ингибитором JAK (например, JAK1, JAK2). Ингибиторы JAK применяют при лечении различных JAK-ассоциированных заболеваний или расстройств. Примеры JAK-ассоциированных заболеваний включают заболевания, связанные с иммунной системой, включая, например, отторжения трансплантированного органа (например, отклонение аллотрансплантата и реакция "трансплантат против хозяина"). Дополнительные примеры JAK-ассоциированных заболеваний включают аутоиммунные заболевания, такие как рассеянный склероз, ревматоидный артрит, ювенильный артрит, псориаз, диабет типа I, волчанка, псориаз, воспалительное заболевание кишечника, язвенный колит, болезнь Крона, миастения, нефропатия иммуноглобулинов, миокардит, аутоиммунные заболевания щитовидной железы, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), и тому подобное. В некоторых вариантах реализации изобретения, аутоиммунные заболевания представляют собой буллезные аутоиммунное заболевание кожи такие как пузырчатка обыкновенная (ПО) или буллезный пемфигоид (БП).

Дополнительные примеры JAK-ассоциированных заболеваний включают аллергические состояния, такие как астма, пищевая аллергия, экзематозные дерматиты, контактный дерматит, атопический дерматит (экзема) перемещенный и ринит. Дополнительные примеры JAK-ассоциированных заболеваний включают вирусные заболевания, такие как вирус Эпштейн-Барр (EBV), гепатит В, гепатит С, ВИЧ, HTLV 1, вирус ветряной оспы (ВВО) и вирус папилломы человека (ВПЧ).

Дополнительные примеры JAK-ых заболеваний включают заболевания, связанные с оборотом хряща, например, подагрический артрит, септический или инфекционный артрит, реактивный артрит, рефлекторная симпатическая дистрофия, алгодистрофия, синдром Титце, реберная артропатия, эндемичный деформирующий остеоартроз, болезни Мселени, болезнь Хандигоду, фибромиалгия которая приводит к дегенерации, системная красная волчанка, склеродермия, или анкилозирующий спондилит.

Дополнительные примеры JAK-ассоциированных заболеваний включают врожденные пороки развития хряща, в том числе наследственной хондролиз, хондродисплазии и остеохондродисплазии (например, микротия, анотия и метафиза хондродисплазия).

Дополнительные примеры JAK-ассоциированных заболеваний или паталогических состояний включают кожные заболевания, такие как псориаз (например, псориаза), атопический дерматит, кожная сыпь, раздражение кожи, повышенная чувствительность кожи (например, контактный дерматит или аллергический контактный дерматит). Например, некоторые вещества, включая некоторые лекарственные препараты при местном применении, могут вызвать раздражение кожи. В некоторых вариантах реализации изобретения, одновременное введение или последовательное введение по меньшей мере одного ингибитора JAK в соответствии с данным изобретением с агентом вызывают нежелательную сенсibilизацию, могут быть полезны в лечении такой нежелательной сенсibilизации или дерматита. В некоторых вариантах реализации изобретения, заболевание кожи лечат с помощью местного введения по меньшей мере одного ингибитора JAK по данному изобретению.

Дополнительные примеры JAK-ассоциированных заболеваний или состояний включают такие, которые характеризуются солидными опухолями (например, рак предстательной железы, рак почки, рак печени, рак поджелудочной железы, рак желудка, рак молочной железы, рак легкого, рак головы и шеи, рак щитовидной железы, глиобластомы, саркома Капоши, болезнь Кастлемана, лейомиосаркома матки, меланома и т.д.), гематологический рак (например, лимфома, лейкемия, такая как острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелобластный лейкоз (ОМЛ) или множественная миелома), рак кожи и, например, кожная Т-клеточная лимфома (СТСЛ) и кожная В-клеточная лимфома. Пример СТСЛs включают синдром Сезари и фунгоидный микоз. Другие примеры JAK-ассоциированных заболеваний или состояний включают легочную артериальную гипертензию.

Другие примеры JAK-ассоциированных заболеваний или состояний включают виды рака, ассоциированные с воспалением. В некоторых вариантах реализации изобретения рак ассоциирован с воспалительным заболеванием кишечника. В некоторых вариантах

реализации изобретения воспалительное заболевание кишечника представляет собой язвенный колит. В некоторых вариантах реализации изобретения болезнь воспаленного кишечника представляет собой болезнь Крона. В некоторых вариантах реализации изобретения, рак, ассоциированный с воспалением, представляет собой колит-ассоциированный рак. В некоторых вариантах реализации изобретения, рак, ассоциированный с воспалением, представляет собой рак толстой кишки или колоректальный рак. В некоторых вариантах реализации изобретения рак представляет собой рак желудка, желудочно-кишечную карциноидную опухоль, желудочно-кишечную стромальную опухоль (GIST), аденокарциномы, рак тонкой кишки, или рак прямой кишки.

ЈАК-ассоциированные заболевания могут дополнительно включать заболевания, характеризующиеся экспрессией: ЈАК2 мутантов, таких как те, которые имеют по крайней мере одну мутацию в область псевдо-киназы (например, ЈАК2V617F); ЈАК2 мутантов, обладающих по меньшей мере, одной мутацией вне области псевдо-киназы; ЈАК1 мутанты; ЈАК3 мутантов; мутантов рецепторов эритропоэтина (Еpor); или дисрегулированной экспрессией CRLF2.

ЈАК -ассоциированные заболевания могут дополнительно включать миелопролиферативные расстройства (ПДС), такие как истинная полицитемия (PV), эфирная тромбоцитемия (ЕТ), миелофиброз с миелоидной метаплазией (МММ), первичный миелофиброз (ИМП), хронический миелолейкоз (ХМЛ), хронический миеломоноцитарная лейкемия (ХММЛ), гиперэозинофильный синдром (ГЭК), системный мастоцитоз (SMCD), и тому подобное. В некоторых вариантах реализации изобретения миелопролиферативное расстройство представляет собой миелофиброз (например, первичный миелофиброз (ПМФ) или после истинную полицитемию/основную тромбоцитемию миелофиброз (Post-PV/Post-ET MF)). В некоторых вариантах реализации изобретения миелопролиферативное расстройство представляет собой пост-основную тромбоцитемию миелофиброз (Post-ET MF). В некоторых вариантах реализации изобретения миелопролиферативное расстройство представляет собой пост истинную полицитемию миелофиброз (Post-PV MF).

Другие примеры JАКассоциированныхзаболеваний или паталогических состояний включают облегчение дерматологических побочных эффектов от других лекарственных препаратов путем введения соединения по данному изобретению. Например, многочисленные фармацевтические агенты приводят к нежелательным аллергическим реакциям, которые могут проявляться в виде угревой сыпи или связаны с дерматитом. Примеры фармацевтических агентов, которые имеют такие нежелательные побочные эффекты, включают противораковые препараты, такие как гефитинибом, цетуксимаб, эрлотиниб и тому подобное. Соединения по данному изобретению могут быть введены системно или местно (например, локализованы вблизи дерматита) в сочетании с (например, одновременно или последовательно) фармацевтическим агентом, имеющим нежелательные дерматологические побочные эффекты. В некоторых вариантах реализации изобретения соединения по данному изобретению могут быть введены местно вместе с одним или более, фармацевтическим препаратом, где другие фармацевтические препараты, при систематическом применении в отсутствие соединения по данному изобретению вызывают контактный дерматит, аллергический контактный сенсбилизации или подобным заболевания кожи. Соответственно, композиции по данному изобретению включают настоящие композиции, которые содержат соединения по данному изобретению и дополнительно фармацевтический агент, который может вызвать дерматит, кожные заболевания или имеющих связанные с этим побочные эффекты.

Дополнительно JАК- ассоциированные заболевания включают воспаление и воспалительные заболевания. Пример воспалительного заболеваний включают саркоидоз, воспалительные заболевания глаза (например, ирит, увеит, склерит, конъюнктивит, или похожих заболеваний), воспалительные заболевания дыхательных путей (например, верхних дыхательных путей, включая нос и пазухи, таких как ринит или синусит или нижних дыхательных путей, включая бронхит, хроническую обструктивную болезнь легких, и тому подобное), воспалительная миопатия, такая как миокардит, и других воспалительные заболевания. В некоторых вариантах

реализации изобретения, воспалительные заболевания глаз представляет собой блефарит.

Дополнительно JAK-ассоциированные заболевания включают ишемию реперфузии повреждения или заболевания или состояния, относящуюся к воспалительным ишемическим явлениям, таким как инсульт или остановка сердца, эндотоксин-управляемые болезненные состояния (например, осложнений после операции шунтирования или хронических состояний эндотоксина, способствующих хронической сердечной недостаточности), анорексия, кахексия, усталость, которая является результатом или связанной с раком, рестеноз, склеродермиты, фиброзы, состояния, связанные с гипоксией или астроглиозом, такой как, например, диабетическая ретинопатия, рак, или нейродегенерация и другие воспалительные заболевания, такие как синдром системного воспалительного ответа (ССВО) и септический шок.

Другие JAK- ассоциированные заболевания включают подагру и увеличенный размер простаты из-за, например, доброкачественной гипертрофии предстательной железы или доброкачественной гиперплазии предстательной железы, а также заболевания костной резорбции, таких как остеопороз или остеоартрит, заболевания костной резорбции, связанные с: гормональным дисбалансом и/или гормональной терапией, аутоиммунными заболеваниями (например, костным саркоидозом), или раком (например, миеломой).

Дополнительно JAK- ассоциированные заболевания включают "расстройства сухого глаза". Как используют в данном документе, "расстройство сухого глаза" охватывает болезненные состояния, обобщенные в недавнем официальном докладе о семинаре-практикуме Сухой Глаз (СПСГ), который определил сухой глаз, как "многофакторную болезнь слез и глазной поверхности, что приводит к симптомам дискомфорта, нарушения зрения, и неустойчивости слезоточивой пленки с потенциалом повреждения глазной поверхности. Это сопровождается увеличением осмолярности слезной пленки и воспалением глазной поверхности." Lemp, " The Definition and Classification of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye

Workshop", *The Ocular Surface*, 5(2), 75-92 апрель 2007, который включен в в полном объеме в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации изобретения, расстройство сухого глаза выбран из водного дефицита слез сухого глаза (ВДСГ) или испаряющего расстройства сухого глаза, или соответствующие их комбинации. В некоторых вариантах реализации изобретения расстройство сухого глаза представляет собой синдром Шегреновского сухого глаза (СШСГ). В некоторых вариантах реализации изобретения расстройство сухого глаза представляет собой не-Шегреновский синдром сухого глаза (НСШСГ).

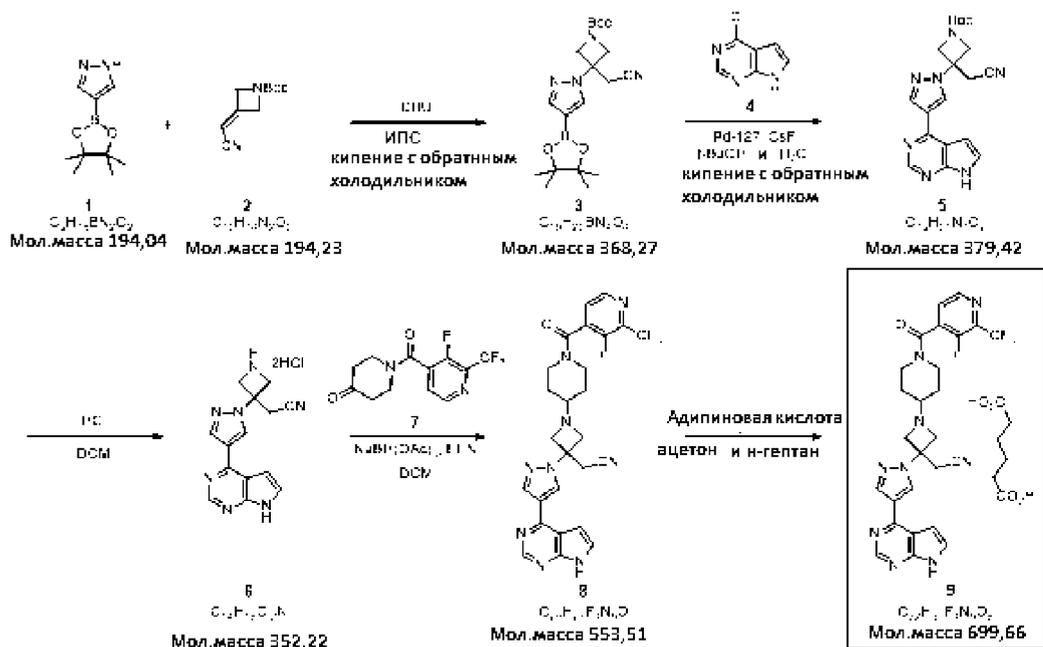
Дополнительно ЯК- ассоциированные заболевания включают конъюнктивит, увеит (в том числе хронический увеит), хориодит, ретинит, циклит, склерит, эписклерит, или ирит. Другие ЯК- ассоциированные заболевания включают дыхательную дисфункцию или отказ, связанные с вирусной инфекцией, например, гриппом и ОРВИ.

Примеры

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

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

Схема



I

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

В 1 л колбу, снабженную впускным отверстием для азота, терморай и механической мешалкой последовательно добавляли изопропанол (ИПС, 200 мл), 1,8-диазобикало[5,4,0]ундецен (ДБУ, 9,8 г, 64,4 ммоль, 0,125 экв), 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол (1, 101 г, 520,51 ммоль, 1,01 экв) и трет-бутил-3-(цианметил)азетидин-1-карбоксилат (2, 100 г, 514,85 ммоль) при комнатной температуре, чтобы генерировать реакционную смесь в виде суспензии. Полученную реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 30 минут с получением гомогенного раствора, и смесь выдерживали при кипячении с обратным холодильником в течение дополнительных 2-3 часов. После того, как реакция была завершена, контроль осуществляли по ВЭЖХ, n-гептан (400 мл) постепенно добавляли к реакционной смеси в течение 45 минут при поддержании кипения смеси с обратным холодильником. Сухой остаток осаждали во время добавления n-гептана. После завершения добавления n-гептана, смесь постепенно охлаждали до комнатной температуры и перемешивали при температуре окружающей среды в течение дополнительного 1 часа. Твердый остаток был собран при

фльтрации, промыт *n*-гептаном (200 мл), и высушен под вакуумом при 50°C с установлением равновесия с азотом до постоянной массы с получением *трет*-бутил-3-(цианометил)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1*H*-пиразол-1-ил)азетидин-1-карбоксилата (**3**, 181 г, 199,9 г теоретический, 90,5%) в виде от белого до бледно-желтого твердого вещества. Для **3**: ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 8,31 (с, 1H), 7,74 (с, 1H), 4,45-4,23 (м, 2H), 4,23-4,03 (м, 2H), 3,56 (с, 2H), 1,38 (с, 9H), 1,25 (с, 12H) м.д.; ¹³C ЯМР (101 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 155,34, 145,50, 135,88, 116,88, 107,08 (уш), 83,15, 79,36, 58,74 (уш), 56,28, 27,96, 26,59, 24,63 м.д.; C₁₉H₂₉BN₄O₄ (Мол.масса 388,27), ВЖМС (EI) *m/e* 389 (M⁺+H).

***трет*-Бутил-3-(4-(7*H*-пирроло [2,3-*d*]пиримидин-4-ил)-1*H*-пиразол-1-ил)-3-(цианметил)-азетидин-1-карбоксилат (**5**)**. В 1 л колбу, снабженную впускным отверстием для азота, термопарой и механической мешалкой добавляли 4-хлоро-7*H*-пирроло [2,3-*d*]пиримидин (**4**, 39,6 г, 257,6 ммоль), *трет*-бутил-3-(цианметил)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1*H*-пиразол-1-ил)азетидин-1-карбоксилат (**3**, 100 г, 257,6 ммоль, 1,0 экв), фторид цезия (136,9 г, 901,4 ммоль, 3,5 экв), *трет*-бутанол (250 мл), воду (250 мл), и [1,1'-бис(дициклогексилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (Pd-127, 351,4 мг, 0,46 ммоль, 0.0018 экв) при комнатной температуре. Полученную реакционную смесь дегазировали и заполняли азотом 3 раза, прежде чем нагрели до температуры кипения и выдерживали при кипении с обратным холодильником в атмосфере азота в течение 20-24 часов. Когда данные ВЭЖХ показали, что реакция завершена, реакционную смесь охлаждали до 45-55°C 30 мин, произошло разделение на две фазы, водную фазу отбрасывали. В органическую фазу добавляли *n*-гептан (125 мл) в течение 30 минут при 45-55°C. Полученную смесь медленно охлаждали до температуры окружающей среды в течение одного часа и перемешивали при температуре окружающей среды в течение дополнительных 2 часов. Твердый остаток собирали фильтрованием, промывали *n*-гептаном (100 мл), и сушили под вакуумом при 50°C с установлением равновесия с азотом

до постоянной массы с получением *трет*-бутил-3-(4-(7*H*-пирроло [2,3-*d*] пиримидин-4-ил)-1*H*-пиразол-1-ил)-3-(цианметил)-азетидин-1-карбоксилата (**5**, 96,8 г, 97,7 г теоретический, 99%) в виде бледно-желтого твердого вещества. Для **5**: ^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 8,89 (с, 1H), 8,68 (с, 1H), 8,44 (с, 1H), 7,60 (д, $J=3,5$ Гц, 1H), 7,06 (д, $J=3,6$ Гц, 1H), 4,62-4,41 (м, 2H), 4,31-4,12 (м, 2H), 3,67 (с, 2H), 1,39 (с, 9H) м.д.; ^{13}C ЯМР (101 МГц, ДМСО- d_6) δ 155,40, 152,60, 150,63, 149,15, 139,76, 129,53, 127,65, 122,25, 116,92, 113,21, 99,71, 79,45, 58,34 (уш), 56,80, 27,99, 26,83 м.д.; $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_7\text{O}_2$ (Мол.масса 379,4), ВЖМС (EI) m/e 380 (M^+H).

2-(3-(4-(7*H*-пирроло [2,3-*d*] пиримидин-4-ил)-1*H*-пиразол-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил дигидрохлорид (6**)**. В 0,5-литровую колбу, снабженную впускным отверстием для азота, термopарой, воронкой дополнительный, и механической мешалкой были добавлены *трет*-бутил-3-(4-(7*H*-пирроло [2,3-*d*] пиримидин-4-ил)-1*H*-пиразол-1-ил)-3-(цианметил)азетидин-1-карбоксилат (**5**, 15 г, 39,5 ммоль), вода (7,5 мл, 416 ммоль) и дихлорметан (75 мл) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при температуре окружающей среды до получения суспензии. К суспензии был добавлен раствор 5 М хлорида водорода (HCl) в изопропанолe (55 мл, 275 ммоль, 7,0 экв) в течение 5 минут. Полученную реакционную смесь нагревали при слабом кипении и выдерживают при кипении в течение 3-4 часов. После того как реакция была завершена, что контролировали с помощью ВЭЖХ, *трет*-бутилметилый эфир (ТВМЕ, 45 мл) добавляли к реакционной суспензии. Смесь постепенно охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще одного часа. Твердый остаток собирали фильтрованием, промывали *трет*-бутилметилый эфиром (ТВМЕ, 45 мл) и сушили под вакуумом при 50°C с установлением равновесия с азотом до постоянной массы с получением дигидрохлоридной соли 2-(3-(4-(7*H*-пирроло [2,3-*d*] пиримидин-4-ил)-1*H*-пиразол-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрила (**6**, 13,6 г, 13,9 г теоретический, 98%) в виде от почти белого до светло-желтого твердого вещества. Для **6**: ^1H ЯМР (400 МГц, D_2O) δ 8,96 (с, 1H), 8,81 (с, 1H), 8,49 (с, 1H), 7,78 (д, $J=3,8$ Гц,

1H), 7,09 (д, $J=3,7$ Гц, 1H), 4,93 (д, $J=12,8$ Гц, 2H), 4,74 (д, $J=12,5$ Гц, 2H), 3,74 (с, 2H) м.д.; ^{13}C ЯМР (101 МГц, D_2O) δ 151,35, 143,75, 143,33, 141,33, 132,03, 131,97, 115,90, 114,54, 113,85, 103,18, 59,72, 54,45 (2C), 27,02 м.д.; $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{N}_7$ ($\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{N}_7$ для свободного основания, масса 279,30), ВЖМС (EI) m/e 280 (M^+H).

2-(3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил (8, Свободное Основание). В 0,5-литровую колбу, снабженную впускным отверстием для азота, термopарой, дополнительной воронкой, и механической мешалкой были добавлены дигидрохлоридная соль 2-(3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил (6, 20 г, 56,78 ммоль), дихлорметан (200 мл) и триэтиламин (TEA, 16,62 мл, 119,2 ммоль, 2,1 экв) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при температуре окружающей среды 30 минут до добавления 1-(3-фтор-2-(трифторметил)-изоизоникотиноил)пиперидин-4-она (7, 17,15 г, 57,91 ммоль, 1,02 экв) к смеси. Затем смесь обрабатывали триацетоксиборгидридом натрия (25,34 г, 113,6 ммоль, 2,0 экв) в течение 5 минут при температуре окружающей среды (ниже 26 °C). Полученную реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды два часа. После того, как реакция была завершена, что контролировали с помощью ВЭЖХ, реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором NaHCO_3 (200 мл). Две фазы разделяли и водную фазу экстрагировали хлористым метиленом (200 мл). Объединенную органическую фазу промывали 4% соевым раствором (100 мл) с последующей заменой растворителя хлористого метилена на ацетон путем перегонки. Полученный раствор желаемого сырого продукта (8) в ацетоне использовали непосредственно для последующего получения соли адипиновой кислоты. Небольшую часть раствора очищали с помощью колоночной хроматографии (SiO_2 , 0-10% MeOH в EtOAc градиентное элюирование) с получением аналитически чистого 2-(3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-

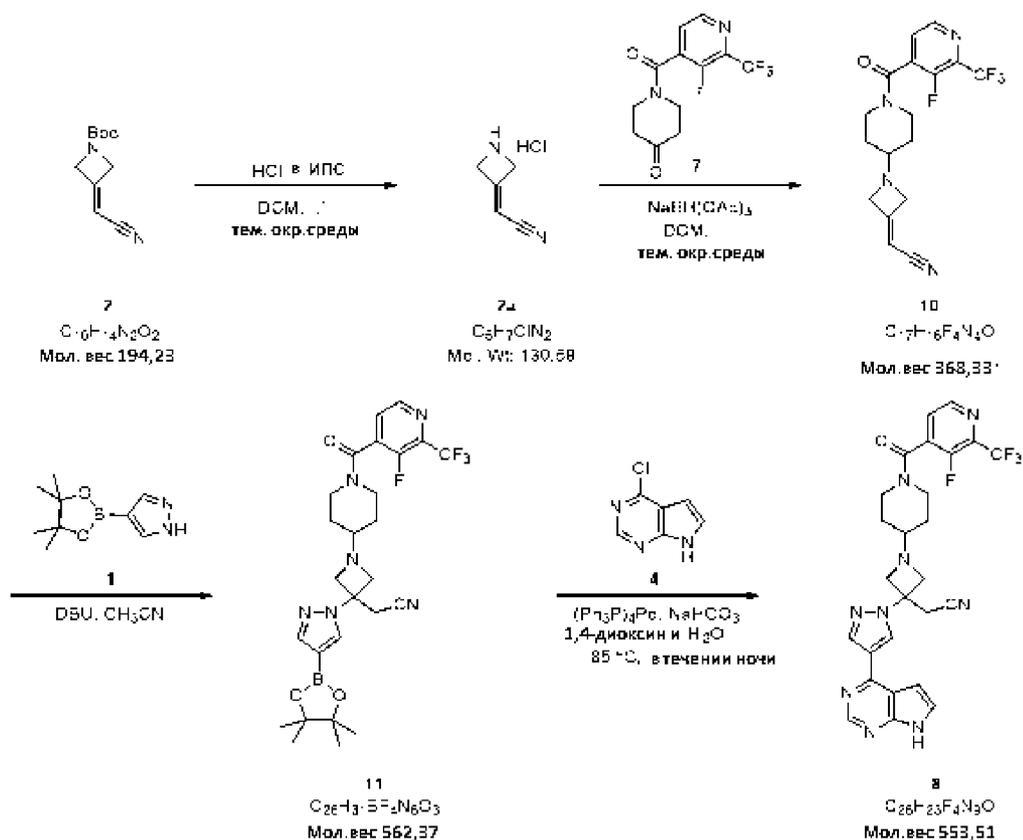
ил) ацетонитрила (**8** свободное основание) в виде почти белого твердого вещества. Для **8**: ^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,17 (д, $J=2,8$ Гц, 1H), 8,85 (с, 1H), 8,70 (м, 2H), 8,45 (с, 1H), 7,93 (т, $J=4,7$ Гц, 1H), 7,63 (дд, $J=3,6, 2,3$ Гц, 1H), 7,09 (дд, $J=3,6, 1,7$ Гц, 1H), 4,10 (м, 1H), 3,78 (д, $J=7,9$ Гц, 2H), 3,61 (т, $J=7,9$ Гц, 1H), 3,58 (с, 2H), 3,46 (м, 1H), 3,28 (т, $J=10,5$ Гц, 1H), 3,09 (ддд, $J=13,2, 9,5, 3,1$ Гц, 1H), 2,58 (м, 1H), 1,83-1,75 (м, 1H), 1,70-1,63 (м, 1H), 1,35-1,21 (м, 2H) м.д.; ^{13}C ЯМР (101 МГц, ДМСО- d_6) δ 160,28, (153,51, 150,86), 152,20, 150,94, 149,62, (146,30, 146,25), 139,48, (134,78, 134,61), (135,04, 134,92, 134,72, 134,60, 134,38, 134,26, 134,03, 133,92), 129,22, 127,62, 126,84, 121,99, 122,04, (124,77, 122,02, 119,19, 116,52), 117,39, 113,00, 99,99, 61,47, 60,49, 57,05, 44,23, 28,62, 27,88, 27,19 м.д.; $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{F}_4\text{N}_9\text{O}$ (Мол.масса 553,51), ВЖМС (EI) m/e 554,1 (M^+H).

2-(3-(4-(7H-пирроло [2,3-d] пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил) изоникотиноил) пиперидин-4-ил) азетидин-3-ил) ацетонитрил адипат (9). В 0,5-литровую колбу, снабженную механической мешалкой, термopарой, капельной воронкой и краном ввода азота, был добавлен раствор неочищенного 2-(3-(4-(7H-пирроло [2,3-d] пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил) изоникотиноил) пиперидин-4-ил) азетидин-3-ил) ацетонитрила (**8** свободное основание, 31,38 г, 56,7 ммоль) в ацетоне (220 мл) и адипиновая кислота (8,7 г, 59,53 ммоль, 1,05 экв) при комнатной температуре. Затем реакционную смесь нагревали с обратным холодильником для получения раствора. *n*-Гептан (220 мл) постепенно добавляли к реакционной смеси при 40-50°C в течение одного часа. Полученную смесь постепенно охлаждали до комнатной температуры в течение одного часа и перемешивали при температуре окружающей среды в течение дополнительных 16 часов. Твердый остаток собирали фильтрованием, промывали *n*-гептаном (2 X 60 мл), и сушили под вакуумом при 50°C с установлением равновесия с азотом до постоянной массы с получением 2-(3-(4-(7H-пирроло [2,3-d] пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил) изоникотиноил) пиперидин-4-

ил) азетидин-3-ил) ацетонитрил адипата (9, 34,0 г, 39,7 г теоретический, 85,6% для двух стадий) в виде от белого до совсем белого твердого вещества. 9: ^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,16 (с, 1H), 12,05 (ушс, 2H), 8,85 (с, 1H), 8,72 (с, 1H), 8,69 (д, $J=4,7$ Гц, 1H), 8,45 (с, 1H), 7,93 (т, $J=4,7$ Гц, 1H), 7,63 (дд, $J=3,6, 2,3$ Гц, 1H), 7,09 (дд, $J=3,6, 1,7$ Гц, 1H), δ 4,11 (дт, $J=11,0, 4,4$ Гц, 1H), 3,77 (д, $J=7,8$ Гц, 2H), 3,60 (т, $J=7,8$ Гц, 2H), 3,58 (с, 2H), 3,44 (дт, $J=14,4, 4,6$ Гц, 1H), 3,28 (т, $J=10,4$ Гц, 1H), 3,09 (ддд, $J=13,2, 9,6, 3,2$ Гц, 1H), 2,58 (тт, $J=8,6, 3,5$ Гц, 1H), 2,28-2,17 (м, 4H), 1,83-1,74 (м, 1H), 1,67 (д, $J=11,0$ Гц, 1H), 1,59-1,46 (м, 4H), 1,37-1,21 (м, 2H) м.д.; ^{13}C ЯМР (101 МГц, ДМСО- d_6) δ 174,38, 160,29, (153,52, 150,87), 152,20, 150,94, 149,63, (146,30, 146,25), 139,48, (134,79, 134,62), (135,08, 134,97, 134,74, 134,62, 134,38, 134,28, 134,04, 133,93), 129,21, 127,62, 126,84, 122,05, (124,75, 122,02, 119,29, 116,54), 117,39, 113,01, 99,99, 61,47, 60,50, 57,06, 44,24, 33,42, 30,70, 28,63, 27,89, 27,20, 24,07 м.д.; $\text{C}_{32}\text{H}_{33}\text{F}_4\text{N}_9\text{O}_5$ (Мол.масса 699,66; $\text{C}_{26}\text{H}_{23}\text{F}_4\text{N}_9\text{O}$ для свободного основания, Мол.масса, 553,51), ВЖМС (EI) m/e 554,0 (M^+H).

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

Схема II



2-(Азетидин-3-илиден) ацетонитрил гидрохлорид (2a). В 0,5-литровую колбу, снабженную впускным отверстием для азота, термопарой и механической мешалкой, были добавлены *трет*-бутил-3-(цианметил)азетидин-1-карбоксилат (**2**, 30 г, 154,46 ммоль) и метиленхлорид (300 мл) при температуре окружающей среды. Затем раствор обрабатывали раствором 5 М хлористого водорода (HCl) в раствора изопропанола (294,2 мл, 1,54 моль, 10 экв) при температуре окружающей среды и полученную реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды 18 часов. После завершения реакции, что определяли с помощью ВЭЖХ, добавляли суспензию *трет*-бутилметилового эфира (ТБМЭ, 150 мл), и смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 2 часов. Твердый остаток собирали фильтрованием, промывали *n*-гептаном (2 X 100 мл), и сушили на фильтровальной воронке при температуре окружающей среды в течение 3 часов для получения 2-(азетидин-3-илиден) ацетонитрил гидрохлорида (**2a**, 13,7 г, 20,2 г теоретический, 67,8%) в виде белого твердого вещества. Для **2a**: ^1H ЯМР (500 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9,99 (с, 2H), 5,94 (п, $J=2,5$ Гц, 1H), 4,85-4,80 (м, 2H), 4,77-4,71 (м, 2H) м.д.; ^{13}C ЯМР (126 МГц,

DMCO- d_6) δ 155,65, 114,54, 94,78, 55,26, 54,63 м.д.; C₅H₇ClN₂ (Мол.масса 130,58; C₅H₆N₂ для свободного основания, Мол.масса 94,11), ВЖМС (EI) m/e 95 (M⁺H).

2-(1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-илиден)ацетонитрил (10). В 0,25 л колбу, снабженную впускным отверстием для азота, термопарой и магнитной мешалкой, были добавлены 2-(азетидин-3-илиден)ацетонитрил гидрохлорид (**2a**, 4,5 г, 34,46 ммоль), 1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-он (**7**, 10 г, 34,46 ммоль, 1,0 экв), и метиленхлорид (100 мл) при температуре окружающей среды и полученную смесь затем обрабатывали триацетоксиборгидридом натрия (14,6 г, 68,93 ммоль, 2,0 экв) при температуре окружающей среды. Реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды два часа перед гашением насыщенным раствором бикарбоната натрия (NaHCO₃) в воде (50 мл). Две фазы разделили и водную фазу экстрагировали дихлорметаном (200 мл). Объединенную органическую фазу промывали водой (50 мл) и насыщенным раствором соли (50 мл) и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного желаемого продукта (**10**), который очищали с помощью колоночной хроматографии (SiO₂, 0-10% этилацетат в гексане при градиентном элюировании) с получением 2-(1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-илиден)ацетонитрила (**10**, 9,5 г, 12,7 г теоретический, 74,8%) в виде белого твердого вещества. Для **10**: ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 8,57 (д, $J=4,7$ Гц, 1H), 7,54 (т, $J=4,6$ Гц, 1H), 5,29 (п, $J=2,4$ Гц, 1H), 4,18-4,08 (м, 1H), 4,08-4,03 (м, 2H), 3,98-3,94 (м, 2H), 3,57-3,39 (м, 2H), 3,17-3,04 (м, 1H), 2,56 (тт, $J=7,4$, 3,5 Гц, 1H), 1,86-1,77 (м, 1H), 1,75-1,64 (м, 1H), 1,54-1,43 (м, 1H), 1,43-1,31 (м, 1H) м.д.; ¹³C ЯМР (101 МГц, CDCl₃) δ 161,34, 160,73, 152,62 (д, $J=269,1$ Гц), 145,75 (д, $J=6,1$ Гц), 136,73 (qd, $J=36,1$, 12,0 Гц), 134,56 (д, $J=16,9$ Гц), 126,89, 120,58 (кв. д., $J=275,0$, 4,9 Гц), 115,11, 92,04, 62,05, 60,57 (2C), 44,47, 39,42, 29,38, 28,47 м.д.; C₁₇H₁₆F₄N₄O (Мол.масса 368,33), ВЖМС (EI) m/e 369 (M⁺⁺H).

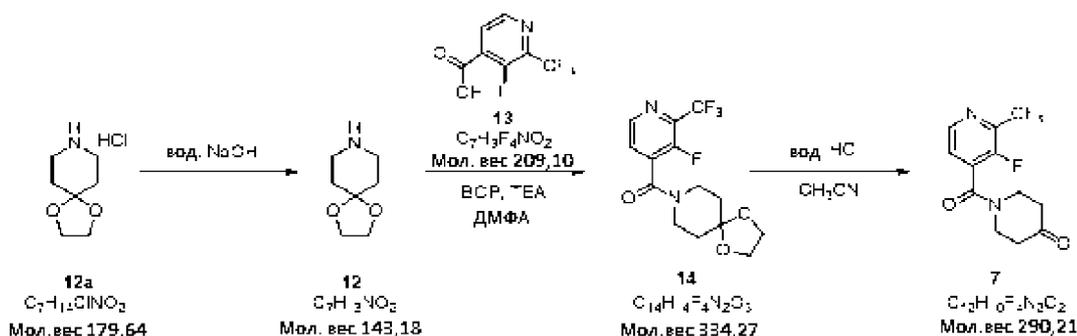
2-(1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил (11). В колбу 25 мл, снабженную впускным отверстием для азота, термopарой и магнитной мешалкой, были добавлены 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол (**1**, 210 мг, 1,08 ммоль, 1,08 экв), 2-(1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-илиден)ацетонитрил (**10**, 370 мг, 1,0 ммоль) и ацетонитрил (3 мл) при температуре окружающей среды. Затем раствор обработали 1,8-диазабицикло[5,4,0]ундец-ен (ДБУ, 173 мг, 0,17 мл, 1,12 ммоль, 1,12 экв) при температуре окружающей среды и полученную реакционную смесь нагревали до 50°C и перемешивали при 50°C в течение ночи. Когда реакция была завершена, что определялось с помощью ВЭЖХ, реакционную смесь перенесли прямо на силикагельную колонку для хроматографического очищения (0-2,5% MeOH в этилацетате градиентное элюирование) с получением 2-(1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрила (**11**, 263 мг, 562,4 мг теоретический, 46,7%) в виде белого твердого вещества. Для **11**: ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,64 (д, J=4,7 Гц, 1H), 8,22 (д, J=0,6 Гц, 1H), 7,88 (дд, J=4,7 Гц, 1H), 7,69 (с, 1H), 4,10-3,99 (м, 1H), 3,58 (д, J=7,8 Гц, 2H), 3,52-3,42 (м, 2H), 3,44 (с, 2H), 3,41-3,33 (м, 1H), 3,28-3,15 (м, 1H), 3,03 (ддд, J=12,9, 9,2, 3,2 Гц, 1H), 2,51-2,44 (м, 1H), 1,77-1,66 (м, 1H), 1,64-1,54 (м, 1H), 1,28-1,17 (м, 2H), 1,24 (с, 12H) м.д.; ¹³C ЯМР (101 МГц, ДМСО-d₆) δ 160,22, 152,13 (д, J=265,8 Гц), 146,23 (д, J=5,7 Гц), 145,12, 135,41, 134,66 (д, J=16,9 Гц), 134,43 (qd, J=35,0, 11,7 Гц), 127,58, 120,61 (qd, J=274,4, 4,6 Гц), 117,35, 106,59 (уш), 83,10, 61,40, 60,53 (2C), 56,49, 44,17, 38,99, 28,55, 27,82, 27,02, 24,63 м.д.; C₂₆H₃₁BF₄N₆O₃ (Мол.масса 562,37), ВЖМС (EI) m/e 563 (M⁺+H).

2-(3-(4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил (8). В колбу 25 мл, снабженную

впускным отверстием для азота, термопарой и магнитной мешалкой, были добавлены 2-(1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)-изоникотиноил)пиперидин-4-ил)-3-(4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1*H*-пиразол-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил (**11**, 307 мг, 0,546 ммоль), 4-хлор-7*H*-пирроло[2,3-*d*]пиримидин (**4**, 84,8 мг, 0,548 ммоль, 1,0 экв), бикарбонат натрия (NaHCO₃, 229 мг, 2,72 ммоль, 5,0 экв), вода (1,6 мл), и 1,4-диоксин (1,6 мл) при комнатной температуре. Смесь затем обрабатывали тетраakis(трифенилфосфин)палладием (0) (12,8 мг, 0,011 ммоль, 0,02 экв) при температуре окружающей среды и полученную реакционную смесь дегазировали и наполняли азотом 3 раза перед нагревом до 85 °С. Реакционная смесь перемешивалась при 85°С в атмосфере азота в течение ночи. Когда реакция была завершена, что определялось с помощью ВЭЖХ, реакционную смесь концентрировали досуха при пониженном давлении и желаемый продукт, 2-(3-(4-(7*H*-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-4-ил)-1*H*-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил (**8** свободное основание, 135 мг, 302,2 мг теоретический, 44,6%), был получен в виде не совсем белого твердого вещества при непосредственном очищении на силикагельной (SiO₂) хроматографической колонке (0-10% этилацетат в гексане градиентное элюирование) высушенной реакционной смеси. Соединение полученное таким способом синтеза идентично во всех сопоставимых аспектах соединению **8**, полученному при применении способа синтеза, описанного выше в Примере 1.

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

Схема III



(3-фтор-2-(трифторметил)пиридин-4-ил) (1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)метанон (14). В 30л реактор, оснащенный механической мешалкой, капельной воронкой и септой, загружали гидроксид натрия (NaOH, 1,4 кг, 35 моль, 2,0 экв) и воду (7 л) и полученный раствор обработали 1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан гидрохлоридом (3,13 кг, 17,43 моль) при температуре окружающей среды. Затем полученную смесь перемешивали при температуре окружающей среды 30 мин перед насыщением твердым хлоридом натрия (1,3 кг) и экстрагировали 2-метил-тетрагидрофураном (3×7 л). Объединенную органическую фазу сушили над безводным сульфатом натрия (Na₂SO₄, 1,3 кг) и концентрируют при пониженном давлении (70 мм рт.ст.) при 50 °С после удаления осушающего реактива, сульфата натрия (Na₂SO₄), фильтрованием. Полученное таким образом желтое масло перегнали при пониженном давлении (80 мм рт.ст., точка кипения от 115 до 120 °С) с получением 1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декана (2,34 кг, 2,496 кг теоретический, 93,8%) в виде прозрачного масла, которое непосредственно применяют в последующей реакции кросс-сочетания.

В сухой 100 л реактор, оснащенный механической мешалкой, капельной воронкой, термометром и вакуумным выпускным отверстием, загружали 3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиновую кислоту (**13**, 3,0 кг, 14,35 моль), бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)фосфония гексафторфосфат (реагент ВОР, 7,6 кг, 17,2 моль, 1,2 экв), 1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан (2,34 кг, 16,36 моль, 1,14 экв) и *N,N*-диметилформамид (ДМФ, 18 л) при комнатной температуре. Полученный раствор перемешивали при температуре окружающей среды в течение 20 мин перед охлаждением от 5 до 10 °С. Затем триэтиламин (Et₃N, 4 л, 28,67 моль, 2,0 экв) добавляли в реакционную смесь в течение 1 часа и внутренняя температура поддерживалась в пределах от 5 °С и 10 °С во время добавления триэтиламина. Полученный таким образом темно-коричневый раствор перемешивали в течение 12 ч при температуре окружающей среды (приблизительно 20 °С) и затем охлаждали до около 10 °С. При интенсивном перемешивании 18 л насыщенного водного раствора бикарбоната натрия (NaHCO₃) и 36 л воды

последовательно добавляли к охлажденной реакционной смеси и выдерживали внутреннюю температуру до 15°C. Осадок (осадок на фильтре), полученный таким образом собирают фильтрацией. Водную фазу затем насыщают 12 кг твердого хлорида натрия (NaCl) и экстрагируют EtOAc (2×18 л). Объединенный органический слой последовательно промывали насыщенным бикарбонатом натрия (NaHCO₃) водным раствором (18 л), и водой (2×18 л). Собранный осадок на фильтре затем растворяли обратно в органической фазе и полученный темно-коричневый раствор промывали водой (2×18 л), а затем концентрировали при пониженном давлении (40–50°C, 30 мм рт.ст.) с получением приблизительно 5,0 кг неочищенного целевого продукта (**14**) в виде вязкого масла коричневого цвета. Неочищенный продукт, полученный выше, затем растворяли в EtOH (8,15 л) при 50 °C и полученный раствор обрабатывали водой (16,3 л) в течение 30 минут при приблизительно 50 °C. Коричневый раствор был отобран, перед тем, как постепенно охлажден до температуры окружающей среды (около 20°C) в течение 3 ч при перемешивании и перемешивали при температуре окружающей среды в течение 12 ч. Твердые вещества собирали фильтрованием, промывали смесью этанола и воды (EtOH: H₂O=1: 20, 2 л) и сушили при пониженном давлении (50 мм рт.ст.) при температуре приблизительно 60 °C в течение 24 ч с получением (3-фтор-2-(трифторметил) пиридин-4-ил) (1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)метанона (**14**, 3,98 кг, 4,797 кг теоретический, 83,0%) в виде белого твердого вещества. Для **14**: ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 8,64 (д, ³J_{HH}=4,68 Гц, 1H, NCH в пиридине), 7,92 (дд, ³J_{HH}=4,68 Гц, ⁴J_{HF}=4,68 Гц, 1H, NCSH в пиридине), 3,87–3,91 (м, 4H, OCH₂CH₂O), 3,70 (уш с, 2H, один протон NCH₂ в пиперидиновом кольце, один протон другого NCH₂ в пиперидиновом кольце, оба в аксиальном положении), 3,26 (т, ³J_{HH}=5,86 Гц, 2H, один протон NCH₂ в пиперидиновом кольце, один протон другого NCH₂ в пиперидиновом кольце, оба в экваториальном положении), 1,67 (д, ³J_{HH}=5,86 Гц, 2H, один протон NCSH₂ в пиперидиновом кольце, один протон другого NCSH₂ в пиперидиновом кольце, оба в экваториальном положении),

1,58 (уш с, 2H, один протон NCCH₂ в пиперидиновом кольце, один протон другого NCCH₂ в пиперидиновом кольце, оба в аксиальном положении) м.д.; ¹³C ЯМР (75 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 161,03 (N-C=O), 151,16 (д, ¹J_{CF}=266,03 Гц, C-F), 146,85 (д, ⁴J_{CF}=4,32 Гц, NCH в пиридине), 135,24 (д, ²J_{CF}=11,51 Гц, C-C=O), 135,02 (квартет, ²J_{CF}=34,57 Гц, NCCF₃), 128,24 (д, ⁴J_{CF}=7,48 Гц, NCCH в пиридине), 119,43 (d × квартет, ¹J_{CF}=274,38 Гц, ³J_{CF}=4,89 Гц, CF₃), 106,74 (OCO), 64,60 (OSSO), 45,34 (NC в пиперидиновом кольце), 39,62 (NC в пиперидиновом кольце), 34,79 (NCC в пиперидиновом кольце), 34,10 (NCC в пиперидиновом кольце) м.д.; ¹⁹F ЯМР (282 МГц, ДМСО-*d*₆) δ -64,69 (д, ⁴J_{FF}=15,85 Гц, F₃C), -129,26 (d × квартет, ⁴J_{FF}=15,85 Гц, ⁴J_{FN}=3,96 Гц, FC) м.д.; C₁₄H₁₄F₄N₂O₃ (Мол.масса, 334,27), ВЖМС (EI) *m/e* 335,1 (M⁺+H).

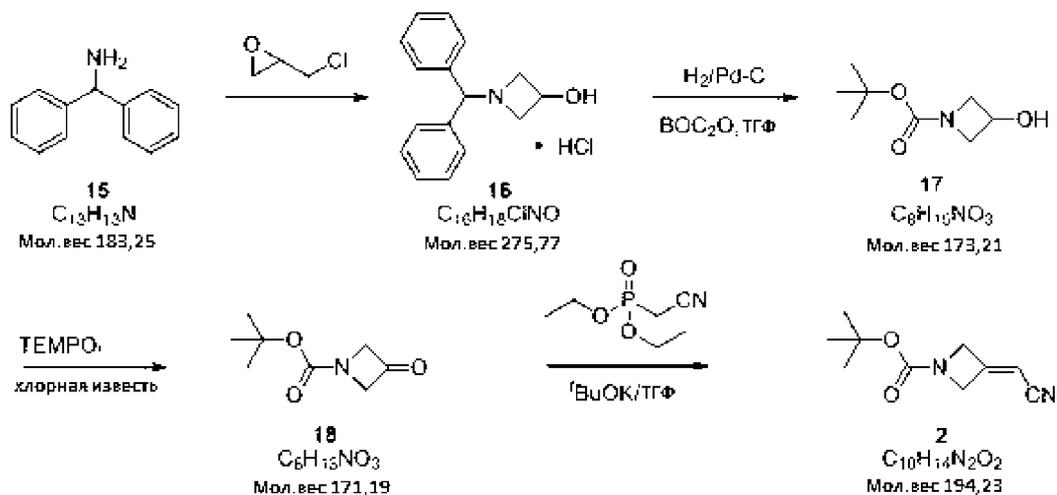
(3-фтор-2-(трифторметил)пиридин-4-ил) (1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)метанон (7). В 5 л 4-горлую круглодонную колбу, снабженную механической мешалкой, термopарой, капельной воронкой и впускным отверстием для азота, загружали (3-фтор-2-(трифторметил)пиридин-4-ил) (1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)метанон (14, 100 г, 0,299 моль) в ацетонитриле (ACN, 400 мл) при температуре окружающей среды. Полученный раствор охлаждали до температуры ниже 10 ° С перед обработкой 6,0 н. водным раствором соляной кислоты (HCl) (450 мл, 2,70 моль, 9,0 экв), а внутренняя температура поддерживалась на уровне ниже 10 ° С. Полученную реакционную смесь затем постепенно нагревали до комнатной температуры и дополнительное количество 6,0 н. водного раствора соляной кислотой (HCl) (1050 мл, 6,30 моль, 21,0 экв) медленно вводили в реакционную смесь при температуре окружающей среды в течение 8 часов через капельную воронку. Когда реакция была завершена, что контролировалось с помощью ВЭЖХ, реакционная смесь затем была охлаждена до 0 °С перед тем, как была обработана 30% водным раствором гидроксида натрия (NaOH, 860 мл, 8,57 ммоль, 28,6 экв) в то время как внутренняя температура поддерживалась на уровне ниже 10 ° С. Полученную реакционную смесь нагревали до комнатной температуры перед добавлением твердого бикарбоната натрия (NaHCO₃, 85,0 г, 1,01 моль, 3,37 экв)

в течение 1 часа. Затем смесь экстрагировали этилацетатом (2×1,2 л) и объединенную органическую фазу промывали 16% водным раствором хлорида натрия (2 × 800 мл) и концентрировали приблизительно до 1,0 л с помощью вакуумной перегонки. *n*-Гептан (2,1 л) был добавлен к остатку, и полученную смесь концентрировали до 1,0 л с помощью вакуумной перегонки. К концентрированной смеси добавили *n*-гептан (2,1 л). Полученную белую суспензию концентрировали до 1,0 л с помощью вакуумной перегонки. В белую суспензию затем добавляли *трет*-бутилметилвый эфир (МТВЭ, 1,94 л). Белый мутный раствор нагревали до 40 ° С, чтобы получить прозрачный. Полученный раствор концентрируют до около 1,0 л с помощью вакуумной перегонки. Смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 1 часа. Белый осадок собирали фильтрованием, промывали *n*-гептаном (400 мл) и сушили на фильтре в атмосфере азота с тяговым вакуумом с получением (3-фтор-2-(трифторметил)пиридин-4-ил) (1,4-диокса-8-азаспиро[4,5]декан-8-ил)метанона (7, 78,3 г, 86,8 г теоретический, 90,2%) в виде не совсем белого твердого вещества.

Для **7**: ^1H ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6) δ 8,68 (д, $^3J_{\text{HH}}=4,69$ Гц, 1H, NCH в пиридине), 7,97 (дд, $^3J_{\text{HH}}=4,69$ Гц, $^4J_{\text{HF}}=4,69$ Гц, 1H, NCCH в пиридине), 3,92 (уш с, 2H, один протон NCH₂ в пиперидиновом кольце, один протон другого NCH₂ в пиперидиновом кольце, оба в аксиальном положении), 3,54 (т, $^3J_{\text{HH}}=6,15$ Гц, 2H, один протон NCH₂ в пиперидиновом кольце, один протон другого NCH₂ в пиперидиновом кольце, оба в экваториальном положении), 2,48 (т, $^3J_{\text{HH}}=6,44$ Гц, 2H, NCCH₂), 2,34 (т, $^3J_{\text{HH}}=6,15$ Гц, 2H, NCCH₂) м.д.; ^{13}C ЯМР (75 МГц, ДМСО- d_6) δ 207,17 (C=O), 161,66 (N-C=O), 151,26 (д, $^1J_{\text{CF}}=266,89$ Гц, C-F), 146,90 (д, $^4J_{\text{CF}}=6,05$ Гц, NCH в пиридине), 135,56 (C-C=O), 134,78 -135,56 (м, NCCF₃), 128,27 (д, $^3J_{\text{CF}}=7,19$ Гц, NCCH в пиридине), 119,52 (дх кватрет, $^1J_{\text{CF}}=274,38$ Гц, $^3J_{\text{CF}}=4,89$ Гц, CF₃), 45,10 (NC в пиперидиновом кольце) м.д., один углерод (NC в пиперидиновом кольце) отсутствует из-за перекрытия с (CD₃)₂SO; ^{19}F ЯМР (282 МГц, ДМСО- d_6) δ -64,58 (д, $^4J_{\text{FF}}=15,85$ Гц, F₃C), -128,90 (д × кватрет, $^4J_{\text{FF}}=15,85$ Гц, $^4J_{\text{FH}}=4,05$ Гц, FC) м.д.; C₁₂H₁₀F₄N₂O₂ (Мол.масса, 290,21), ВЖМС (EI) m/e 291,1 (M⁺+H).

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

Пример IV



1-Бензгидрилазетидин-3-ол гидрохлорид (16). Раствор дифенилметанамина (2737 г, 15,0 моль, 1,04 экв) в метаноле (MeOH, 6 л) обрабатывали 2-(хлорметил)оксираном (1330 г, 14,5 моль) с помощью капельной воронки при температуре окружающей среды. В течение первоначального добавления было замечена небольшая эндотерма. Полученную реакционную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 3 дней, прежде чем нагревали до кипения с обратным холодильником в течение дополнительных 3 дней. Когда ТСХ показала, что реакция считалась завершённой, реакционную смесь сначала охлаждали до комнатной температуры, а затем до 0–5°C на ледяной бане. Твёрдые вещества собирали фильтрованием и промыли ацетоном (4 л) с получением первой порции сырого целевого продукта (1516 г). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и полученное полутвёрдый продукт разбавляли ацетоном (1 л). Затем это твёрдое вещество собирали фильтрованием с получением второй порции сырого целевого продукта (221 г). Неочищенный продукт, 1-бензгидрилазетидин-3-ол гидрохлорид (1737 г, 3998,7 г теоретический выход 43,4%), оказался достаточно чистым для использования без дополнительной очистки в последующей реакции.

1H ЯМР (300 МГц, $DMCO-d_6$) δ 12,28 (уш. д, 1H), 7,7 (м, 5H), 7,49 (м, 5H), 6,38 (д, 1H), 4,72 (уш. с, 1H), 4,46 (м, 1H), 4,12 (м,

2H), 3,85 (m, 2H) м.д.; $C_{16}H_{18}ClNO$ (Мол.масса 275,77; $C_{16}H_{17}NO$ для свободного основания, Мол. масса, 239,31), ВЖМС (EI) m/e 240 (M^+H).

трет-Бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат (17). Суспензию 1-Бензгидрилазетидин-3-ол гидрохлорида (625 г, 2,27 моль) в 10% раствора водного карбоната натрия (Na_2CO_3 , 5 л) и дихлорметана (CH_2Cl_2 , 5 л) перемешивали при температуре окружающей среды до полного растворения всех твердых веществ. Два слоя были разделены, и водный слой экстрагировали дихлорметаном. (CH_2Cl_2 , 2 л). Объединенные органические экстракты сушили над сульфатом натрия (Na_2SO_4) и концентрировали при пониженном давлении. Полученный неочищенное свободное основание 1-бензгидрилазетидин-3-ол затем растворяли в ТГФ (6 л) и раствор помещали в большую бомбу Парра. Ди-трет-бутилдикарбонат (BOC_2O , 545 г, 2,5 моль, 1,1 экв) и 20% палладий (Pd), на углеводе (125 г, 50% влажность) были добавлены в бомбу Парра. В колбу загрузили 30 фунт на кв дюйм газообразного водорода (H_2) и перемешивали при постоянном давлении в атмосфере водорода (сосуд заряжали три раза, чтобы поддерживать давление в 30 фунт на кв дюйм) при температуре окружающей среды в течение 18 ч. Когда ВЭЖХ показала, что реакция прошла полностью (больше водорода не было поглощено), реакционную смесь фильтровали через слой целита и слой целита промывали ТГФ (4 л). Фильтраты концентрировали при пониженном давлении, чтобы удалить растворитель, и остаток загружали на колонку Biotage 150 с минимальным количеством дихлорметана (CH_2Cl_2). Колонку элюировали 20-50% этилацетатом в *n*-гептане и фракции, содержащие чистый искомый продукт, трет-бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат, были собраны и объединены. Растворители удаляли при пониженном давлении с получением трет-бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата (357 г, 393,2 г теоретический выход, 90,8%) в виде бесцветного масла, которое затвердевало при стоянии при температуре окружающей среды в вакууме. 1H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$), δ 4,56 (m, 1H), 4,13 (m, 2H), 3,81 (m, 2H), 1,43 (s, 9H) м.д.

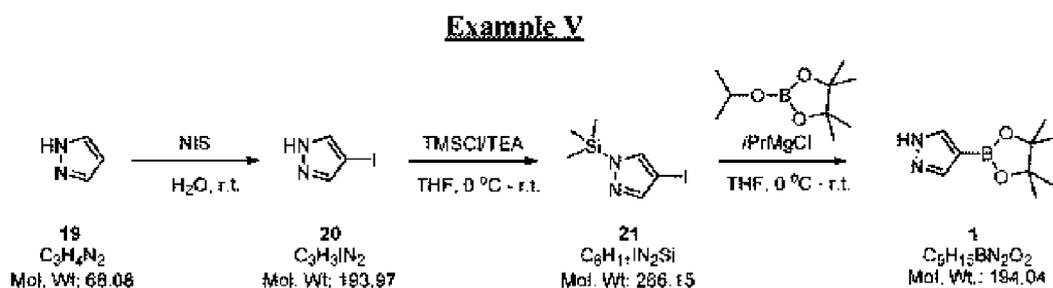
трет-Бутил-3-оксоазетидин-1-карбоксилат (18). Раствор *трет*-бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата (50 г, 289 ммоль) в этилацетате (400 мл) охладили до 0 °С. Полученный раствор затем обрабатывали твердым TEMPO (0,5 г, 3,2 ммоль, 0,011 экв) и раствором бромида калия (KBr, 3,9 г, 33,2 ммоль, 0,115 экв) в воде (60 мл) при 0-5 °С. При поддержании температуры реакции между 0-5°С добавляли насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (NaHCO₃, 450 мл) и водный раствор гипохлорита натрия (NaClO, 10-13% активного хлора, 450 мл). После того, как был добавлен раствор гипохлорита натрия, цвет реакционной смеси мгновенно изменялся. При добавлении дополнительного количества раствора гипохлорита натрия, цвет реакционной смеси постепенно исчез. Когда ТСХ показала, что весь исходный материал был израсходован, цвет реакционной смеси более не изменялся. Реакционную смесь затем разбавляли этилацетатом (EtOAc, 500 мл) и два слоя разделяли. Органический слой промывали водой (500 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (500 мл) и сушили над сульфатом натрия (Na₂SO₄). Затем растворитель удаляли при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, *трет*-бутил-3-оксоазетидин-1-карбоксилата (48 г, 49,47 г теоретический, 97% выход), который оказался достаточно чистым и был использован непосредственно в последующей реакции без дополнительной очистки. ¹H ЯМР (CDCl₃, 300 МГц) δ 4,65 (с, 4H), 1,42 (с, 9H) м.д.

трет-Бутил-3-(цианметил)азетидин-1-карбоксилат (2). Диэтилцианметилфосфат (745 г, 4,20 моль, 1,20 экв) и безводный тетрагидрофуран (ТГФ, 9 л) были добавлены в четырехгорлую колбу, снабженную термopарокарманом, капельной воронкой и защитной трубкой с азотом, при температуре окружающей среды. Раствор охлаждали на ледяной бане с метанолом до - 14°С и 1,0 М раствор *трет*-бутоксидка калия (*t*-BuOK) в безводном тетрагидрофуране (ТГФ, 3,85 л, 3,85 моль, 1,1 экв) добавляли в течение 20 мин, поддерживая температуру реакции ниже - 5 °С. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при - 10°С и раствор 1-*трет*-бутоксикарбонил-3-азетидинона (600 г, 3,50 моль) в

безводном тетрагидрофуране (ТГФ, 2 л) добавляли в течение 2 ч, поддерживая внутреннюю температуру ниже - 5 °С. Реакционная смесь перемешивалась при от - 5 до - 10°С более часа и затем медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивают при температуре окружающей среды целую ночь. Затем реакционную смесь разбавляют водой (4,5 л) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (NaCl, 4,5 л) и экстрагировали этилацетатом (EtOAc, 2×9 л). Объединенные органические слои промывали солевым раствором (6 л) и сушили над безводным сульфатом натрия (Na₂SO₄). Растворитель удаляли при пониженном давлении и остаток разбавляли дихлорметаном (CH₂Cl₂, 4 л) до того, как он абсорбировался на силикагеле (SiO₂, 1,5 кг). Неочищенный продукт, который был абсорбирован силикагелем, очищали колоночной флэш-хроматографией (SiO₂, 3,5 Кг, 0-25% EtOAc/гексан градиентное элюирование), что дало *трет*-бутил-3-(цианметил)азетидин-1-карбоксилат (**2**, 414,7 г, 679,8 г теоретический, 61% выход) в виде белого твердого вещества. Для **2**: ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 5,40 (м, 1H), 4,70 (м, 2H), 4,61 (м, 2H), 1,46 (с, 9H) м.д.; C₁₀H₁₄N₂O₂ (Мол.масса, 194,23), ВЖМС (EI) *m/e* 217 (M⁺+Na).

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

Пример V



4-йодпиразол (20). В колбу, оснащенную впускным отверстием для азота, капельной воронкой, термopарокарманом, и механической мешалкой, загружали пиразол (**1**, 450 г, 6,62 моль) и тетрагидрофуран (ТГФ, 5 л) при температуре окружающей среды. Затем смесь охлаждали до 10°С и добавили *N*-йодсукцинимид (NIS,

1490 г, 6,62 моль, 1,0 экв) к смеси порциями в виде твердого вещества приблизительно при 10 °С. Полученную реакционную смесь затем перемешивали при температуре окружающей среды в течение 1 часа (более длительное время для реакции может быть необходимо в зависимости от температуры окружающей среды). Затем смесь фильтровали и ТГФ удаляли при пониженном давлении. Остаток суспендировали в этилацетате (6 л) и нерастворимые вещества отфильтровывали. Темный фильтрат последовательно промывали насыщенным водным раствором натрия тиосульфата (2×3 л) (органический слой светлел до бледно-желтого), водой (2×3 л) и насыщенным раствором соли (2 л). Полученный органический слой сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением 4-йодпиразола (1138 г, 1284,1 г теоретический, 88,6%) в виде от белого до бледно-желтого твердого вещества после сушки в вакуумной печи при около 30°C в течение ночи. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 13,17 (уш. с, 1H), 7,93 (уш. с, 1H), 7,55 (уш. с., 1H) м.д.; C₃H₃IN₂ (Мол.масса, 193,97) ВЖМС (EI) m/e 195 (M⁺+H).

1-Триметилсилил-4-йодпиразол (21). В колбу, снабженную обратным холодильником, впускным краном для азота, механической мешалкой, и термopарокарманом, загружали 4-йодпиразол (200 г, 1,03 моль) и ТГФ (2 л) при комнатной температуре. К этому раствору был добавлен триэтиламин (ТЭА, 158 мл, 1,13 моль, 1,1 экв) и полученный раствор охлаждали до 0°C на ледяной соляной бане. К этому раствору добавили хлортриметилсилан (ТМС-Cl, 137 мл, 1,08 моль, 1,05 экв) при энергичном перемешивании, позволяя температуре достичь 18 °С. (Реакционная смесь становится очень густой и трудно перемешивается, но со временем становится подвижной). Когда экзотермический процесс спал, холодную баню удаляли и реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. Контроль за ходом реакции осуществляли с помощью ГХ и было обнаружено, что считать завершенной ее можно после около 1 часа (выборка из реакции должна быть сделана без доступа воздуха при разбавлении сухим растворителем, чтобы предотвратить гидролиз ТМС). Реакционную смесь растворили в *n*-гептане (2 л) перед

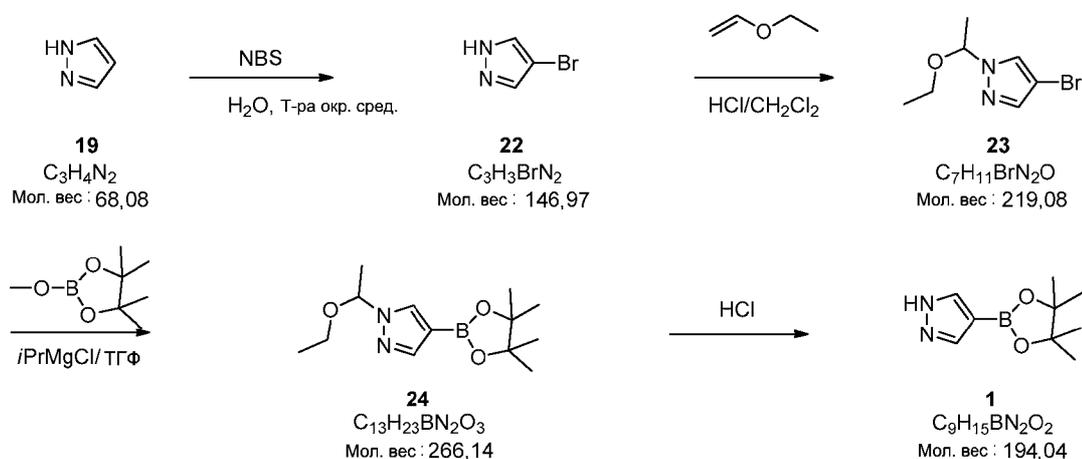
фильтрацией в атмосфере азота. Растворитель удаляли из фильтрата при пониженном давлении вентиляционным роторным испарителем в атмосфере азота. Остаточное масло разбавляли *n*-гептаном (1 л) и повторно концентрировали. Если твердые вещества образовывались при добавлении *n*-гептана, то была необходима вторая фильтрация. Затем остаток перегоняли при пониженном давлении (70–90°C около 0,5 торр) с использованием дистиллятора Кугельрофа, что позволяло получить 1-триметилсилил-4-йод пиразол (263 г, 274,1 г теоретический, 96%) в виде бесцветного масла. Этот материал должен храниться в атмосфере азота в любое время, поскольку ТМС группа быстро гидролизует. Впоследствии было установлено, что 1-триметилсилил-4-йодпиразол может быть получен путем нагревания иодпиразола с 2 эквивалентами гексаметилдисилазана в течение 1 часа.

4-(4,4,5,5-Тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил) -1*H*-пиразол (1). В колбу, снабженную механической мешалкой, впускным краном для азота, капельной воронкой и термопарокарманом, были загружены 1-триметилсилил-4-йодпиразол (225,1 г, 0,85 моль) и ТГФ (2200 мл) при комнатной температуре. Смесь охлаждали около до - 6°C на ледяной солевой бане перед добавлением раствора изопропилмагнийхлорида в тетрагидрофуране (2 М раствор в ТГФ, 510 мл, 1,02 моль, 1,2 экв) добавляли с такой скоростью, что внутренняя температура не превышала 0 °С. Степень обмена металл/галогенконтролировали с помощью ГХ и было найдено, что реакция завершается через около 10 мин. Затем к оранжево-коричневому раствору добавляли 2-изопропокси-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (изопропилпинаколборат, 347 мл, 1,7 моль, 2,0 экв) сначала медленно, поддерживая температуру ниже 0 °С, а затем быстрее после того, как приблизительно половина количества соединения была добавлена, позволяя температуре достичь 5°C (реакционная смесь становится довольно вязкой, а затем разжижается медленно). Затем реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 10 мин, до того она нагревалась до комнатной температуры в течение 1 ч и перемешивали при температуре окружающей среды в течение дополнительного 1 ч. Реакционную

смесь охлаждали приблизительно до 6°C и насыщенный водный раствор хлорида аммония (NH₄Cl, 2,2 л) был добавлен с повышением температуры до 25 °C. Смесь перемешивали в течение 5 минут, после чего разбавляли толуолом (10 л). Слои разделяли (большое количество твердого вещества присутствует в водном слое) и органический слой последовательно промывали водой (6×2,2 л) и насыщенным раствором соли (2×2,2 л), а затем сушили над сульфатом натрия (Na₂SO₄). Осушающий реагент, сульфат натрия (Na₂SO₄), удаляли фильтрованием и раствор концентрировали при пониженном давлении. Остаточный толуол выпаривали совместно с *n*-гептаном с получением 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1*H*-пиразола (**1**, 90,3 г, 164,9 г теоретический, 54,8%) виде белого твердого вещества. Для **1**: ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 13,8 (уш. с, 1H), 7,94 (с, 1H), 7,62 (с, 1H), 1,23 (с, 12H) м.д.; C₉H₁₅BN₂O₂ (Мол.масса, 194.04), ВЖМС (EI) *m/e* 195 (M⁺+H).

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

Схема VI



4-Бромпиразол (22). Пиразол (**19**, 34,0 г, 0,5 моль) и NBS (89,0 г, 0,5 моль, 1,0 экв) были суспендированы в воде (625 мл) при температуре окружающей среды. Полученную суспензию перемешивали при температуре окружающей среды в течение ночи. Затем реакционную смесь экстрагировали EtOAc (2×100 мл). Объединенные экстракты EtOAc промывали водным раствором Na₂S₂O₃ и насыщенным раствором соли, сушили над Na₂SO₄, и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного 4-бромпиразола

(72,0 г, 73,5 г теоретический, выход 98%) в виде белого твердого вещества (чистота по ГХ: >98%), которое непосредственно использовали в последующей реакции без дополнительной очистки.

4-Бром-1-(этоксиэтил)-1H-пиразол (23). К раствору 4-бромпиразола (70,0 г, 0,476 моль) в CH_2Cl_2 (600 мл) был добавлен раствор 3,1 М HCl в диоксане (4 мл) и этилвиниловый эфир (41 г, 0,569 моль, 1,2 экв) при температуре окружающей среды. Полученную реакцию смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 3 часов. Реакционную смесь гасили водным раствором NaHCO_3 и два слоя分离лись. Органический слой промывали водой, сушили над Na_2SO_4 , и концентрировали при пониженном давлении досуха с получением 4-бром-1-(этоксиэтил)-1H-пиразола (113 г, 104,3 г теоретический, 97% выход) в виде масла (чистота по ГХ: 89%), которое непосредственно использовали в последующей реакции без дополнительной очистки.

1-(Этоксиэтил)-4-(4,4,5,5-тетраметил[1,3,2]диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол (24). К 100 мл раствора $i\text{PrMgCl}\cdot\text{LiCl}$ (50 ммоль, 1,8 экв) в ТГФ было добавлено 4-бром-1-(этоксиэтил)-1H-пиразол (6,15 г, 28 ммоль) при температуре окружающей среды. Полученную реакцию смесь перемешивали при температуре окружающей среды 12 часов, затем охлаждали до $-20\text{ }^\circ\text{C}$. Метоксипинаколюрат (10,6 г, 67 ммоль, 2,4 экв) был добавлен к реакционной смеси при $-20\text{ }^\circ\text{C}$. Полученная смесь перемешивалась при $0-10\text{ }^\circ\text{C}$ в течение 1 часа. Водный раствор NH_4Cl был добавлен, чтобы погасить реакцию. Смесь затем экстрагировали петролейным эфиром (ПЭ). Объединенные экстракты ПЭ промывали насыщенным NaHCO_3 , сушили над Na_2SO_4 и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный продукт кристаллизовали из ПЭ с получением 1-(этоксиэтил)-4-(4,4,5,5-тетраметил[1,3,2]диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола (**24**, 4,2 г, 7,45 г теоретический, 56.4% выход) в виде белого желтоватого цвета твердого вещества (чистота ГХ: 99%). Для **24**: ^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц) 8,09 (с, 1H), 8,58 (с, 1H), 7,62 (с, 1H), 5,55 (кв, 1H, $J=6.1$ Гц), 3,37 (уш. кв., 1H, $J=7.1, 9.6$ Гц), 3,12 (уш. кв, 1H, $J=7.0, 9.7$ Гц), 1,56 (д, 3H, $J=6.0$ Гц), 1,24 (с, 12H), 1.00

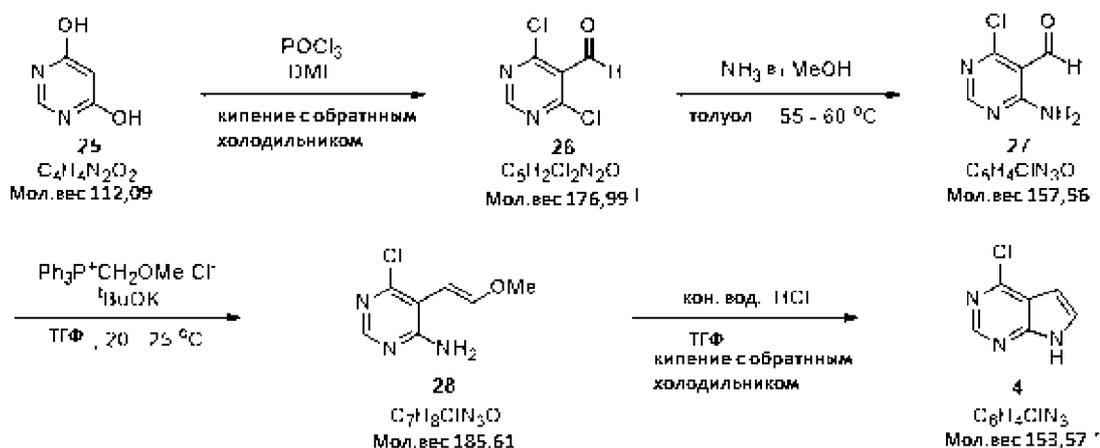
(т, 3Н, $J=7,0$ Гц) м.д.; $C_{13}H_{23}BN_2O_3$ (Мол. масса, 266,14), ВЖМС (EI) m/e 267 (M^+H).

4-(4,4,5,5-Тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил) -1Н-пиразол (1). К смеси 2,3-диметилбутан-2,3-диола (25,0 кг, 211,6 моль) и 1-(1-этоксипил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразола (24, 55,0 кг, 206.7 моль) в 1,2-дихлорэтане (750 кг) был медленно добавлен раствор HCl в МТВЕ (25,0 кг, 20-30% HCl) при 0-5 °С. Полученная реакционная смесь перемешивалась при 10-20°С в течение 3-5 часов. После того, как селективное снятие защиты было завершено, что контролировалось ВЭЖХ (1: ниже 1%), реакционную смесь дегазировали и наполняли азотом, затем охлаждали до - 15 °С. Затем в охлажденную реакционную смесь добавляли триэтиламин (ТЕА, 30,0 кг, 296,5 моль), доводя до рН 7-8. Смесь затем постепенно нагревали до температуры окружающей среды перед тем, как обработать водой (150 кг). Две фазы разделяли и органический слой промывали насыщенным раствором соли (60 кг) и сушили над сульфатом натрия (Na_2SO_4). Осушающий реагент, сульфат натрия (Na_2SO_4), удаляли фильтрованием и полученный раствор концентрировали при пониженном давлении при 40-50°С до густого масла. Остаток нагревали до 60-70°С и разбавляли петролейным эфиром (100 кг) при той же температуре. Полученную смесь затем постепенно охлаждали до комнатной температуры, а затем до - 5°С и перемешивали при той же температуре в течение 3 часов. Твердые вещества собирали центрифугированием и высушивали при 50-60°С под вакуумом с получением неочищенного желаемого продукта (1, 33,75 кг, 40,11 кг теоретический, 84,1%). Затем неочищенный целевой продукт суспендировали в 1,2-дихлорэтане (30 кг) и полученную смесь нагревали с обратным холодильником с получением прозрачного раствора. Затем к горячему раствору добавляли петролейный эфир (150 кг) при той же температуре. Полученную смесь затем постепенно охлаждают до комнатной температуры, а затем до - 5°С и перемешивали при той же температуре в течение 3 часов. Твердые вещества собирали путем центрифугирования и сушили под вакуумом при 50-60°С с получением 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-

диоксаборолан-2-ил) -1H-пиразола (1, 31,0 кг, 40,11 кг теоретический, 77,3%) в виде не совсем белого твердого вещества, которое идентично во всех сопоставимых аспектах материалу, синтезированному при применении способа синтеза, как описано выше в Примере 5.

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

Схема VII



4,6-Дихлорпиримидин-5-карбальдегид (26). В 5 л 4-горлую колбу, оснащенную механической мешалкой, капельной воронкой, конденсатором, термопарой, и N_2 развтки в водный промывной раствор NaOH, загружали и охлаждали на ледяной солевой бане оксихлоридфосфора ($POCl_3$, 1 л, 10,572 моль, 4,82 экв). *N,N*-Диметилформаид (ДМФА, 320 мл, 4,138 моль, 1,85 экв) по каплям добавляли в колбу при 0 ± 2 °C. После добавления приблизительно 100 мл ДМФА в течение около 0,5 ч, кристаллизация произошла, и температура реакции была увеличена от 0 до 10 °C. Добавление прекращали и смесь оставляли для повторного охлаждения приблизительно до 2 °C. Остаточное количество ДМФА добавляли в течение 2,5 ч при температуре ниже 8 °C. Суспензия стала очень густой, затрудняя перемешивание. Когда добавление ДМФА было завершено, смесь перемешивали при 3-5 °C в течение 0,5 ч. 4,6-Дигидроксипиримидин (250 г, 2,232 моль) добавляли порционно в виде твердого вещества. После добавления около одной трети 4,6-дигидроксипиримидина реакционная смесь стала более разжиженной и наблюдался медленный экзотермический процесс с возрастанием температуры реакции приблизительно до 12°C в течение 0.5 ч.

Остаточное количество 4,6-дигидроксипиримидина порциями добавляли в течение 0,25 ч с увеличением температуры реакции от 12 до 27 °С. Температура реакции поддерживалась на уровне 25–27 °С с переменным охлаждением во время которого желтая суспензия становилась более жидкой, а затем вновь густой. После прекращения экзотермического процесса около 1 ч, реакционную смесь медленно нагревали. Около 55 °С реакционная смесь стала очень густой и наблюдался второй умеренный экзотермический процесс. Нагревательная калильная сетка была снята в то время как температура реакции продолжала расти около до 63 °С и оставалась при этой температуре в течение нескольких минут перед тем как упасть. Нагревание смеси было возобновлено до достижения слабого кипения (около 100°C). При около 95 °С, происходило постоянное довольно быстрое выделение газа HCl и реакционная смесь постепенно становилась разжиженной и затемненной. После около 0,5 ч, прозрачный коричневый раствор был получен, когда температура нагревания медленно возростала до 115 °С в течение 1,25 ч. В общей сложности после 2,5 ч при кипячении с обратным холодильником, реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и перемешивали в течение ночи при температуре окружающей среды. Избыточное количество POCl₃ (так много, насколько возможно) удаляли при пониженном давлении (температура бани 45–50 °С). Остаточное густое коричневое масло выливали очень медленно в холодную H₂O (5 л) в 20 л делительной воронке, добавляя лед, что необходимо для поддержания водной смеси около температуры окружающей среды. Затем водную смесь экстрагировали EtOAc (2×3 л с последующим 1×2 л). Объединенные EtOAc экстракты промывали H₂O (2×2.5 л), насыщенным NaHCO₃ водным раствором (1 л), концентрированным соевым раствором (1 л), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении (температура бани при температуре 35°C) с получением неочищенного 4,6-дихлорпиримидин-5-карбальдегида (270 г, 395 г теоретический, 68,4%) в виде желто-оранжевого твердого вещества. Навеску 20 г этого сырого материала очищали с помощью

дистилляции Кугельрода (температура печи при 90–100 °С, 225 мТорр), что дало 15,3 г чистого 4,6-дихлорпиримидин-5-карбальдегида в виде белого твердого вещества, которое становилось желтым при хранении при температуре окружающей среды. ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) 10,46 (с, 1H), 8,89 (с, 1H) м.д.

4-Амино-6-хлорпиримидин-5-карбальдегид (27). Раствор 7 M NH₃ в MeOH (265 мл, 1,855 моль, 2,0 экв) добавляли в течение 1,25 ч к раствору 4,6-дихлорпиримидин-5-карбальдегида (163,7 г, 0,9301 моль) в толуоле (3 л) при температуре окружающей среды. Температура реакционной смеси постепенно возрастала от 20 до 26 °С и образовывалась желтая суспензия. Применялось легкое охлаждение для поддержания температуры реакционной смеси ниже 26 °С. Суспензия перемешивалась при температуре окружающей среды в течение 3,5 ч перед отделением твердых веществ фильтрованием. Твердые вещества промывали EtOAc (1 л). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении, и твердые вещества растирали с толуолом и *n*-гептаном (2:1 об/об, 600 мл), фильтровали и сушили с получением 71,1 г 4-амино-6-хлорпиримидин-5-карбальдегида в виде желтого твердого вещества. Исходное твердое вещество отфильтровывали из реакционной смеси, которая содержала дополнительное количество 4-амино-6-хлорпиримидин-5-карбальдегида. Продукт экстрагировали из отфильтрованного твердого вещества перемешиванием в EtOAc (1,25 л) в течение 1,5 ч, фильтровали, затем перемешивали в ТГФ (750 мл) в течение 1 ч и снова фильтровали. Оба EtOAc и ТГФ фильтрата концентрировали при пониженном давлении и полученные твердые вещества растирали с толуолом и *n*-гептаном (2:1 об/об, 450 мл), фильтровали и сушили с получением дополнительных 44,1 г 4-амино-6-хлорпиримидин-5-карбальдегида в виде желтого твердого вещества. Общий выход 4-амино-6-хлорпиримидин-5-карбальдегида (115,2 г, 146,5 г теоретический) был 78,6%. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-*d*₆) δ 10,23 (с, 1H), 8,71 (уш. с, 1H), 8,55 (уш. с, 1H), 8,39 (с, 1H) м.д., C₅H₄ClN₃O (Мол. масса, 157.56), ВЖМС (EI) *m/e* 158 (M⁺+H).

6-Хлор-5-(2-метоксивинил)пиримидин-4-иламин (28). Суспензия (метоксиметил)трифенилфосфоний хлорида (276,0 г, 0,807 моль, 1,1

экв) в ТГФ (1.5 л) была охлаждена в ледяной солевой бане до -2 °С и 1 М *трет*-бутоксид калия (KO^tBu) в ТГФ (807 мл, 0.807 моль, 1.1 экв) добавляли в течение 1,5 ч при -2 до -3 °С. Темно красно-оранжевую смесь перемешивали при -2 до -3 °С в течение 1 ч. 4-Амино-6-хлорпиримидин-5-карбальдегид (115,2 г, 0,7338 моль, 1,0 экв) затем порционно добавляли к реакционной смеси в качестве твердого вещества с применением ТГФ (200 мл) для промывки контейнера и делительной воронки. Во время добавления, температура реакционной смеси возрастала от -3 до 13 °С и цвет изменялся на коричневый. Когда температура реакционной смеси упала до 10 °С, охлаждающую баню сняли и позволили реакционной смеси нагреться до комнатной температуры и перемешивали при температуре окружающей среды в течение 42 ч. Реакционная смесь была охлаждена до -2 °С перед гашением медленным добавлением насыщенного водного раствора NH_4Cl (750 мл). Смесь концентрировали при пониженном давлении, чтобы удалить большую часть ТГФ. Остаток распределяли между EtOAc (3 л) и H_2O (1 л). Органическую фазу фильтровали для удаления нерастворимого материала на границе раздела, затем экстрагировали 2 н. HCl (4×250 мл), затем 3 н. HCl (2×250 мл). Объединенные экстракты HCl вновь экстрагировали этилацетатом (500 мл), затем фильтровали через целит, чтобы удалить нерастворимый материал. Фильтрат охлаждали на ледяной солевой бане, доводили до pH 8 с помощью 6 н. водного раствора NaOH и экстрагировали EtOAc (3×1 л). Объединенные экстракты EtOAc промывали насыщенным раствором соли (1 л), сушили над Na_2SO_4 , перемешивали с активированным углем (10 г) и силикагелем (10 г) в течение 1 ч. Смесь фильтровали через целит, промывая целит этилацетатом (1 л). Фильтрат концентрировали, совместно испаряя остаточный EtOAc с *n*-гептаном (500 мл). Полученное бурое твердое вещество выкачивали под высоким вакуумом в течение 2 ч с получением неочищенного 6-хлор-5-(2-метоксивинил)пиримидин-4-иламина (72,3 г, 136,2 г теоретический, 53,1%). Сырой требуемый продукт был использован в следующей реакции без дополнительной очистки. Образец сырого продукта (2,3 г) очищали с помощью колоночной хроматографии на

силикагеле с элюированием смесью 0-35% EtOAc/*n*-гептан с получением 1,7 г чистого 6-хлор-5-(2-метоксивинил)пиримидин-4-иламина в виде белого твердого вещества, которое было смесью от 1 до 2 *E/Z* изомеров. ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-*d*₆) для *E*-изомера: δ 8,02 (с, 1H), 7,08 (уш. с, 2H), 6,92 (д, 1H, *J*=13.1), 5.35 (д, 1H, *J*=13,0 Гц), 3,68 (с, 3H) м.д. и для *Z*-изомера: δ 8,06 (с, 1H), 7,08 (уш.с, 2H), 6,37 (д, 1H, *J*=6,8 Гц), 5,02 (д, 1H, *J*=6,7 Гц), 3,69 (с, 3H) м.д.; C₇H₈ClN₃O (Мол.масса, 185,61), ВЖМС (EI) *m/e* 186/188 (M⁺+H).

4-Хлор-7H-[пирроло[2,3-*d*]пиримидин (4). Концентрированную HCl (5 мл) добавляли к раствору сырого 6-хлор-5-(2-метоксивинил) пиримидин-4-иламина (70,0 г, 0,3784 моль) в ТГФ (700 мл) и полученную реакционную смесь нагревали с обратным холодильником в течение 7,5 часов. При нагреве сформировалась не густая суспензия, которая постепенно повторно растворялась. Когда реакция была завершена, что подтвердил контроль ВЭЖХ, реакционную смесь охлаждали до температуры окружающей среды и перемешивали при температуре окружающей среды в течение ночи. Твердый NaHCO₃ (15 г) был добавлен к реакционной смеси и полученную смесь перемешивали при температуре окружающей среды в течение 1 ч. Активированный уголь (7 г), силикагель (7 г) и Na₂SO₄ (20 г) были добавлены к смеси и нагревали до 40°C в течение 1 ч. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры и фильтровали через целит, промывая целит с ТГФ (1 л). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении и полученное твердое вещество сушили при пониженном давлении с получением неочищенного 4-хлор-7H-[пирроло[2,3-*d*]пиримидина (4, 58,1 г, 58,1 г теоретический, 100%) в виде желто-коричневого твердого вещества. Этот неочищенный целевой продукт растворяли в EtOAc (1 л) при 50-55 °С и обрабатывали активированным углем (3 г). Смесь фильтровали через целит при нагревании и слой целита промывали теплой EtOAc (250 мл). Фильтрат концентрировали до околооколо 500 мл, и суспензию выдерживали при температуре окружающей среды в течение ночи. Суспензию затем охлаждали до 0-5 °С в течение 2 ч перед тем как собрать твердые вещества фильтрацией. Твердые

вещества сушили с получением чистого 4-хлор-7H-[пирроло[2,3-d]пиримидина (4, 54,5 г, 58,1 г теоретический, 94%) в виде желто-коричневых кристаллов. ^1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 12,58 (уш. с, 1H), 8,58 (с, 1H), 7,69 (д, 1H, $J=3.5$ Гц), 6.59 (д, 1H, $J=3.5$ Гц) м.д.; ВЖМС (EI) m/e 154/156 (M^+ +H).

Пример А: *In vitro* анализ JAK Киназы

Соединение Формулы I испытывали на ингибирующую активность в отношении JAK объектов, согласно следующему *in vitro* анализу, описанному в Park et al., *Analytical Biochemistry* **1999**, 269, 94-104. Каталитические домены человеческого JAK1 (а.а. 837-1142) и JAK2 (а.а. 828-1132) с N-концевыми метками были экспрессированы с помощью бакуловируса в клетках насекомых и очищены. Каталитическую активность JAK1 и JAK2 анализировали путем измерения фосфорилирования биотинилированного пептида. Фосфорилированный пептид был обнаружен по однородной с временным разделением флуоресценции (HTRF). IC_{50} соединений были измерены для каждой киназы в 40 мкл реакций, которые содержали фермент, АТФ и 500 нМ пептид в 50 мМ Трис (рН 7,8) буфер с 100 мМ NaCl, 5 мМ ДТТ и 0.1 мг/мл (0.01%) БСА. Для 1мМ IC_{50} измерений, концентрация АТФ в реакциях составляла 1 мМ. Реакции проводили при температуре окружающей среды в течение 1 ч, а затем останавливали 20 мкл 45 мМ ЭДТА, 300 нМ SA-APC, 6 нМ Eu-Py20 в буфере для анализа (Perkin Elmer, Boston, Massachusetts). Связывание с меченым европием антителом проходило в течение 40 минут и HTRF сигнала измеряли на счетчике Fusion пластины (Perkin Elmer, Boston, Massachusetts). Соединение Формулы I и соль адипиновой кислоты имела IC_{50} в JAK1 от ≤ 5 нМ (измерены при 1 мМ АТФ) при соотношении JAK2/JAK1 > 10 (измерены при 1 мМ АТФ).

Пример В: Клеточные исследования

Линии раковых клеток, зависящие от цитокинов и, следовательно, JAK/STAT передачи сигналов, для роста, высевали при 6000 клеток на лунку (формат 96-луночного планшета) в среде RPMI 1640, 10% FBS, и 1 нг/мл соответствующего цитокина. Соединение может быть добавлено к клеткам в ДМСО/носителя

(конечная концентрация ДМСО 0,2%), и инкубировали в течение 72 часов при 37 ° C, 5% CO₂. Влияние соединения на жизнеспособность клеток оценивали с помощью CellTiter-Glo люминесцентной ячейки Анализ жизнеспособности клеток (Promega) с последующим TopCount (Perkin Elmer, Boston, Бfiiфсргiyei) количественным определением. Потенциальные нецелевые эффекты соединений измерены в параллели, используя не-JAK, которые ведут клеточную линию с тем же самым анализом считывания. Все эксперименты, как правило, выполняли в двух повторах.

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

Соединения по данному изобретению дополнительно могут быть протестированы на клеточных моделях, разработанных с целью оценки их эффективности и активности против мутантных JAK,

например, с мутацией JAK2V617F, найденной при миелоидных пролиферативных расстройствах. В таких экспериментах часто применяют цитокин-зависимые клетки гематологической клеточной линии (например BaF/3) в которой эктопически экспрессируются JAK киназы дикого типа или мутантные (James, C., et al. *Nature* 434:1144-1148; Staerk, J., et al. *JBC* 280:41893-41899). Конечные точки включают воздействие соединений на выживание, пролиферацию клеток и фосфорилированные белки JAK, STAT, Akt или Erk.

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

Пример С: *In vivo* Противоопухолевая эффективность

Соединения по данному изобретению могут быть оценены на моделях ксенотрансплантата опухоли человека у мышей с ослабленным иммунитетом. Например, канцерогенный вариант линии клеток плазмацитомы INA-6 могут применять для подкожной инокуляции мышам SCID (Burger, R., et al. *Hematol J.* 2:42-53, 2001). В дальнейшем несущие опухоль животные могут быть рандомизированы в группы лечения лекарственным средством или растворителем, и различные дозы соединений могут быть введены любым количеством обычных способов, включая пероральный, внутрибрюшинный или непрерывную инфузию с применением имплантируемых насосов. Рост опухоли отслеживают во времени с помощью штангенциркуля. В дальнейшем образцы опухоли могут быть отобраны для анализа в любое время после начала лечения, как изложено выше (Пример В), чтобы оценить влияние соединения на активность JAK и нижележащих путей проведения сигнала. Дополнительно, селективность соединения(й) может быть оценена с применением моделей ксенотрансплантата опухоли, которые запускаются другими, известными киназами (например Bcr-Abl), таких как модель опухоли K562.

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

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

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

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

и дексаметазон могут уменьшать количество инфильтрующих клеток. Системное и местное применение исследуемых соединений может вызывать ингибирующий эффект, т.е., уменьшение количества инфильтрующих клеток и ингибирование транскрипционных изменений.

Пример Е: *In vivo* противовоспалительная активность

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

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

Агенты могут быть оценены на одной или более доклинических моделей сухости глаз, известных специалистам в данной области техники, в том числе, без ограничения, модель с применением конканавалина А (ConA) на слезной железе кролика, скополаминовая модель (подкожная или трансдермальная) на мышях, модель на слезной железе мыши с применением ботулотоксина или любая из целого ряда спонтанных аутоиммунных моделей у грызунов, которые приводят к дисфункции глазной железы (например NOD-SCID, MRL/lpr или NZB/NZW) (Barabino et al., Experimental Eye Research 2004,

79, 613-621 и Schrader et al., *Developmental Ophthalmology*, Karger 2008, 41, 298-312, каждая из которых включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки). Конечные точки в этих моделях могут включать гистопатологию глазных желез и глаза (роговая оболочка и т.п.), а также классическую пробу Ширмера или ее модифицированные версии (Varabino et al.), в которых измеряют выработку слезной жидкости. Активность оценивают при введении доз несколькими способами (например, системно или местно), которое может начинаться до или после появления измеримого заболевания.

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

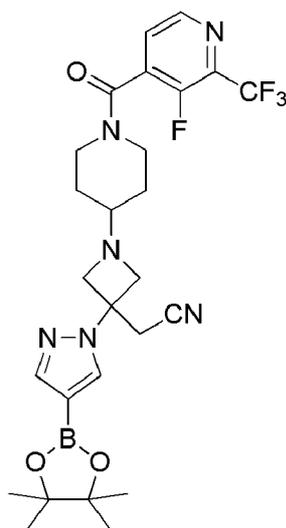
Дополнительно, агенты могут быть оценены в одной или более доклинических моделей конъюнктивита, известных специалистам в

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

Пример G: *In vivo* защита кости

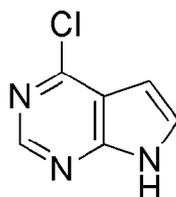
Соединения могут быть оценены на различных доклинических моделях остеопении, остеопороза или резорбции кости, известных специалистам в данной области техники. Например, грызуны с удаленными яичниками могут быть использованы для оценки способности соединений воздействовать на признаки и маркеры ремоделирования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

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



VIIa

и взаимодействие соединения формулы VIIa с соединением формулы IVa:



IVa

в условиях реакции сочетания Сузуки с получением соединения формулы I, где условия реакции сочетания Сузуки включают нагревание реакционной смеси, содержащей соединение формулы VIIa, соединение формулы IVa, катализатора реакции сочетания Сузуки, основание и второй компонент растворителя.

2. Способ по п.1, в котором агент связывания представляет собой 1,8-диазацикло[5,4,0]ундецен.

3. Способ по п. 1 или 2, в котором используют от 1,05 до приблизительно 1,2 эквивалента агента связывания исходя из соединения формулы VIII.

4. Способ по любому из пп. 1-3, в котором взаимодействие соединения формулы VIII с соединением формулы IXa:

(а) проводят в компоненте растворителя, содержащего ацетонитрил; и

(b) проводят в компоненте растворителя, содержащего ацетонитрил, при температуре приблизительно от 40°C до приблизительно 60°C.

5. Способ по любому из пп. 1-4, в котором используют от 1 до 1,2 эквивалента соединения формулы IXa исходя из соединения формулы VIII.

6. Способ по любому из пп. 1-5, в котором катализатор реакции сочетания Сузуки представляет собой тетраakis(трифенилфосфин)палладий (0).

7. Способ по любому из пп. 1-6, в котором основание представляет собой бикарбонат натрия.

8. Способ по п.7, в котором бикарбонат натрия присутствует в количестве 4 или более эквивалентов исходя из соединения формулы VIIa.

9. Способ по любому из пп. 1-8, в котором второй компонент растворителя содержит 1,4-диоксан и воду.

10. Способ по п.9, в котором 1,4-диоксан и вода присутствуют в объемном соотношении 1:1.

11. Способ по любому из пп. 1-10, в котором соединения формул VIIa и IVa присутствуют в молярном соотношении приблизительно 1:1.

12. Способ по любому из пп. 1-11, в котором условия реакции сочетания Сузуки включают нагревание реакционной смеси, содержащей соединение формулы VIIa, соединение формулы IVa, тетраakis(трифенилфосфин)палладий (0), бикарбонат натрия и второй компонент растворителя, и где второй компонент растворителя включает воду и 1,4-диоксан.

По доверенности