

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202293547 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.02.06

(51) Int. Cl. C07D 403/14 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.06.02

(54) СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ИНГИБИТОРА JAK1

(31) 63/033,618

(72) Изобретатель:

(32) 2020.06.02

Чжоу Цзячэн, Дай Инжуй, Цзя
Чжунцзян, Пань Юнчунь, Паркс
Джеймс М., Томейн Энтони Дж., Ван
Цзяньцзи, Чжан Айбинь (US)

(33) US

(86) PCT/US2021/035400

(87) WO 2021/247668 2021.12.09

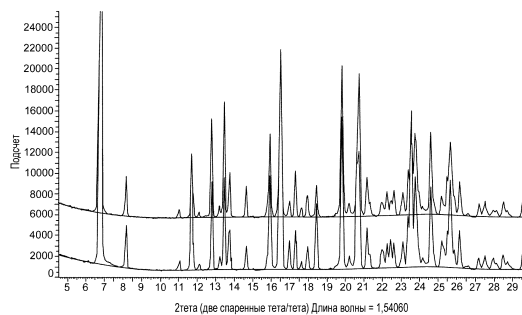
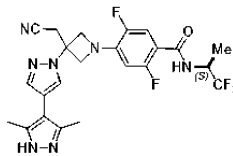
(71) Заявитель:

(74) Представитель:

ИНСАЙТ КОРПОРЕЙШН (US)

Медведев В.Н. (RU)

(57) Согласно изобретению предложены способы получения 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и его соли фосфорной кислоты, которая применима в качестве селективного ингибитора JAK1 (Янус-киназы 1), а также форм солей и родственных им промежуточных соединений.



A1

202293547

202293547

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-576519EA/061

СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ИНГИБИТОРА JAK1

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

В настоящей заявке испрашивается приоритет и преимущество по предварительной заявке на патент США, номер 63/033,618, поданной 2 июля 2020 г., которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Согласно настоящей заявке предложены способы получения 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и его соли фосфорной кислоты, которая применима в качестве селективного ингибитора JAK1 (Янус-киназы 1), а также форм солей и родственных им промежуточных соединений.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Протеинкиназы (ПК) регулируют разнообразные биологические процессы, включая, помимо прочего, рост, выживание и дифференцировку клеток, формирование органов, морфогенез, неоваскуляризацию, восстановление и регенерацию тканей. Протеинкиназы также играют специализированные роли при множестве заболеваний человека, включая рак. Цитокины, полипептиды с низким молекулярным весом или гликопротеины регулируют многие пути, участвующие в воспалительной реакции хозяина на сепсис. Цитокины влияют на дифференцировку, пролиферацию и активацию клеток, и могут модулировать как провоспалительные, так и противовоспалительные реакции для обеспечения соответствующей реакции хозяина на патогены. Передача сигналов широкого ряда цитокинов затрагивает семейство Янус-киназ (JAK) протеин-тирозинкиназ и сигнальные трансдукторы и активаторы транскрипции (STAT). Существует четыре известных JAK млекопитающих: JAK1 (Янус-киназа 1), JAK2, JAK3 (также известная как Янус-киназа, лейкоцит; JAKL; и L-JAK), и TYK2 (протеин-тирозинкиназа 2).

Цитокин-стимулированные иммунные и воспалительные реакции способствуют патогенезу заболеваний: патологий, таких как тяжелый комбинированный иммунодефицит (SCID), возникающий из-за подавления иммунной системы, тогда как гиперактивная или несоответствующая иммунная/воспалительная реакция способствует патологии аутоиммунных заболеваний (например, астмы, системной красной волчанки, тиреоидита, миокардита) и болезней, таких как склеродермия и остеоартрит (Ortmann, R. A., T. Cheng, et al. (2000) *Arthritis Res* 2(1): 16-32).

Недостаток экспрессии JAK связан со многими болезненными состояниями. Например, мыши *Jak1*^{-/-} низкорослы от рождения, отказываются от кормления и погибают внутриутробно (Rodig, S. J., M. A. Meraz, et al. (1998) *Cell* 93(3): 373-83). Эмбрионы мышей *Jak2*^{-/-} являются анемичными и погибают приблизительно на 12,5 день после спаривания из-за отсутствия характерного образования эритроцитов.

Путь JAK/STAT и, в частности, все четыре JAK, предположительно играют роль в

патогенезе астматической реакции, хронической обструктивной болезни легких, бронхите и других родственных воспалительных заболеваниях нижних дыхательных путей. Многие цитокины, передающие сигнал через JAK, связаны с воспалительными заболеваниями/состояниями верхних дыхательных путей, такими как те, которые поражают нос и пазухи (например, ринит и синусит), которые являются классическими аллергическими реакциями или не являются ими. Путь JAK/STAT также участвует в воспалительных заболеваниях/состояниях глаз и хронических аллергических реакциях.

Активация JAK/STAT при раке может происходить посредством стимуляции цитокинов (например, IL-6 или GM-CSF) или посредством снижения передачи сигналов JAK в эндогенных супрессорах, таких как SOCS (супрессор передачи сигналов цитокинов) или PIAS (белковый ингибитор активированного STAT) (Boudny, V., and Kovarik, J., *Neoplasms*. 49:349-355, 2002). Активация передачи сигналов STAT, а также других нисходящих путей JAK (например, Akt) связана с плохим прогнозом во многих типах рака (Bowman, T., et al. *Oncogene* 19:2474-2488, 2000). Повышенные уровни циркулирующих цитокинов, которые передают сигнал через JAK/STAT, играют причинную роль в кахексии и/или хронической усталости. Поэтому ингибирование JAK может быть полезным для онкологических пациентов по причинам, которые выходят за пределы потенциальной противоопухолевой активности.

JAK2 тирозинкиназа может быть полезной для пациентов с миелопролиферативными нарушениями, например, истинной полицитемией (PV), эссенциальной тромбоцитемией (ET), миелоидной метаплазией с миелофиброзом (МММ) (Levin, et al., *Cancer Cell*, vol. 7, 2005: 387-397). Ингибирование киназы JAK2V617F снижает пролиферацию гематопозитических клеток, что позволяет предположить, что JAK2 представляет собой потенциальную мишень для фармакологического ингибирования у пациентов с PV, ET и МММ.

Ингибирование JAK может принести пользу пациентам, страдающим кожными иммунными расстройствами, такими как псориаз и кожная сенсibilизация. Сохранение псориаза, предположительно, зависит от ряда воспалительных цитокинов, помимо различных хемокинов и факторов роста (JCI, 113:1664-1675), многие из которых передают сигнал через JAK (*Adv Pharmacol.* 2000;47:113-74).

Таким образом, новые или улучшенные агенты, ингибирующие киназы, например, JAK, постоянно необходимы для разработки новых и более эффективных фармацевтических препаратов, направленных на усиление или подавление иммунных и воспалительных путей (таких как иммунодепрессанты для трансплантации органов), а также агентов для профилактики и лечения аутоиммунных заболеваний, заболеваний, сопровождающихся гиперактивной воспалительной реакцией (например, экземы), аллергий, рака (например, предстательной железы, лейкемии, множественной миеломы) и некоторых иммунных реакций (например, кожной сыпи, или контактного дерматита, или диареи), вызванных другими терапевтическими средствами. Ингибиторы JAK находятся в стадии разработки. Несмотря на то, что в литературе описаны ингибиторы JAK и способы

их получения, остается потребность в новых способах получения этих ингибиторов, обладающих подходящими свойствами, полезными для производства эффективных, высококачественных лекарственных препаратов для продажи. Настоящее изобретение, описанное в данном документе, направлено на достижение этой цели.

РАСКРЫТИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Согласно настоящему изобретению предложены способы получения селективного ингибитора JAK1, 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида, или форм его солей, включая 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамидную соль фосфорной кислоты и родственные им промежуточные соединения.

Краткое описание графических материалов

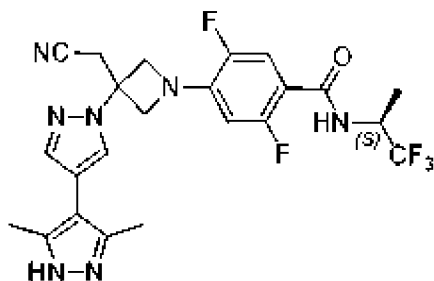
На фиг. 1 показана репрезентативная кривая дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) для соединения 1 фосфорной кислоты, полученного в соответствии со способом, описанным в примере 1.

На фиг. 2 показана репрезентативная кривая термогравиметрического анализа (ТГА) соединения 1 фосфорной кислоты, полученная в соответствии со способом, описанным в примере 1.

На фиг. 3 показана репрезентативная кривая рентгеновской порошковой дифрактометрии (РПД) соединения 1 фосфорной кислоты, полученная в соответствии со способом, описанным в примере 1, наложенная на кривую РПД соединения 1 фосфорной кислоты, полученную в соответствии со способом, описанным в патенте США № 9,382,231.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

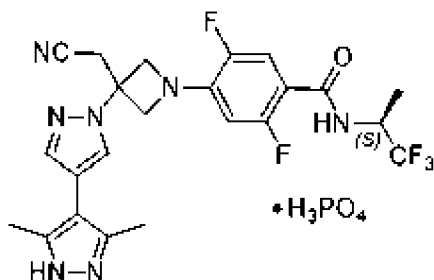
Согласно настоящему изобретению предложены способы получения селективного ингибитора JAK1, 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (см. ниже), именуемого в данном документе как «Соединение 1». Свободное основание соединения показано ниже.



Свободное основание соединения 1

Согласно настоящему изобретению также предложен способ получения соли фосфорной кислоты свободного основания соединения 1 (см. ниже), 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамидной соли фосфорной кислоты, именуемой в данном

документе как «соль фосфорной кислоты соединения 1», «фосфат соединения 1» или «фосфатная соль соединения 1».



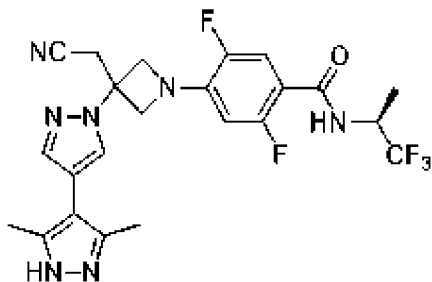
Соль фосфорной кислоты соединения 1

Типовой способ получения соединения 1 и его соли фосфорной кислоты описан в US2014/0343030, который включен в данный документ в полном объеме посредством ссылки. Предложенные в данном документе способы получения свободного основания соединения 1 и его соли фосфорной кислоты имеют несколько преимуществ по сравнению со способом, описанным в US2014/0343030, делая способы, предложенные в данном документе, более подходящими для масштабируемых производственных процессов. Например, типовой способ, описанный в данном документе, представляет собой конвергентный синтез, который обеспечивает высокие выходы, повышая эффективность многостадийного синтеза по сравнению с линейным синтезом в US2014/0343030. Выходы промежуточных продуктов, например, продуктов, показанных на схеме 2 (см. ниже), находятся в диапазоне от около 93% до около 94% по шкале в диапазоне от около 670 граммов до около 2000 граммов. Кроме того, выходы формы свободного основания соединения 1 и его соли фосфорной кислоты, как показано на схеме 5 (см. ниже), находятся в диапазоне от около 90% до около 97% по шкале в диапазоне от 430 граммов до около 5800 граммов. Общий выход способа, предложенного в данном документе, начиная с получения (S)-2,4,5-трифтор-N-[1,1,1-трифторпропан-2-ил]бензамида (соединение **1a**, схема 2, см. ниже) по отношению к свободному основанию соединения 1 составляет от около 68% до около 70% при пятистадийном синтезе, при этом общий выход с применением способа, приведенного в US2014/0343030, составляет менее 5%, требуя шесть стадий, начиная с получения (S)-2,4,5-трифтор-N-[1,1,1-трифторпропан-2-ил]бензамида для свободного основания соединения 1.

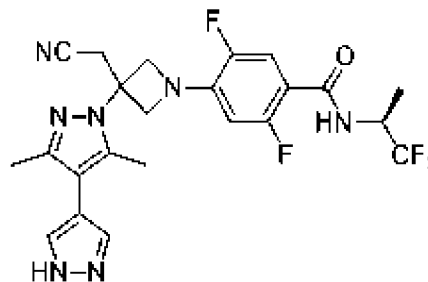
Описанные в данном документе способы обеспечивают хорошую чистоту продукта и высокие выходы в больших масштабах. Например, в US2014/0343030 реакция сочетания Сузуки 4-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида с 4-бром-3,5-диметил-1H-пиразолом в присутствии палладиевого катализатора с образованием свободного основания соединения 1 дает низкий выход (выход менее около 10%, пример 7) и требует удаления примесей палладия из продукта. В предложенном в данном документе типовом способе стадию реакции сочетания Сузуки с использованием палладиевого катализатора осуществляют в отдельном параллельном синтезе с получением соединения бипиразола (соединение **2x**, схема 1, см. ниже), которое затем

подвергают реакции сочетания с (S)-4-(3-(цианометил)азетидин-1-ил)-2,5-дифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамидом с образованием формы свободного основания соединения **1** (схема 5, см. ниже). Соединение **2x** может быть легко очищено в виде высококристаллической соли HCl. Процесс кристаллизации позволяет легче очищать соединение **2x** от примесей палладия, чем сложное многоатомное азотсодержащее свободное основание соединения **1**. Это представляет собой преимущество по сравнению с предшествующим способом, который требовал разделения методом колоночной хроматографии с низким выходом. Кроме того, предложение стадии сочетания с использованием палладия ранее в способе синтеза улучшило общий выход.

Кроме того, использование соединения бипиразола (соединение **2x**) в реакции присоединения по Михаэлю с соединением **1x** неожиданно привело к высокой степени региоселективности. В некоторых вариантах осуществления региоселективность составляла около 20:1 или более в пользу желаемого региоизомера, формы свободного основания соединения **1**, по сравнению с нежелательным региоизомером (соединение R показано ниже). Основываясь на электронных эффектах, региоизомер соединения R был ожидаемым продуктом, поскольку две электронодонорные метильные группы делают группу 1H-NH соединения **2x** более нуклеофильной, чем группу 1'H-NH. Не ограничиваясь конкретной теорией, полагают, что стерические затруднения в группе 1H-NH приводят к неожиданно высокой степени региоселективности.

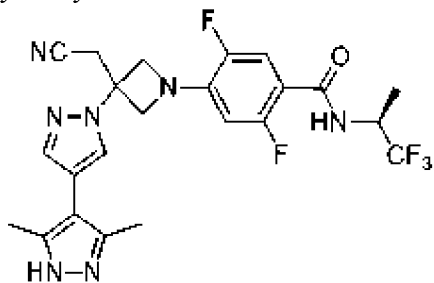


Свободное основание соединения 1



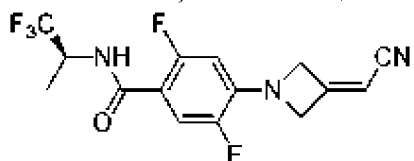
Соединение R

В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу получения

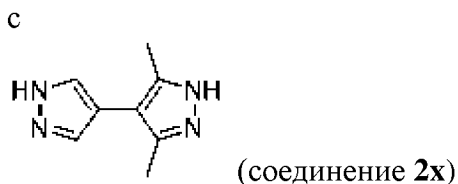


(формы свободного основания соединения 1)

или его соли, включающий взаимодействие



(соединение 1x)



с образованием формы свободного основания соединения 1 или его соли.

В некоторых вариантах осуществления взаимодействие соединения **1x** с соединением **2x** осуществляют в присутствии 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена (DBU) и компонента органического растворителя. В некоторых вариантах осуществления компонент органического растворителя включает диметилформамид (ДМФА).

В некоторых вариантах осуществления взаимодействия соединения **1x** с соединением **2x** осуществляют при температуре от около 40°C до около 70 °C, от около 45°C до около 65°C или от около 50°C до около 60 °C. В некоторых вариантах осуществления температура составляет от около 50°C до около 60 °C. Например, температура составляет около 60 °C.

В некоторых вариантах осуществления способ получения формы свободного основания соединения 1 дополнительно включает выделение продукта реакции после завершения реакции. Например, выделение продукта реакции может включать добавление воды к реакционной смеси и сбор твердой фазы свободного основания соединения 1 посредством фильтрации, которая может быть промыта водой.

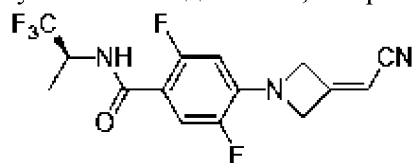
В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение относится к способу получения соли фосфорной кислоты соединения 1, включающему взаимодействие свободного основания соединения 1, полученного способом, описанным в данном документе, с фосфорной кислотой. В некоторых вариантах осуществления соль соединения 1 представляет собой соль фосфорной кислоты соединения 1, которую получают способом, включающим взаимодействие формы свободного основания соединения 1 с фосфорной кислотой.

В некоторых вариантах осуществления взаимодействие формы свободного основания соединения 1 с фосфорной кислотой осуществляют в присутствии компонента растворителя. В некоторых вариантах осуществления компонент растворителя включает метанол, изопропанол или их смесь.

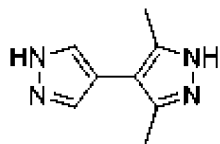
В некоторых вариантах осуществления взаимодействие свободного основания соединения 1 с фосфорной кислотой осуществляют при температуре от около 40°C до около 70°C или от около 45°C до около 55 °C. Например, температура составляет около 50 °C.

В некоторых вариантах осуществления фосфорная кислота представляет собой водный раствор около 85% масс. фосфорной кислоты. В некоторых вариантах осуществления взаимодействие свободного основания соединения 1 с фосфорной кислотой дополнительно включает добавление второго компонента растворителя к реакционной смеси. Например, второй компонент растворителя включает н-гептан.

Согласно настоящему изобретению также предложен способ получения промежуточных соединений, например,

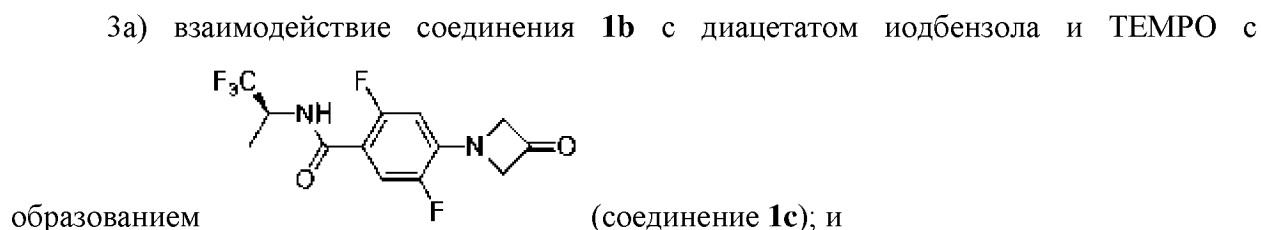
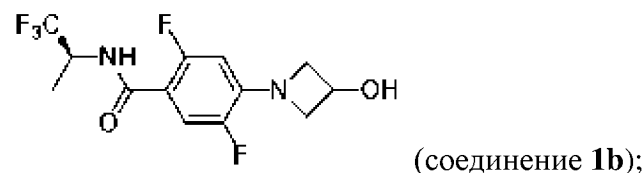
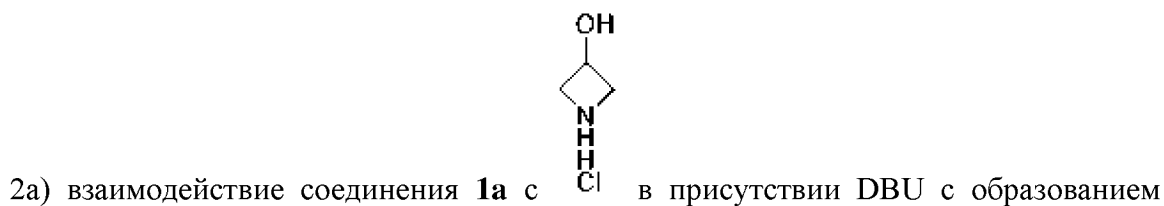
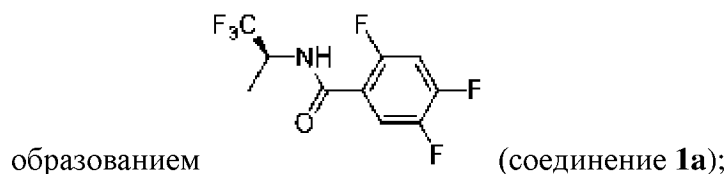
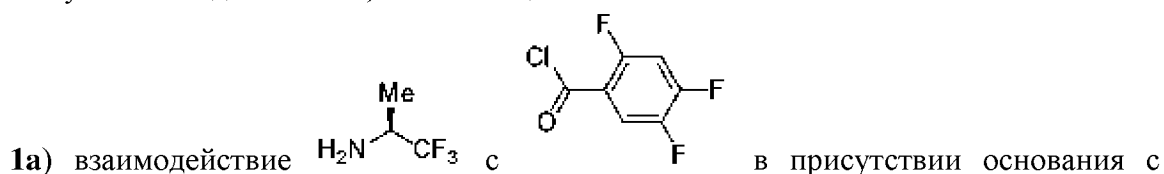


(соединение **1x**) и



(соединение **2x**).

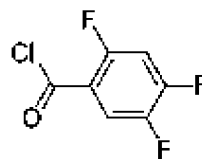
В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении предложен способ получения соединения **1x**, включающий:



4a) взаимодействие соединения **1c** с диэтилцианометилфосфонатом в присутствии основания с образованием соединения **1x**.

В операции **1a**, (2S)-1,1,1-трифторпропан-2-амин может взаимодействовать с 2,4,5-трифторбензоилхлоридом в присутствии основания с образованием соединения **1a**. В некоторых вариантах осуществления основание представляет собой N, N-диизопропилэтиламин или водный раствор гидроксида натрия. В некоторых вариантах осуществления основание представляет собой водный гидроксид натрия. В некоторых

вариантах осуществления взаимодействие осуществляют в присутствии компонента органического растворителя (например, толуола). В некоторых вариантах осуществления взаимодействие осуществляют при температуре от около 0°C до около 10°C или от около 0°C до около 5 °C. В некоторых вариантах осуществления соль (2S)-1,1,1-трифторпропан-



2-амин (например, соль HCl) перед взаимодействием с превращают в ее свободное основание. Например, в некоторых вариантах осуществления соль (2S)-1,1,1-трифторпропан-2-амин (например, соль HCl) превращают *in situ* в ее свободное основание. В некоторых вариантах осуществления операция **1a** дополнительно включает выделение продукта реакции с получением соединения **1a** после того, как реакция считается завершенной, например, методом ВЭЖХ. Например, выделение продукта реакции может включать разделение фаз реакционной смеси и промывку органической фазы, например, 0,5 М водным раствором гидроксида натрия. В некоторых вариантах осуществления твердая фаза соединения **1a** может быть суспендирована в *n*-гептане при температуре около 50°C в течение около 1 часа. Твердая фаза может быть собрана фильтрованием и промыта *n*-гептаном.

В операции 2a, соединение **1a** может быть подвержено химическому взаимодействию с гидрохлоридом азетидин-3-ола в присутствии 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена (DBU) с образованием соединения **1b**. В некоторых вариантах осуществления взаимодействие осуществляют в компоненте органического растворителя, который содержит, например, ацетонитрил. В некоторых вариантах осуществления DBU может быть добавлен к реакционной смеси соединения **1a** и гидрохлорида азетидин-3-ола порциями. В некоторых вариантах осуществления взаимодействие осуществляют при температуре от около 50°C до около 75°C или от около 55°C до около 70 °C. Например, температура составляет от около 58 °C до около 68 °C. В некоторых вариантах осуществления операция 2a дополнительно включает выделение продукта реакции с получением соединения **1b** после того, как реакция считается завершенной, например, методом ВЭЖХ. Выделение продукта реакции может включать добавление 1,0 М водного раствора соляной кислоты к смеси соединения **1a** с гидрохлоридом азетидин-3-ола и DBU, смешивание смеси с раствором соляной кислоты при температуре окружающей среды, добавление воды к перемешиваемой смеси и перемешивание смеси, в которую была добавлена вода. Выделение продукта реакции может дополнительно включать выделение твердой фазы соединения **1b** и промывку твердой фазы водой.

В операции 3a соединение **1b** может быть подвержено химическому взаимодействию с диацетатом йодбензола и свободным радикалом 2,2,6,6-тетраметил-1-

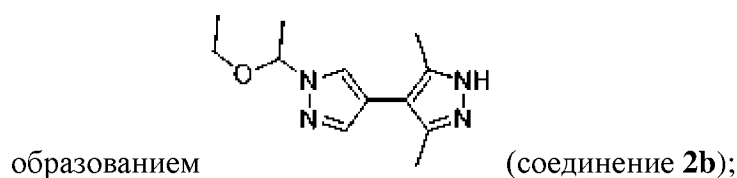
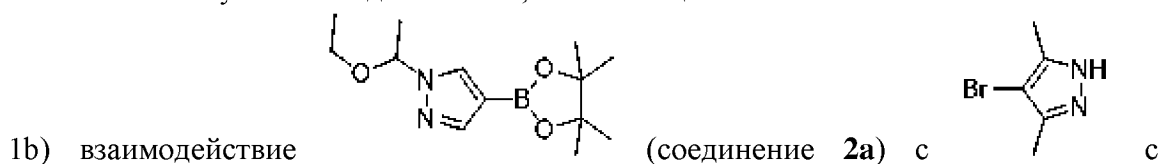
пиперидинилокси (ТЕМРО) с образованием соединения **1c**. В некоторых вариантах осуществления взаимодействие осуществляют в компоненте органическом растворителе, который включает, например, метиленхлорид. В некоторых вариантах осуществления взаимодействие осуществляют при температуре от около 0°C до около 20°C или от около 5°C до около 15 °C. Например, температура составляет от около 10 °C до около 12 °C. В некоторых вариантах осуществления операция 3a дополнительно включает выделение продукта реакции с получением соединения **1c** после того, как реакция считается завершённой, например, методом ВЭЖХ. Выделение продукта реакции может включать гашение реакции водным раствором тиосульфата натрия и фосфата калия. Две фазы могут быть разделены, а органическая фаза может быть промыта водой. Органический раствор может быть концентрирован при пониженном давлении с получением соединения **1c** в виде твердой фазы. Твердая фаза соединения **1c** может быть повторно суспендирована в *n*-гептане при комнатной температуре в течение около 30 минут и промыта *n*-гептаном.

В операции 4a соединение **1c** может быть подвержено химическому взаимодействию с диэтилцианометилфосфонатом в присутствии основания с образованием соединения **1x**. Основание включает, например, *трет*-бутоксид калия. В некоторых вариантах осуществления взаимодействие осуществляют в присутствии компонента органического растворителя, который содержит, например, ТГФ, этанол или их смесь. В некоторых вариантах осуществления диэтилцианометилфосфонат может быть добавлен к раствору 1,0 М *трет*-бутоксид калия в ТГФ при температуре от около 5 °C до около 25 °C. В некоторых вариантах осуществления молярные эквиваленты раствора *трет*-бутоксид калия в ТГФ к соединению **1c** составляют около 0,95. В некоторых вариантах осуществления молярные эквиваленты раствора *трет*-бутоксид калия в ТГФ к соединению **1c** составляют менее около 0,95 (например, около 0,94, около 0,93, около 0,92, около 0,91 или около 0,90). В некоторых вариантах осуществления соединение **1c** может быть растворено в смеси компонентов органических растворителей (например, этаноле и тетрагидрофуране). В некоторых вариантах осуществления к смеси, содержащей соединение **1c**, может быть добавлена смесь диэтилцианометилфосфоната и 1,0 М *трет*-бутоксид калия. В некоторых вариантах осуществления операция 4a дополнительно включает выделение продукта реакции с получением соединения **1x** после того, как реакция считается завершённой, например, методом ВЭЖХ. Выделение продукта реакции может включать добавление воды к реакционной смеси. Твердая фаза может быть собрана фильтрованием и промыта водой и *n*-гептаном. В некоторых вариантах осуществления твердая фаза может быть дополнительно повторно суспендирована в метил-*трет*-бутиловом эфире, собрана фильтрованием и промыта МТБЭ.

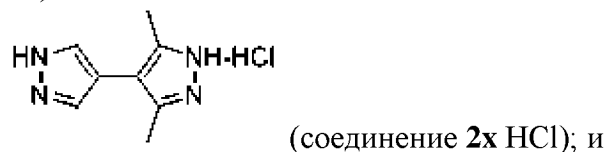
В некоторых вариантах осуществления способ получения свободного основания соединения **1** или его соли дополнительно включает получение соединения **1x**, причем соединение **1x** может быть получено способом, включающим взаимодействие соединения **1c** с диэтилцианометилфосфонатом в присутствии основания. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает получение соединения **1c**, при этом

соединение **1c** может быть получено способом, включающим взаимодействие соединения **1b** с диацетатом йодбензола и TEMPO. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает получение соединения **1b**, причем соединение **1b** может быть получено способом, включающим взаимодействие соединения **1a** с гидроклоридом азетидин-3-ола в присутствии DBU. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает получение соединения **1a**, при этом соединение **1a** может быть получено способом, включающим взаимодействие (2S)-1,1,1-трифторпропан-2-амин с 2,4,5-трифторбензоилхлоридом в присутствии основания.

В некоторых вариантах осуществления согласно настоящему изобретению предложен способ получения соединения **2x**, включающий:



2b) взаимодействие соединения **2b** с соляной кислотой с образованием



3b) взаимодействие соединения **2x HCl** с основанием с образованием соединения **2x**.

В операции **1b** соединение **2a** может быть подвержено химическому взаимодействию с 4-бром-3,5-диметилпиразолом с образованием соединения **2b**. В некоторых вариантах осуществления взаимодействие осуществляют в присутствии K_2HPO_4 , компонента растворителя и палладиевого комплекса. Например, компонент растворителя включает 1-пропанол, воду или их смесь. В некоторых вариантах осуществления комплекс палладия представляет собой [1,1'-бис(ди-трет-бутилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (Pd-118). В некоторых вариантах осуществления взаимодействие осуществляют при температуре от около 80°C до около 100°C или от около 90°C до около 100°C . Например, температура составляет около 90°C . В некоторых вариантах осуществления операция **1b** дополнительно включает выделение продукта реакции с получением соединения **2a**. Выделение продукта реакции может включать охлаждение реакционной смеси до около 17°C и разделение фаз. Органическая фаза может быть смешана с активированным углем, нагрета до около 70°C , перемешана в течение около 4 часов и охлаждена до около 21°C . Смесь, содержащая соединение **2a**, может быть отфильтрована через целит. В некоторых вариантах осуществления операция **1b** дополнительно включает смешивание неочищенного соединения **2a** с этилацетатом и

водным раствором NaHSO_3 , при этом полученную смесь нагревают от около 65°C до около 70°C в течение около 2,5 часов. Фазы могут быть разделены и органическая фаза может быть смешана с водным раствором NaHSO_3 , при этом полученную смесь нагревают от около 65°C до около 70°C в течение около 3,5 часов. Фазы могут быть разделены, и фаза, содержащая соединение **2a**, может быть очищена методом колоночной хроматографии с использованием этилацетата в качестве элюента. В некоторых вариантах осуществления очищенное соединение **2a** дополнительно смешивают с метилхлоридом и Si-тиолом, после чего полученную смесь фильтруют.

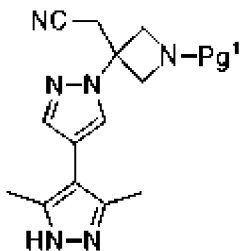
В операции 2b соединение **2b** может быть подвержено химическому взаимодействию с соляной кислотой с образованием соединения **2x** HCl . В некоторых вариантах осуществления взаимодействие осуществляют в присутствии компонента органического растворителя. Например, компонент органического растворителя включает 2-пропанол. В некоторых вариантах осуществления взаимодействие соединения **2b** с соляной кислотой осуществляют при температуре от около 50°C до около 75°C или от около 55°C до около 70°C . Например, температура составляет от около 60°C до около 65°C . В некоторых вариантах осуществления операция 2b дополнительно включает выделение продукта реакции с получением соединения **2b** после того, как реакция считается завершенной, например, методом ВЭЖХ. Например, реакционную смесь охлаждают до комнатной температуры и перемешивают в течение 1 часа. Твердая фаза соединения **2b** может быть собрана фильтрованием и промыта 2-пропанолом.

В операции 3b соединение **2x** HCl может быть подвержено химическому взаимодействию с основанием с образованием соединения **2x**. Настоящее изобретение также относится к способу получения соединения **2x**, включающему взаимодействие соединения **2x** HCl с основанием. Примеры оснований включают KOH , LiOH , K_2CO_3 , Na_2CO_3 и другие основания, которые могут нейтрализовать соединение **2x** HCl до его свободного основания. В некоторых вариантах осуществления основание представляет собой NaOH . В некоторых вариантах осуществления взаимодействие соединения **2x** HCl с основанием осуществляют при температуре от около 10°C до около 20°C или от около 15°C до около 20°C . Например, температура составляет от около 15°C до около 18°C . В некоторых вариантах осуществления операция 3b дополнительно включает выделение продукта реакции с получением соединения **2x** после завершения реакции. Например, твердая фаза соединения **2x** может быть собрана фильтрованием и промыта водой и *n*-гептаном.

В некоторых вариантах осуществления способ получения свободного основания соединения 1 или его соли дополнительно включает получение соединения **2x**, причем соединение **2x** может быть получено способом, включающим взаимодействие соединения **2x** HCl с основанием. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает получение соединения **2x** HCl , причем соединение **2x** HCl получают способом, включающим взаимодействие соединения **2b** с соляной кислотой. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает получение соединения **2b**, причем

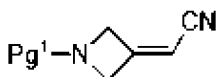
соединение **2b** получают способом, включающим взаимодействие соединения **2a** с 4-бром-3,5-диметилпиразолом.

В некоторых вариантах осуществления согласно настоящей заявке также предложен способ получения соединения формулы **A**:



A.

В некоторых вариантах осуществления способ получения соединения формулы **A** включает взаимодействие 3,5-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразола с соединением формулы **B**:



B

где Pg^1 представляет собой аминозащитную группу. В некоторых вариантах осуществления Pg^1 представляет собой *трет*-бутоксикарбонил.

В некоторых вариантах осуществления взаимодействие 3,5-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразола с соединением формулы **B** осуществляют в присутствии 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена.

В некоторых вариантах осуществления применяют менее 1 эквивалента 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена в пересчете на 1 эквивалент соединения формулы **B**.

В некоторых вариантах осуществления применяют от около 0,2 до около 0,3 эквивалента 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена в пересчете на 1 эквивалент соединения формулы **B**.

В некоторых вариантах осуществления применяют более около 1 эквивалента 3,5-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразола в пересчете на 1 эквивалент соединения формулы **B**.

В некоторых вариантах осуществления применяют от около 1,0 до около 2,0 эквивалентов 3,5-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразола в пересчете на 1 эквивалент соединения формулы **B**.

В некоторых вариантах осуществления применяют от около 1,0 до около 1,1 эквивалентов 3,5-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразола в пересчете на 1 эквивалент соединения формулы **B**.

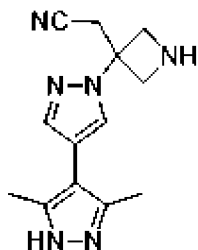
В некоторых вариантах осуществления применяют от около 1,0 до около 1,1 эквивалентов 3,5-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразола в пересчете на 1 эквивалент соединения формулы **B**.

В некоторых вариантах осуществления взаимодействие 3,5-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразола с соединением формулы **B** осуществляют при около комнатной температуре.

В некоторых вариантах осуществления взаимодействие 3,5-диметил-1H,1'H-4,4'-

бипиразола с соединением формулы **B** осуществляют в присутствии компонента растворителя. В некоторых вариантах осуществления компонент растворителя включает диметилсульфоксид. В некоторых вариантах осуществления компонент растворителя включает диметилсульфоксид и метиленхлорид.

В некоторых вариантах осуществления способ, предложенный в данном документе, дополнительно включает снятие защиты с соединения формулы **A** с образованием соединения формулы **C**:



C

или его соли.

В некоторых вариантах осуществления снятие защиты с соединения формулы **A** включает взаимодействие соединения формулы **A** в присутствии сильной кислоты (например, соляной кислоты).

В некоторых вариантах осуществления снятие защиты с соединения формулы **A** включает взаимодействие соединения формулы **A** в присутствии триалкилсилилгалогенида.

В некоторых вариантах осуществления триалкилсилилгалогенид представляет собой триметилсилилиодид.

В некоторых вариантах осуществления снятие защиты с соединения формулы **A** осуществляют в присутствии компонента растворителя. В некоторых вариантах осуществления компонент растворителя включает метиленхлорид. В некоторых вариантах осуществления компонент растворителя включает метиленхлорид и метанол.

В некоторых вариантах осуществления снятие защиты с соединения формулы **A** осуществляют при около комнатной температуре.

В некоторых вариантах осуществления способ, предложенный в данном документе, дополнительно включает взаимодействие соединения формулы **C** или его соли с основанием с образованием формы свободного основания соединения формулы **C**.

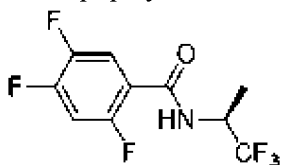
В некоторых вариантах осуществления способ, предложенный в данном документе, дополнительно включает взаимодействие соединения формулы **C** или его соли с аминовым основанием с образованием формы свободного основания соединения формулы **C**.

В некоторых вариантах осуществления основание представляет собой три(C₁₋₆ алкил)амин.

В некоторых вариантах осуществления основание представляет собой триэтиламин.

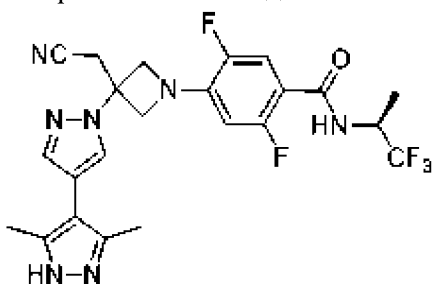
В некоторых вариантах осуществления взаимодействие соединения формулы **C** или его соли с аминовым основанием осуществляют в присутствии компонента растворителя. В некоторых вариантах осуществления компонент растворителя включает метиленхлорид.

В некоторых вариантах осуществления способ, предложенный в данном документе, дополнительно включает взаимодействие формы свободного основания соединения формулы **C** с соединением **1a**:



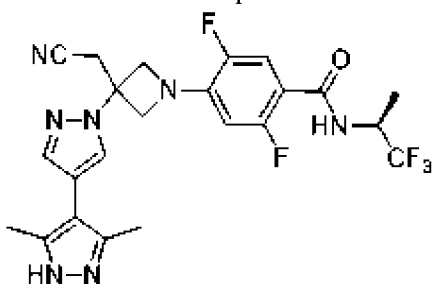
1a.

с образованием соединения **1**:



или его соли.

В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **C** в форме свободного основания взаимодействует с соединением **1a** в присутствии основания и галогенида щелочного металла с образованием соединения **1**:



или его соли.

В некоторых вариантах осуществления основание представляет собой бикарбонатное основание.

В некоторых вариантах осуществления основание представляет собой бикарбонат натрия.

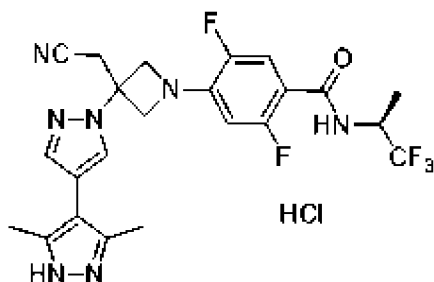
В некоторых вариантах осуществления галогенид щелочного металла представляет собой хлорид лития.

В некоторых вариантах осуществления взаимодействие формы свободного основания соединения Формулы **C** с Соединением **1a** осуществляют при температуре от около 80 °С до около 90 °С.

В некоторых вариантах осуществления взаимодействие формы свободного основания соединения формулы **C** с соединением **1a** осуществляют в присутствии компонента растворителя. В некоторых вариантах осуществления компонент растворителя включает диметилсульфоксид. В некоторых вариантах осуществления компонент растворителя включает диметилсульфоксид и изопропилацетат.

В некоторых вариантах осуществления способ, предложенный в данном документе, дополнительно включает взаимодействие соединения **1** с сильной кислотой с образованием формы соли соединения **1**.

В некоторых вариантах осуществления способ, предложенный в данном документе, дополнительно включает взаимодействие соединения **1** с соляной кислотой с образованием соли соляной кислоты соединения **1**:



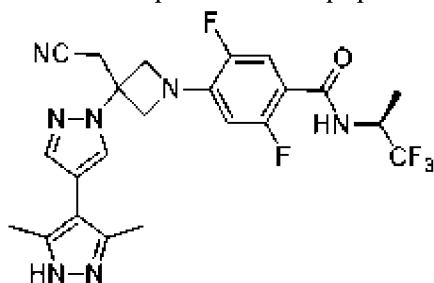
В некоторых вариантах осуществления применяют более 1 эквивалента соляной кислоты в пересчете на 1 эквивалент соединения **1**.

В некоторых вариантах осуществления взаимодействие соединения **1** с соляной кислотой осуществляют при около комнатной температуре.

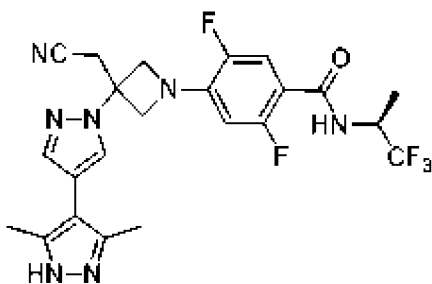
В некоторых вариантах осуществления соляная кислота представляет собой спиртовой раствор соляной кислоты.

В некоторых вариантах осуществления соляная кислота представляет собой раствор соляной кислоты в изопропанол.

В некоторых вариантах осуществления способ, предложенный в данном документе, дополнительно включает взаимодействие соли соляной кислоты соединения **1** с основанием с образованием формы свободного основания соединения **1**:



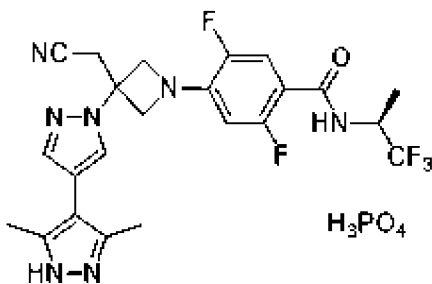
В некоторых вариантах осуществления способ, предложенный в данном документе, дополнительно включает взаимодействие соли соляной кислоты соединения **1** с бикарбонатным основанием с образованием формы свободного основания соединения **1**:



В некоторых вариантах осуществления основание представляет собой бикарбонат калия.

В некоторых вариантах осуществления бикарбонат калия представляет собой водный раствор бикарбоната калия.

В некоторых вариантах осуществления способ, предложенный в данном документе, дополнительно включает взаимодействие формы свободного основания соединения 1 с фосфорной кислотой с образованием соли фосфорной кислоты соединения 1:



Способ по п. 69, в котором взаимодействие формы свободного основания соединения 1 с фосфорной кислотой осуществляют при около комнатной температуре.

В некоторых вариантах осуществления взаимодействие формы свободного основания соединения 1 с фосфорной кислотой осуществляют в присутствии компонента растворителя. В некоторых вариантах осуществления компонент растворителя включает воду. В некоторых вариантах осуществления компонент растворителя включает воду и изопропиловый спирт.

В некоторых вариантах осуществления способ, предложенный в данном документе, дополнительно включает выделение соли фосфорной кислоты соединения 1.

В некоторых вариантах осуществления соль фосфорной кислоты соединения 1 выделяют перекристаллизацией.

В некоторых вариантах осуществления соль фосфорной кислоты соединения 1 выделяют перекристаллизацией из компонента растворителя, включающего метанол.

В некоторых вариантах осуществления соль фосфорной кислоты соединения 1 выделяют перекристаллизацией из компонента растворителя, включающего изопропанол.

В некоторых вариантах осуществления соль фосфорной кислоты соединения 1 выделяют перекристаллизацией из компонента растворителя, включающего метилциклогексан.

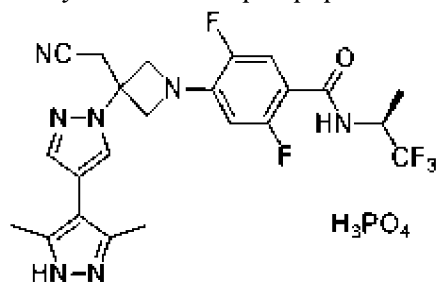
В некоторых вариантах осуществления соль фосфорной кислоты соединения 1

выделяют перекристаллизацией из компонента растворителя, включающего один или большее количество из метанола, изопропанола и метилциклогексана.

В некоторых вариантах осуществления соль фосфорной кислоты соединения 1 выделяют перекристаллизацией из компонента растворителя, включающего метанол, изопропанол и метилциклогексан.

В некоторых вариантах осуществления соль фосфорной кислоты соединения 1 выделяют перекристаллизацией из компонента растворителя, включающего метанол, изопропанол и метилциклогексан; и последующей перекристаллизацией из компонента растворителя, включающего метанол и изопропанол.

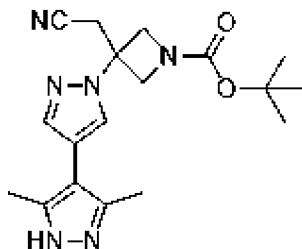
В некоторых вариантах осуществления согласно настоящей заявке предложен способ получения соли фосфорной кислоты соединения 1, включающий:



Соль фосфорной кислоты соединения 1

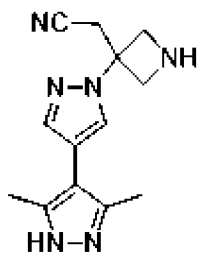
включающий:

взаимодействие 3,5-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразола с *tert*-бутил-3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилатом в присутствии 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена с образованием соединения формулы **A-1**:



A-1;

снятие защиты с соединения формулы **A-1** с образованием соединения формулы **C-1**:



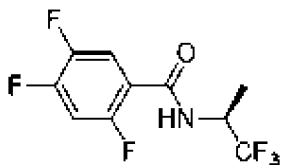
C-1

или его соли;

взаимодействие соединения формулы **C-1** с триэтиламино с образованием формы

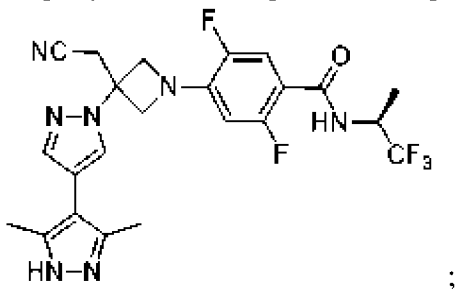
свободного основания соединения формулы **C-1**;

взаимодействие формы свободного основания соединения формулы **C-1** с соединением **1a**:

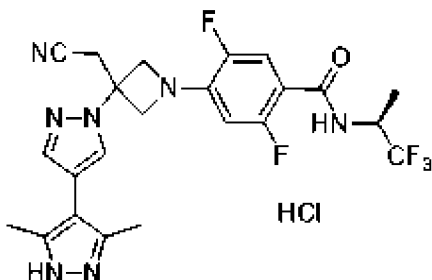


1a

в присутствии бикарбоната натрия и хлорида лития с образованием соединения **1**:



взаимодействие соединения **1** с соляной кислотой с образованием соли соляной кислоты соединения **1**:



взаимодействие соли соляной кислоты соединения **1** с бикарбонатом калия с образованием формы свободного основания соединения **1**; и

взаимодействие формы свободного основания соединения **1** с фосфорной кислотой с образованием соли фосфорной кислоты соединения **1**.

В некоторых вариантах осуществления согласно настоящему изобретению предложено соединение, которое представляет собой 3,5-диметил-1H,1'H-[4,4']бипиразолил (соединение **2x**), 3,5-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразола гидрохлорид (соединение **2x** HCl), 1-(1-этоксиэтил)-3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол (соединение **2b**) или 1-(1-этоксиэтил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол (соединение **2a**) или соль любого из вышеуказанных.

В некоторых вариантах осуществления согласно настоящему изобретению предложено соединение, которое представляет собой 3,5-диметил-1H,1'H-[4,4']бипиразолил (соединение **2x**) или его соль.

В некоторых вариантах осуществления согласно настоящему изобретению предложено соединение, которое представляет собой (S)-4-(3-(цианометилен)азетидин-1-ил)-2,5-дифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамид (соединение **1x**), (S)-2,5-дифтор-4-

(3-оксоазетидин-1-ил)-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамид (соединение **1c**), (S)-2,5-дифтор-4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамид (соединение **1b**) или (S)-2,4,5-трифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамид (соединение **1a**) или соль любого из вышеуказанных.

В контексте данного документа термин «около» относится к плюс или минус 10% значения.

В контексте данного документа термин «взаимодействие» применяется так, как это известно в данной области, и, как правило, относится к объединению химических реагентов таким образом, чтобы обеспечить их взаимодействие на молекулярном уровне для достижения химического или физического преобразования. В некоторых вариантах осуществления взаимодействие включает по меньшей мере два реагента. В некоторых вариантах осуществления стадия взаимодействия или операция способа синтеза может включать одно или большее количество веществ в дополнение к реагентам, таким как растворитель и/или катализатор. Стадии взаимодействия или операции способов, описанных в данном документе, могут проводиться в течение времени и в условиях, подходящих для получения идентифицированного продукта. Термины «объединение» и «смешивание» по отношению к реагентам химической реакции применяются взаимозаменяемо с термином «взаимодействие» в данном документе. Термин «сочетание» также может рассматриваться как взаимозаменяемый с «взаимодействием», но может использоваться в связи со стадией взаимодействия или операцией, которая включает сшивание двух органических фрагментов.

Способы, описанные в данном документе, можно контролировать в соответствии с любым подходящим способом, известным в данной области. Например, образование продукта можно контролировать спектроскопическими способами, а именно спектроскопией ядерного магнитного резонанса (например, ^1H или ^{13}C), инфракрасной спектроскопией или спектрофотометрией (например, в УФ-области) или масс-спектрометрией; или хроматографией, например, высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ) или тонкослойной хроматографией. Соединения, полученные в результате химических взаимодействий, очищают любым подходящим способом, известным в данной области. Например, хроматографией (при среднем давлении) на подходящем адсорбенте (например, силикагеле, оксиде алюминия и аналогичных адсорбентах), ВЭЖХ или препаративной тонкослойной хроматографией; перегонкой; сублимацией, растиранием или перекристаллизацией. Чистоту соединений, как правило, определяют физическими методами, например, измерением температуры плавления (в случае твердой фазы), получением ЯМР-спектра или проведением разделения методом ВЭЖХ. Можно считать, что соединение является очищенным, если температура плавления снижается, если нежелательные сигналы в спектре ЯМР уменьшаются или если исчезают посторонние пики в кривой ВЭЖХ. В некоторых вариантах осуществления соединения являются по существу очищенными.

Получение соединений может включать защиту и снятие защиты с различных

химических групп. Специалист в данной области легко определит необходимость защиты или снятия защиты, а также сделает выбор соответствующих защитных групп. Химия защитных групп представлена, например, в публикации Wuts and Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th Ed., John Wiley & Sons: New York, 2006, которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

Химические взаимодействия для способов, описанных в данном документе, осуществляют при подходящих температурах, которые легко определит специалист в данной области. Температуры реакций будут зависеть, например, от температур плавления и кипения реагентов и растворителя, при его наличии; термодинамики реакции (например, для сильно экзотермических реакций могут потребоваться пониженные температуры); и кинетики реакции (например, при высоком барьере энергии активации могут потребоваться повышенные температуры). «Повышенная температура» относится к температурам выше комнатной температуры (около 22 °C).

Химические взаимодействия для способов, описанных в данном документе, можно осуществлять в подходящих растворителях, которые могут быть легко выбраны специалистом в области органического синтеза. Подходящие растворители могут быть по существу инертными по отношению к исходным веществам (реагентам), промежуточным соединениям или продуктам при температурах проведения реакций, т. е. при температурах, которые могут находиться в диапазоне от температуры замерзания растворителя до температуры кипения растворителя. Данное взаимодействие может быть осуществлено в одном растворителе или смеси более чем одного растворителя. В зависимости от стадии реакции может(гут) быть выбран(ы) подходящий(ие) растворитель(и) для этой конкретной стадии реакции. Подходящие растворители включают в себя воду, алканы (например, пентаны, гексаны, гептаны, циклогексан и аналогичные алканы или их смесь), ароматические растворители (например, бензол, толуол, ксилол и аналогичные растворители), спирты (например, метанол, этанол, изопропанол и аналогичные спирты), простые эфиры (например, диалкилэфиры, метил-*трет*-бутиловый эфир (МТБЭ), тетрагидрофуран (ТГФ), диоксан и аналогичные эфиры), сложные эфиры (например, этилацетат, бутилацетат и аналогичные эфиры), галогенированные углеводородные растворители (например, дихлорметан (ДХМ), хлороформ, дихлорэтан, тетрахлорэтан), диметилформамид (ДМФА), диметилсульфоксид (ДМСО), ацетон, ацетонитрил (АЦН), гексаметилфосфорамид (ГМФА) и N-метилпирролидон (НМП). Такие растворители могут применяться во влажной либо в безводной форме.

Разделение рацемических смесей соединений можно проводить любым из многочисленных способов, известных в данной области. Например, разделение рацемических смесей может быть проведено элюированием на колонке, содержащей оптически активный разделяющий агент (например, динитробензоилфенилглицин). Подходящий состав растворителей для элюирования может быть определен специалистом в данной области.

Способы

Соединения, предложенные в данном документе (например, свободное основание соединения 1 и соль фосфорной кислоты соединения 1), являются ингибиторами JAK, более конкретно, селективными ингибиторами JAK1. Селективный ингибитор JAK1 представляет собой соединение, которое ингибирует активность JAK1 преимущественно по сравнению с другими Янус-киназами. Например, предложенные в данном документе соединения предпочтительно ингибируют JAK1 по сравнению с одним или более из JAK2, JAK3 и TYK2. В некоторых вариантах осуществления соединения ингибируют JAK1 преимущественно по сравнению с JAK2 (например, имеют $IC_{50} > 1$ для соотношения JAK2/JAK1). В некоторых вариантах осуществления соединения приблизительно в 10 раз более селективны в отношении JAK1, по сравнению с JAK2. В некоторых вариантах осуществления соединения приблизительно в 3 раза, приблизительно в 5 раз, приблизительно в 10 раз, приблизительно в 15 раз или приблизительно в 20 раз более селективны в отношении JAK1, по сравнению с JAK2, что вычисляют посредством измерения IC_{50} при 1 мМ АТФ (например, см. пример А).

JAK1 играет центральную роль в ряде сигнальных путей цитокинов и факторов роста, которые, при дисрегуляции, могут привести к или способствовать болезненным состояниям. Например, уровни IL-6 повышены при ревматоидном артрите, заболевании, при котором он предположительно оказывает пагубное действие (Fonesca, J.E. et al., *Autoimmunity Reviews*, 8:538-42, 2009). Поскольку IL-6 передает сигнал, по меньшей мере частично, через JAK1, то прямое или косвенное антагонизирование IL-6 посредством ингибирования JAK1 предположительно обеспечит клиническое преимущество (Guschin, D., N., et al *Embo J* 14:1421, 1995; Smolen, J. S., et al. *Lancet* 371:987, 2008). Более того, в некоторых видах рака JAK1 является мутированной, что приводит к существенному нежелательному росту и выживанию клеток опухоли (Mullighan CG, *Proc Natl Acad Sci U S A*.106:9414-8, 2009; Flex E., et al. *J Exp Med*. 205:751-8, 2008). При других аутоиммунных заболеваниях и раке повышенные системные уровни воспалительных цитокинов, которые активируют JAK1, также могут способствовать заболеванию и/или сопутствующим симптомам. Следовательно, у пациентов с такими заболеваниями может быть полезно ингибирование JAK1. Селективные ингибиторы JAK1 могут быть эффективными, избегая ненужных и потенциально нежелательных эффектов ингибирования других JAK-киназ.

Селективные ингибиторы JAK1, по сравнению с другими JAK-киназами, могут иметь множественные терапевтические преимущества, по сравнению с менее селективными ингибиторами. В отношении селективности против JAK2, ряд важных цитокинов и факторов роста передают сигнал через JAK2, включая, например, эритропоэтин (Еро) и тромбопоэтин (Тро) (Parganas E, et al. *Cell*. 93:385-95, 1998). Еро представляет собой ключевой фактор роста для продуцирования красных кровяных телец; поэтому недостаточность Еро-зависимой передачи сигналов может привести к пониженному количеству красных кровяных телец и анемии (Kaushansky K, *NEJM* 354:2034-45, 2006). Тро, другой пример JAK2-зависимого фактора роста, играет

центральную роль в контроле пролиферации и созревании мегакариоцитов - клеток, из которых вырабатываются тромбоциты (Kaushansky K, NEJM 354:2034-45, 2006). Поэтому пониженная передача сигналов Тpo снижает количество мегакариоцитов (мегакариоцитопения) и понижает количество циркулирующих тромбоцитов (тромбоцитопения). Это может привести к нежелательному и/или неконтролируемому кровотечению. Также может быть желательным пониженное ингибирование других JAK, таких как JAK3 и Tyk2, поскольку было показано, что люди с недостатком функциональной версии этих киназ страдают от ряда заболеваний, таких как сложный комбинированный иммунодефицит или синдром гипериммуноглобулина E (Minegishi, Y, et al. Immunity 25:745-55, 2006; Macchi P, et al. Nature. 377:65-8, 1995). Поэтому ингибитор JAK1 с пониженным сродством к другим JAK обладает существенными преимуществами, по сравнению с менее селективным ингибитором в отношении пониженного количества побочных эффектов, включающих подавление иммунитета, анемию и тромбоцитопению.

Другой аспект настоящего изобретения относится к способам лечения заболевания или расстройства, связанного с JAK, у индивида (например, пациента) путем введения индивиду, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества или дозы соединения по настоящему изобретению или его фармацевтической композиции. Заболевание, связанное с JAK, может включать в себя любое заболевание, расстройство или патологическое состояние, которое прямо или косвенно связано с экспрессией или активностью JAK, включая сверхэкспрессию и/или аномальные уровни активности. Заболевание, связанное с JAK, может также включать в себя любое заболевание, расстройство или патологическое состояние, которое можно предотвратить, ослабить или вылечить модулированием активности JAK.

Примеры связанных с JAK заболеваний включают заболевания, затрагивающие иммунную систему, включая, например, отторжение трансплантата органа (например, отторжение аллотрансплантата и заболевание «трансплантат против хозяина»).

Дополнительные примеры связанных с JAK заболеваний включают аутоиммунные заболевания, например, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, ювенильный артрит, псориаз, диабет I типа, волчанку, псориаз, воспалительную болезнь кишечника, неспецифический язвенный колит, болезнь Крона, миастению гравис, иммуноглобулиновые нефропатии, миокардит, аутоиммунные нарушения щитовидной железы, хроническую обструктивную болезнь легких (COPD) и аналогичные заболевания. В некоторых вариантах осуществления, аутоиммунное заболевание представляет собой аутоиммунное буллезное расстройство кожи, например, вульгарную пузырчатку (PV) или буллезный пемфигоид (BP).

Дополнительные примеры связанных с JAK заболеваний включают аллергические состояния, например, астму, пищевые аллергии, экзематозный дерматит, контактный дерматит, атопический дерматит (атопическую экзему) и риниты. Дополнительные примеры связанных с JAK заболеваний включают вирусные заболевания, например, вирус Эпштейн-Барра (EBV), вирус гепатита В, гепатита С, ВИЧ, лимфотропный вирус человека

типа 1 (HTLV 1), вирус ветряной оспы (VZV) и вирус папилломы человека (HPV).

Дополнительные примеры связанных с JAK заболеваний включают заболевания, связанные с обновлением хрящей, например, подагрический артрит, септический или инфекционный артрит, реактивный артрит, рефлекторную симпатическую дистрофию, альгодистрофию, синдром Титце, реберную атропатию, деформирующий эндемический остеоартрит, болезнь Мселини, болезнь Хандигоду, дегенерацию в результате фибромиалгии, системную красную волчанку, склеродермию или анкилозирующий спондилоартрит.

Дополнительные примеры связанных с JAK заболеваний включают врожденные дефекты хряща, включая следственный хондролиз, хондродисплазию и псевдохондродисплазию (например, микротию, энотию и метафизарную хондродисплазию).

Дополнительные примеры связанных с JAK заболеваний или состояний включают кожные расстройства, например, псориаз (например, обыкновенный псориаз), атопический дерматит, кожные высыпания, раздражение кожи, сенсibilизацию кожи (например, контактный дерматит или аллергический контактный дерматит). Например, некоторые вещества, включая некоторые фармацевтические препараты, при местном применении могут вызывать сенсibilизацию кожи. В некоторых вариантах осуществления, совместное введение или последовательное введение по меньшей мере одного ингибитора JAK по настоящему изобретению вместе с агентом, вызывающим нежелательную сенсibilизацию, может быть полезным для лечения такой нежелательной сенсibilизации или дерматита. В некоторых вариантах осуществления кожное расстройство лечат местным нанесением по меньшей мере одного ингибитора JAK по настоящему изобретению.

В дополнительных вариантах осуществления связанные с JAK заболевания или состояния включают те, которые характеризуются солидными опухолями (например, рак простаты, рак почки, рак печени, рак поджелудочной железы, рак желудка, рак молочной железы, рак легких, рак головы и шеи, рак щитовидной железы, глиобластома, саркома Капоши, болезнь Кастлеме, маточная лейомиосаркома, меланома и так далее), гематологические виды рака (например, лимфома, лейкоз, например, острый лимфобластный лейкоз (ALL), острый миелогенный лейкоз (AML) или множественная миелома) и рак кожи, например, лимфома Т-клеток кожи (CTCL) и лимфома В-клеток кожи. Примеры CTCL включают синдром Сезари и грибовидный микоз.

В некоторых вариантах осуществления ингибиторы JAK, описанные в данном документе, или в комбинации с другими ингибиторами JAK, такими как те, о которых сообщается в публикации США № 20070135461, которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки, может быть использован для лечения рака, связанного с воспалением. В некоторых вариантах осуществления рак связан с воспалительной болезнью кишечника. В некоторых вариантах осуществления воспалительная болезнь кишечника представляет собой неспецифический язвенный

колит. В некоторых вариантах осуществления воспалительная болезнь кишечника представляет собой болезнь Крона. В некоторых вариантах осуществления воспалительная болезнь кишечника представляет собой рак, связанный с колитом. В некоторых вариантах осуществления рак, связанный с колитом, представляет собой рак ободочной кишки или колоректальный рак. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой желудочный рак, желудочно-кишечную карциноидную опухоль, желудочно-кишечную стромальную опухоль (GIST), аденокарциному, рак тонкой кишки или ректальный рак.

Связанные с JAK заболевания могут дополнительно включать заболевания, которые характеризуются экспрессией: мутантов JAK2, например, мутантов, имеющих по меньшей мере одну мутацию в домене псевдо-киназы (например, JAK2V617F); мутантов JAK2, имеющих по меньшей мере одну мутацию за пределами домена псевдо-киназы; мутантов JAK1; мутантов JAK3; мутантов рецептора эритропоэтина (EPOR); или нарушение регуляции экспрессии CRLF2.

Связанные с JAK заболевания могут дополнительно включать миелопролиферативные расстройства (MPD), например, истинную полицитемию (PV), эссенциальную тромбоцитемию (ET), миелоидную метаплазию с миелофиброзом (MMM), первичный миелофиброз (PMF), хронический миелолейкоз (CML), хронический миеломоноцитарный лейкоз (CMML), гиперэозинофильный синдром (HES), системный мастоцитоз (SMCD) и аналогичные заболевания. В некоторых вариантах осуществления миелопролиферативное расстройство представляет собой миелофиброз (например, первичный миелофиброз (PMF) или миелофиброз после истинной полицитемии/эссенциальной тромбоцитемии (Post-PV/Post-ET MF)). В некоторых вариантах осуществления миелопролиферативное расстройство представляет собой миелофиброз после эссенциальной тромбоцитемии (Post-ET MF). В некоторых вариантах осуществления миелопролиферативное расстройство представляет собой миелофиброз после истинной полицитемии (Post-PV MF).

В некоторых вариантах осуществления ингибиторы JAK, описанные в данном документе, можно также применять для лечения миелодиспластического синдрома (MDS) у пациента, нуждающегося в этом. В некоторых вариантах осуществления указанный пациент зависит от переливания эритроцитов.

В контексте данного документа термин «миелодиспластические синдромы» охватывает гетерогенные и клональные гемопоэтические расстройства, которые характеризуются неэффективным гемопоэзом в одной или большем количестве основных миелоидных последовательностях клеточных поколений. Миелодиспластические синдромы связаны с недостаточностью костного мозга, цитопенией периферической крови и склонностью к прогрессированию острого миелоидного лейкоза (AML). Более того, клональные цитогенетические аномалии могут быть выявлены в около 50% случаев MDS. В 1997 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) совместно с Обществом гематопатологов (Society for Hematopathology, SH) и Европейской ассоциацией

гематопатологов (European Association of Hematopathology, EАHP) предложила новые классификации гемопоэтических новообразований (Harris, et al., J Clin Oncol 1999;17:3835-3849; Vardiman, et al., Blood 2002;100:2292-2302). Для MDS ВОЗ использовала не только морфологические критерии франко-американо-британской (FAB) классификации, но также включила доступные генетические, биологические и клинические характеристики для определения подмножеств MDS (Bennett, et al., Br J Haematol 1982;51:189-199). В 2008 году классификацию ВОЗ для MDS (таблица 1) дополнительно уточнили, чтобы обеспечить точную и прогностически значимую подклассификацию однолинейной дисплазии посредством включения новой клинической и научной информации (Vardiman, et al., Blood 2009;114:937-951; Swerdlow, et al., WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th Edition. Lyon France: IARC Press; 2008:88-103; Bunning and Germing, «Myelodysplastic syndromes/neoplasms» in Chapter 5, Swerdlow, et al, eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. (ed. 4th edition): Lyon, France: IARC Press;2008:88-103).

Таблица 1. Классификация ВОЗ 2008 г. для впервые обнаруженного миелодиспластического синдрома

Подтип	Кровь	Костный мозг
Рефрактерная цитопения с однолинейной дисплазией (RCUD)	Одиночная или бицитопения	Дисплазия в $\geq 10\%$ 1 клеточной линии, $< 5\%$ бластов
Рефрактерная анемия с кольцевидными сидеробластами (RARS)	Анемия без бластов	$\geq 15\%$ эритроидных предшественников w/кольцевидных сидеробластов, только эритроидная дисплазия, $< 5\%$ бластов
Рефрактерная цитопения с многолинейной дисплазией	Цитопения(и), $< 1 \times 10^9/\text{л}$ моноциты	Дисплазия в $\geq 10\%$ клеток в ≥ 2 ростках кроветворения, $\pm 15\%$ кольцевых сидеробластов, $< 5\%$ бластов
Рефрактерная анемия с избытком бластов-1 (RAEB-1)	Цитопения(и), от $\leq 2\%$ до 4% бластов, $< 1 \times 10^9/\text{л}$ моноциты	Однолинейная или мультилинейная дисплазия, отсутствие палочек Ауэра, от 5% до 9% бластов
Рефрактерная анемия с избытком бластов-2 (RAEB-2)	Цитопения(и), от $\leq 5\%$ до 19% бластов, $< 1 \times 10^9/\text{л}$ моноциты	Однолинейная или мультилинейная дисплазия, \pm палочки Ауэра, от 10% до

		19% бластов
Миелодиспластический синдром, неклассифицированный (MDS-U)	Цитопении	Однолинейность или отсутствие дисплазии, но характерная цитогенетика MDS, < 5% бластов
MDS, связанный с изолированной del(5q)	Анемия, тромбоциты в норме или повышенные	Однолинейный эритроид. Изолированный del(5q), < 5% бластов

В некоторых вариантах осуществления миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную цитопению с однолинейной дисплазией (RCUD).

В некоторых вариантах осуществления миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную анемию с кольцевидными сидеробластами (RARS).

В некоторых вариантах осуществления миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную цитопению с однолинейной дисплазией.

В некоторых вариантах осуществления миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную анемию с избытком бластов-1 (RAEB-1).

В некоторых вариантах осуществления миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную анемию с избытком бластов-2 (RAEB-2).

В некоторых вариантах осуществления миелодиспластический синдром представляет собой неклассифицированный миелодиспластический синдром (MDS-U).

В некоторых вариантах осуществления миелодиспластический синдром представляет собой миелодиспластический синдром, связанный с изолированным del(5q).

В некоторых вариантах осуществления миелодиспластический синдром устойчив к агентам, стимулирующим эритропоэз.

Согласно настоящему изобретению также предложены способы лечения псориаза или других кожных заболеваний посредством введения состава для местного применения, содержащего соединение, предложенное в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления ингибиторы JAK, описанные в данном документе, можно применять для лечения легочной артериальной гипертензии.

Согласно настоящему изобретению также предложен способ лечения дерматологических побочных эффектов других фармацевтических препаратов посредством введения соединения, предложенного в данном документе. Например, многочисленные фармацевтические средства вызывают нежелательные аллергические реакции, которые могут проявляться в виде угревой сыпи или родственного дерматита. Примеры фармацевтических средств, которые имеют такие нежелательные побочные эффекты, включают противораковые лекарства, например, гефитиниб, цетуксимаб, эрлотиниб и аналогичные лекарства. Соединения, предложенные в данном документе, могут быть введены системно или местно (например, локально в области дерматита) в комбинации с (например, одновременно или последовательно) фармацевтическим

средством, имеющим нежелательный дерматологический побочный эффект. В некоторых вариантах осуществления, соединение, предложенное в данном документе, может быть введено местно вместе с одним или большим количеством другими фармацевтическими средствами, причем другие фармацевтические средства при местном применении без соединения, предложенного в данном документе, вызывают контактный дерматит, аллергическую контактную сенсibilизацию или похожие кожные расстройства. Соответственно, композиции по настоящему изобретению включают местные композиции, содержащие соединение, предложенное в данном документе, а также фармацевтическое средство, которое может вызывать дерматит, кожные расстройства или родственные побочные эффекты.

Дополнительные связанные с JAK заболевания включают воспаление и воспалительные заболевания. Примеры воспалительных заболеваний включают саркоидоз, воспалительные заболевания глаз (например, ирит, увеит, склерит, конъюнктивит или родственные заболевания), воспалительные заболевания дыхательных путей (например, верхних дыхательных путей, включая нос и пазухи, например, ринит или синусит, или нижних дыхательных путей, включая бронхит, хроническую обструктивную болезнь легких и аналогичные заболевания), воспалительную миопатию, например, миокардит, и другие воспалительные заболевания. В некоторых вариантах осуществления воспалительное заболевание глаз представляет собой блефарит.

Ингибиторы JAK, описанные в данном документе, можно также применять для лечения ишемических реперфузионных повреждений или заболеваний или состояний, связанных с воспалительным ишемическим событием, таким как инсульт или остановка сердца. Ингибиторы JAK, описанные в данном документе, можно также применять для лечения болезненных состояний, вызванных эндотоксинами (например, осложнений после операции шунтирования или хронических эндотоксиновых состояний, способствующих хронической сердечной недостаточности). Ингибиторы JAK, описанные в данном документе, можно также применять для лечения анорексии, кахексии или утомления, например, возникающих в результате рака или связанных с ним. Ингибиторы JAK, описанные в данном документе, можно также применять для лечения рестеноза, склеродермита или фиброза. Ингибиторы JAK, описанные в данном документе, можно также применять для лечения состояний, связанных с гипоксией или астроглиозом, например, диабетической ретинопатии, рака или нейродегенерации. См., например, публикации Dudley, A.C. et al. *Biochem. J.* 2005, 390(Pt 2):427-36 и Sriram, K. et al. *J. Biol. Chem.* 2004, 279(19):19936-47. Epub 2004 Mar 2, которые включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки. Ингибиторы JAK, описанные в данном документе, можно применять для лечения болезни Альцгеймера.

Ингибиторы JAK, описанные в данном документе, можно также применять для лечения других воспалительных заболеваний, таких как синдром системной воспалительной реакции (SIRS) и септический шок.

Ингибиторы JAK, описанные в данном документе, можно также применять для

лечения подагры и увеличения размера предстательной железы, например, вследствие доброкачественной гипертрофии предстательной железы или доброкачественной гиперплазии предстательной железы.

Другие заболевания, связанные с JAK, включают заболевания, связанные с резорбцией кости, например, остеопороз, остеоартрит. Резорбция кости также может быть связана с другими состояниями, такими как гормональный дисбаланс и/или гормональная терапия, аутоиммунное заболевание (например, костный саркоидоз) или рак (например, миелома). Уменьшение резорбции кости из-за ингибиторов JAK может составлять около 10%, около 20%, около 30%, около 40%, около 50%, около 60%, около 70%, около 80% или около 90%.

В некоторых вариантах осуществления ингибиторы JAK, описанные в данном документе, можно также применять для лечения болезни сухих глаз. В контексте данного документа термин «болезнь сухих глаз» охватывает болезненные состояния, обобщенные в недавно опубликованном официальном отчете Международного семинара по синдрому сухого глаза (DEWS), в котором сухость глаз определена как «многофакторное заболевание выделения слез и поверхности глаз, которое приводит к симптомам дискомфорта, нарушения зрения и нестабильности слезной пленки с потенциальным повреждением поверхности глаз. Оно сопровождается повышенной осмолярностью 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, содержание которого включено в данный документ в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления болезнь сухих глаз выбрана из болезни сухих глаз, связанной с дефицитом водянистых слез (ADDE), или болезни сухих глаз в результате испарения, или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления болезнь сухих глаз представляет собой синдром сухого глаза Шегре (SSDE). В некоторых вариантах осуществления болезнь сухих глаз не представляет собой синдром сухого глаза Шегре (NSSDE).

В еще одном аспекте согласно настоящему изобретению предложен способ лечения конъюнктивита, увеита (включая хронический увеит), хориодита, ретинита, циклита, склерита, эписклерита или ирита; лечение воспаления или боли, связанной с трансплантацией роговицы, LASIK (лазерный кератомилез in situ), фоторефракционная кератэктомия или LASEK (лазерный субэпителиальный кератомилез); подавление потери остроты зрения, связанной с трансплантацией роговицы, LASIK, фоторефрактивной кератэктомией или LASEK; или ингибирование отторжения трансплантата у нуждающегося в этом пациента, включающее введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения, предложенного в данном документе, или его фармацевтически приемлемой соли.

Кроме того, соединения, предложенные в данном документе, или в комбинации с другими ингибиторами JAK, например, описанными в публикации США с серийным №

11/637,545, которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки, можно применять для лечения дыхательной дисфункции или недостаточности, связанной с вирусной инфекцией, такой как грипп и атипичная пневмония.

В некоторых вариантах осуществления согласно настоящему изобретению предложено свободное основание соединения 1 и соль фосфорной кислоты соединения 1, как описано в любом из вариантов осуществления в данном документе, для применения в способе лечения любого из заболеваний или нарушений, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления согласно настоящему изобретению предложено свободное основание соединения 1 и соль фосфорной кислоты соединения 1, как описано в любом из вариантов в данном документе, для применения в способе лечения любого из заболеваний или нарушений, описанных в данном документе.

В некоторых вариантах осуществления согласно настоящему изобретению предложено свободное основание соединения 1 и соль фосфорной кислоты соединения 1, как описано в данном документе, или его фармацевтически приемлемая соль для применения в способе модулирования JAK1. В некоторых вариантах осуществления согласно настоящему изобретению предложено свободное основание соединения 1 и соль фосфорной кислоты соединения 1, как описано в данном документе, или его фармацевтически приемлемая соль для приготовления лекарственного средства для применения в способе модулирования JAK1.

В контексте данного документа термин «приведение в контакт» относится к объединению указанных фрагментов в системе *in vitro* или в системе *in vivo*. Например, «приведение в контакт» JAK с соединением, предложенным в данном документе, включает в себя введение соединения по настоящему изобретению индивиду или пациенту, например, человеку, имеющему JAK, а также, например, введение соединения, предложенного в данном документе, в образец, содержащий клеточный или очищенный препарат, содержащий JAK.

В контексте данного документа термины «индивид» или «пациент», используемые взаимозаменяемо, относятся к любому животному, включая млекопитающих, предпочтительно мышей, крыс, других грызунов, кроликов, собак, кошек, свиней, крупный рогатый скот, овец, лошадей или приматов и наиболее предпочтительно людей.

В контексте данного документа фраза «терапевтически эффективное количество» относится к количеству активного соединения или фармацевтического средства, которое вызывает биологический или медицинский отклик в ткани, системе, животном, индивиде или человеке, необходимый исследователю, ветеринару, врачу или другому клиницисту. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество составляет от около 5 мг до около 1000 мг или от около 10 мг до около 500 мг.

В контексте данного документа термин «лечить» или «лечение» относится к одному или более из (1) ингибирования заболевания; например, ингибированию заболевания, патологического состояния или расстройства у индивида, который страдает от или демонстрирует признаки патологии или симптоматиологии заболевания,

патологического состояния или расстройства (т. е. прекращение дальнейшего развития патологии и/или симптоматологии); и (2) ослаблению заболевания; например, ослаблению заболевания, патологического состояния или расстройства у индивида, который страдает от или демонстрирует признаки патологии или симптоматологии заболевания, патологического состояния или расстройства (т. е. обратное развитие патологии и/или симптоматологии), а именно уменьшению тяжести заболевания.

В контексте данного документа термин «профилактика» или «предотвращение» относится, например, к предотвращению заболевания, состояния или расстройства у индивида, который может быть предрасположен к заболеванию, состоянию или расстройству, но еще не испытывает или не проявляет патологию или симптоматику болезни.

Виды комбинированной терапии

Описанные в данном документе способы могут дополнительно включать введение одного или большего количества дополнительных терапевтических средств. Одно или большее количество дополнительных терапевтических средств может быть введено пациенту одновременно или последовательно.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение дополнительного терапевтического средства, выбранного из IMiD, средства против IL-6, средства против TNF- α , гипометилирующего средства и модификатора биологического ответа (BRM).

Как правило, BRM - это вещества, изготовленные из живых организмов для лечения заболеваний, которые могут возникать в организме естественным образом или могут быть получены в лаборатории. Примеры BRM включают в себя IL-2, интерферон, различные типы колониестимулирующих факторов (CSF, GM-CSF, G-CSF), моноклональные антитела, например, абциксимаб, этанерцепт, инфликсимаб, ритуксимаб, трастузумаб и высокие дозы аскорбата.

В некоторых вариантах осуществления средство против TNF- α представляет собой инфликсимаб или этанерцепт.

В некоторых вариантах осуществления гипометилирующий агент представляет собой ингибитор ДНК-метилтрансферазы. В некоторых вариантах осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы выбран из 5-азацитидина и децитабина.

Как правило, IMiD являются иммуномодулирующими агентами. В некоторых вариантах осуществления IMiD выбран из талидомида, лелидомида, помалидомида, CC-11006 и CC-10015.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение дополнительного терапевтического средства, выбранного из антитимоцитарного глобулина, рекомбинантного человеческого гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), гранулоцитарно-моноцитарного CSF (GM-CSF), стимулятора эритропоэза (ESA) и циклоспорина.

В некоторых вариантах осуществления способы также включают дополнительное

введение пациенту ингибитора JAK. В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK представляет собой тофацитиниб или руксолитиниб.

Одно или большее количество дополнительных фармацевтических средств, например, химиотерапевтических средств, противовоспалительных средств, стероидов, иммунодепрессантов, а также ингибиторы киназ PI3K δ , mTor, Bcr-Abl, Flt-3, RAF и FAK, например, описанные в публикации WO 2006/056399, которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки, или другие агенты могут быть использованы в комбинации с соединениями, описанными в данном документе, для лечения связанных с JAK заболеваний, нарушений или состояний. Одно или большее количество дополнительных фармацевтических средств может быть введено пациенту одновременно или последовательно.

Примеры химиотерапевтических средств включают ингибиторы протеосом (например, бортезомиб), талидомид, ревлимид и агенты, повреждающие ДНК, например, мелфалан, доксорубицин, циклофосфамид, винкристин, этопозид, кармустин и аналогичные агенты.

Примеры стероидов включают кортикостероиды, например, дексаметазон или преднизолон.

Примеры ингибиторов Bcr-Abl включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли родов и видов, описанных в патенте США № 5,521,184, публикациях WO 04/005281 и США с серийным № 60/578,491, которые включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

Примеры подходящих ингибиторов Flt-3 включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, как описано в публикациях WO 03/037347, WO 03/099771 и WO 04/046120, которые включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

Примеры подходящих ингибиторов RAF включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, как описано в публикациях WO 00/09495 и WO 05/028444, обе из которых включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

Примеры подходящих ингибиторов FAK включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, как описано в публикациях WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595 и WO 01/014402, которые включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

В некоторых вариантах осуществления соединения, предложенные в данном документе (например, свободное основание соединения 1 и соль фосфорной кислоты соединения 1), можно применять в комбинации с одним или большим количеством других ингибиторов киназы, включая иматиниб, особенно для лечения пациентов, устойчивых к иматинибу или другим ингибиторам киназы.

В некоторых вариантах осуществления подходящее химиотерапевтическое средство выбрано из антиметаболитов, ингибиторов топоизомеразы 1, аналогов платины,

таксанов, антрациклинов, ингибиторов EGFR и их комбинаций.

В некоторых вариантах осуществления антиметаболиты включают капецитабин, гемцитабин и фторурацил (5-ФУ).

В некоторых вариантах осуществления таксаны включают паклитаксел, Abraxane® (частицы, связанные с белком паклитаксела, для суспензии для инъекций) и Taxotere® (доцетаксел).

В некоторых вариантах осуществления аналоги платины включают оксалиплатин, цисплатин и карбоплатин.

В некоторых вариантах осуществления ингибиторы топоизомеразы I включают иринотекан и топотекан.

В некоторых вариантах осуществления антрациклины включают доксорубицин или липосомальные препараты доксорубицина.

В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство представляет собой FOLFIRINOX (5-FU, лековорин, иринотекан и оксалиплатин). В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство представляет собой гемцитабин и Abraxane® (частицы, связанные с белком паклитаксела, для суспензии для инъекций).

В некоторых вариантах осуществления соединения, предложенные в данном документе (например, свободное основание соединения 1 и соль фосфорной кислоты соединения 1), можно применять в комбинации с химиотерапевтическим средством для лечения рака, например, множественной миеломы, и они могут улучшать ответ на лечение по сравнению с реакцией только на химиотерапевтическое средство, без обострения его токсического действия. Примеры дополнительных фармацевтических средств, применяемых при лечении множественной миеломы, например, могут включать, без ограничения, мелфалан, мелфалан плюс преднизолон [MP], доксорубицин, дексаметазон и Велкейд (бортезомиб). Другие дополнительные средства, применяемые при лечении множественной миеломы, включают ингибиторы киназы Bcr-Abl, Flt-3, RAF и FAK. Аддитивные или синергетические эффекты являются желательными результатами комбинирования ингибитора JAK по настоящему изобретению с дополнительным средством. Кроме того, резистентность клеток множественной миеломы к агентам, таким как дексаметазон, может быть обратимой при лечении ингибитором JAK по настоящему изобретению. Средства могут быть объединены с соединениями, предложенными в данном документе, в единую лекарственную форму, или средства могут быть введены одновременно или последовательно в виде отдельных лекарственных форм.

В некоторых вариантах осуществления кортикостероид, например, дексаметазон, вводят пациенту в комбинации по меньшей мере с одним ингибитором JAK, при этом дексаметазон вводят периодически, а не непрерывно.

В некоторых дополнительных вариантах осуществления комбинации соединений, предложенных в данном документе, с другими терапевтическими средствами могут быть введены пациенту до, в процессе и/или после трансплантации костного мозга или

трансплантации стволовых клеток.

В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой флуоцинолона ацетонид (Retisert®) или римексолон (AL-2178, Vexol, Alcon).

В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой циклоспорин (Restasis®).

В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой кортикостероид. В некоторых вариантах осуществления кортикостероид представляет собой триамцинолон, дексаметазон, флуоцинолон, кортизон, преднизолон или флуметолон.

В некоторых вариантах осуществления дополнительный терапевтический агент выбран из Dehydrex™ (Holles Labs), Civamide (Opko), гиалуроната натрия (визмед, Lantibio/TRB Chemedica), циклоспорина (ST-603, Sirion Therapeutics), ARG101(T) (тестостерон, Argentis), AGR1012(P) (Argentis), экабета натрия (Senju-Ista), гефарната (Santen), 15-(s)-гидроксиэйкозатетраеновой кислоты (15(S)-HETE), цевилемина, доксициклина (ALTY-0501, Alacrity), миноциклина, iDestrin™ (NP50301, Nascent Pharmaceuticals), циклоспорина А (Nova22007, Novagali), окситетрациклина (дурамицин, MOLI1901, Lantibio), CF101 (2S,3S,4R,5R)-3,4-дигидрокси-5-[6-[(3-йодфенил)метиламино]пурин-9-ил]-N-метилоксолан-2-карбамил, Can-Fite Biopharma), воклоспорина (LX212 или LX214, Lux Biosciences), ARG103 (Agentis), RX-10045 (синтетический аналог резолвина, Resolvux), DYN15 (Dyanmis Therapeutics), ривоглитазона (DE011, Daiichi Sanko), TB4 (RegeneRx), OPH-01 (Opthalmis Monaco), PCS101 (Pericor Science), REV1-31 (Evolutec), лакритина (Senju), ребамипида (Otsuka-Novartis), OT-551 (Othera), PAI-2 (Пенсильванский университет и Темпльский университет), пилокарпина, такролимуса, пимекролимуса (AMS981, Novartis), лотепреднола этабота, ритуксимаба, диквафосола тетранатрия (INS365, Inspire), KLS-0611 (Kissei Pharmaceuticals), дегидроэпиандростерона, акинры, эфализумаба, микофенолата натрия, этанерцепта (Embrex®), гидроксихлорохина, NGX267 (TorreyPines Therapeutics), актемры, гемцитабина, оксалиплатина, L-аспарагизы или талидомида.

В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой антиангиогенное средство, холинергический агонист, модулятор рецептора TRP-1, блокатор кальциевых каналов, стимулятор секреции муцина, стимулятор MUC1, ингибитор кальциневрина, кортикостероид, агонист рецептора P2Y2, агонист мускариновых рецепторов, ингибитор mTOR, другой ингибитор JAK, ингибитор киназы Vcr-Abl, ингибитор киназы Flt-3, ингибитор киназы RAF и ингибитор киназы FAK, например, описанные в публикации WO 2006/056399, которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой производное тетрациклина (например, миноциклин или доксициклин). В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство связывается с FKBP12.

В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой алкилирующий агент или агент, сшивающий ДНК; антиметаболитный/деметилирующий агент (например, 5-фторурацил, капецитабин или азациитидин); антигормональную терапию (например, антагонисты гормональных рецепторов, SERM или ингибитор ароматазы); митотический ингибитор (например, винкристин или паклитаксел); ингибитор топоизомеразы (I или II) (например, митоксантрон и иринотекан); индукторы апоптоза (например, АВТ-737); терапия нуклеиновыми кислотами (например, антисмысловая или РНКи); лиганды ядерных рецепторов (например, агонисты и/или антагонисты: полностью транс-ретиноевая кислота или бексаротен); агенты эпигенетического нацеливания, например, ингибиторы гистондеацетилазы (например, вориностат), гипометилирующие агенты (например, децитабин); регуляторы стабильности белков, например, ингибиторы Hsp90, убиквитин и/или убиквитинподобные конъюгирующие или деконъюгирующие молекулы; или ингибитор EGFR (эрлотиниб).

В некоторых вариантах осуществления дополнительное(ые) терапевтическое(ие) средство(а) представляет(ют) собой успокаивающие глазные капли (также известные как «искусственные слезы»), которые включают, но не ограничиваются ими, композиции, содержащие поливиниловый спирт, гидроксипропилметилцеллюлозу, глицерин, полиэтиленгликоль (например, ПЭГ400), или карбоксиметилцеллюлозу. Искусственные слезы могут помочь в лечении сухости глаз, компенсируя снижение увлажняющей и смазывающей способности слезной пленки. В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой муколитическое лекарство, например, N-ацетилцистеин, которое может взаимодействовать с мукопротеинами и, следовательно, снижать вязкость слезной пленки.

В некоторых вариантах осуществления изобретения дополнительное терапевтическое средство включает антибиотик, противовирусное, противогрибковое, обезболивающее, противовоспалительное средство, включая стероидные и нестероидные противовоспалительные средства, и противоаллергические средства. Примеры пригодных лекарственных препаратов включают в себя аминогликозиды, например, амикацин, гентамицин, тобрамицин, стрептомицин, нетилмицин и камицин; фторхинолоны, например, ципрофлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин, trovафлоксацин, ломефлоксацин, левофлоксацин и эноксацин; фтиридин; сульфомиды; полимиксин; хлорамфеникол; неомицин; парамомицин; колистиметат; бацитрацин; ванкомицин; тетрациклины; рифампин и его производные («рифампины»); циклосерин; бета-лактамы; цефалоспорины; амфотерицины; флукозол; флуцитозин; тамидин; микозол; кетокозол; кортикостероиды; диклофек; флурбипрофен; кеторолак; супрофен; кромолин; лодоксамид; левокабастин; фазолин; антазолин; фенирамин; или антибиотик азалид.

В некоторых вариантах осуществления соединения, предложенные в данном документе, можно применять в комбинации с ингибиторами иммунных контрольных точек при лечении таких заболеваний, как рак. Типичные ингибиторы иммунных

контрольных точек включают ингибиторы против молекул иммунных контрольных точек, таких как CD27, CD28, CD40, CD122, CD96, CD73, CD47, OX40, GITR, CSF1R, JAK, PI3K-дельта, PI3K-гамма, TAM, аргиназа, CD137 (также известная как 4-1BB), ICOS, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, LAG3, TIM3, VISTA, PD-1, PD-L1 и PD-L2. В некоторых вариантах осуществления молекула иммунной контрольной точки представляет собой молекулу стимулирующей контрольной точки, выбранной из CD27, CD28, CD40, ICOS, OX40, GITR и CD137. В некоторых вариантах осуществления молекула иммунной контрольной точки представляет собой ингибирующую молекулу контрольной точки, выбранную из A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, IDO, KIR, LAG3, PD-1, TIM3 и VISTA. В некоторых вариантах осуществления соединения, предложенные в данном документе, можно применять в комбинации с одним или большим количеством агентов, выбранных из ингибиторов KIR, ингибиторов TIGIT, ингибиторов LAIR1, ингибиторов CD160, ингибиторов 2B4 и ингибиторов TGFR-бета.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой антитело против PD1, антитело против PD-L1 или антитело против CTLA-4.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор PD-1, например, моноклональное антитело против PD-1. В некоторых вариантах осуществления изобретения моноклональное антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб, пембролизумаб (также известный как МК-3475), пидилизумаб, SHR-1210, PDR001 или AMP-224. В некоторых вариантах осуществления изобретения моноклональное антитело против PD-1 представляет собой ниволумаб или пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против PD1 представляет собой пембролизумаб.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор PD-L1, например, моноклональное антитело против PD-L1. В некоторых вариантах осуществления изобретения моноклональное антитело против PD-L1 представляет собой BMS-935559, MEDI4736, MPDL3280A (также известное как RG7446) или MSB0010718C. В некоторых вариантах осуществления изобретения моноклональное антитело против PD-L1 представляет собой MPDL3280A или MEDI4736.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор CTLA-4, например, антитело против CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против CTLA-4 представляет собой ипилимумаб.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор LAG3, например, антитело против LAG3. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против LAG3 представляет собой BMS-986016 или LAG525.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор молекулы

иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор GITR, например, антитело против GITR. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против GITR представляет собой TRX518 или МК-4166.

В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор молекулы иммунной контрольной точки представляет собой ингибитор OX40, например, антитело против OX40 или слитый белок OX40L. В некоторых вариантах осуществления изобретения антитело против OX40 представляет собой MEDI0562. В некоторых вариантах осуществления изобретения слитый белок OX40L представляет собой MEDI6383.

Соединения по настоящему изобретению можно применять в комбинации с одним или большим количеством средств для лечения таких заболеваний, как рак. В некоторых вариантах осуществления изобретения средство представляет собой алкилирующее средство, ингибитор протеасомы, кортикостероид или иммуномодулирующее средство. Примеры алкилирующего средства включают циклофосфамид (CY), мелфалан (MEL) и бендамустин. В некоторых вариантах осуществления изобретения ингибитор протеасомы представляет собой карфилзомиб. В некоторых вариантах осуществления изобретения кортикостероид представляет собой дексаметазон (DEX). В некоторых вариантах осуществления изобретения иммуномодулирующее средство представляет собой лелидомид (LEN) или помалидомид (POM).

Фармацевтические композиции и лекарственные формы

При использовании в качестве фармацевтических препаратов, соединения, предложенные в данном документе, могут быть введены в форме фармацевтических композиций. Эти композиции могут быть получены способами, хорошо известными в фармацевтической области, и могут быть введены различными путями в зависимости от того, предписано ли местное или системное лечение и от участка, подлежащего лечению. Введение является местным (включая чрескожное, эпидермальное, офтальмологическое и на слизистые оболочки, включая интраназальное, вагинальное и ректальное введение), легочное (например, посредством ингаляции или вдувания порошков или аэрозолей, в частности, с использованием распылителя; внутритрахеальное или интраназальное), пероральное или парентеральное. Парентеральное введение включает внутривенное, внутриартериальное, подкожное, внутрибрюшинное, внутримышечное введение или инъекцию или инфузию; или внутрочерепное, например, интратекальное или интравентрикулярное введение. Парентеральное введение может осуществляться в виде однократной болюсной дозы или, например, с использованием перфузионного насоса непрерывного действия. Фармацевтические композиции и составы для местного введения могут включать трансдермальные пластыри, мази, лосьоны, кремы, гели, капли, свечи, спреи, жидкости и порошки. Могут быть необходимыми или желательными традиционные фармацевтические носители, водные, порошкообразные или масляные основания, загустители и аналогичные добавки.

Это изобретение также включает фармацевтические композиции, которые

содержат в качестве активного ингредиента, например, свободное основание соединения 1 и/или соль фосфорной кислоты соединения 1 в комбинации с одним или большим количеством фармацевтически приемлемых носителей (эксципиентов). В некоторых вариантах осуществления композиция пригодна для местного введения. При приготовлении композиций по изобретению активный ингредиент, как правило, смешивают с эксципиентом, разбавляют эксципиентом или заключают в такой носитель в форме, например, капсулы, саше, бумажного пакета или другого контейнера. Если эксципиент выполняет роль разбавителя, он может быть твердым, полутвердым или жидким материалом, который действует в качестве наполнителя, носителя или среды для активного ингредиента. Следовательно, композиции могут находиться в форме таблеток, пилюль, порошков, пастилок, саше, крахмальных капсул, настоев, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (твердых или в жидкой среде), мазей, содержащих, например, до 10% масс. активного соединения, мягких и твердых желатиновых капсул, свечей, стерильных инъекционных растворов или стерильных упакованных порошков.

При приготовлении композиции, соединение, предложенное в данном документе (например, свободное основание соединения 1 и соль фосфорной кислоты соединения 1), может быть измельчено для получения частиц соответствующего размера перед объединением с другими ингредиентами. Если свободное основание соединения 1 или соль фосфорной кислоты соединения 1 являются по существу нерастворимыми, их можно измельчить до частиц размером менее чем 200 меш. Если свободное основание соединения 1 или соль фосфорной кислоты соединения 1 являются по существу растворимыми в воде, размер частиц можно регулировать размалыванием для получения по существу однородного распределения в композиции, например, около 40 меш.

Соединения, предложенные в данном документе, могут быть размолоты с использованием известных способов помола, например, мокрого помола для получения частиц с размером, подходящим для формирования таблеток и препаратов другого типа. Тонкоизмельченные (в форме наночастиц) препараты соединений, предложенных в данном документе, могут быть получены способами, известными в данной области, см., например, Международную заявку WO 2002/000196.

Некоторые примеры подходящих эксципиентов включают лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмалы, аравийскую камедь, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, воду, сироп и метилцеллюлозу. Лекарственные формы могут дополнительно содержать: смазывающие средства, например, тальк, стеарат магния и минеральное масло; смачивающие средства; эмульгирующие и суспендирующие средства; консерванты, например, метил- и пропилгидроксibenзоаты; подсластители; и ароматизаторы. Композиции по изобретению могут быть разработаны таким образом, чтобы обеспечивать быстрое, замедленное или отсроченное высвобождение активного ингредиента после введения пациенту с использованием способов, известных в данной области.

В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит силицифицированную микрокристаллическую целлюлозу (SMCC) и по меньшей мере одно соединение, описанное в данном документе, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления изобретения силикатизированная микрокристаллическая целлюлоза содержит около 98% микрокристаллической целлюлозы и около 2% диоксида кремния по массе.

В некоторых вариантах осуществления композиция представляет собой композицию с замедленным высвобождением, содержащую свободное основание соединения 1 и/или соль фосфорной кислоты соединения 1 и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит свободное основание соединения 1 и/или соль фосфорной кислоты соединения 1, описанные в данном документе, и по меньшей мере один компонент, выбранный из микрокристаллической целлюлозы, моногидрата лактозы, гидроксипропилметилцеллюлозы и полиэтиленоксида. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит свободное основание соединения 1 и/или соль фосфорной кислоты соединения 1, микрокристаллическую целлюлозу, моногидрат лактозы и гидроксипропилметилцеллюлозу. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит свободное основание соединения 1 и/или соль фосфорной кислоты соединения 1, описанные в данном документе, микрокристаллическую целлюлозу, моногидрат лактозы и полиэтиленоксид. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит стеарат магния или диоксид кремния. В некоторых вариантах осуществления микрокристаллическая целлюлоза представляет собой Avicel PH102™. В некоторых вариантах осуществления моногидрат лактозы представляет собой Fast-flo 316™. В некоторых вариантах осуществления гидроксипропилметилцеллюлоза представляет собой гидроксипропилметилцеллюлозу 2208 K4M (например, Methocel K4 M Premier™) и/или гидроксипропилметилцеллюлозу 2208 K100LV (например, Methocel K00LV™). В некоторых вариантах осуществления полиэтиленоксид представляет собой полиэтиленоксид WSR 1105 (например, Polyox WSR 1105™).

В некоторых вариантах осуществления для получения композиции применяют способ влажной грануляции. В некоторых вариантах осуществления для получения композиции применяют способ сухой грануляции.

Композиции могут быть приготовлены в виде стандартной лекарственной формы, каждая из которых содержит от около 1 до около 1000 мг, от около 1 мг до около 100 мг, от 1 мг до около 50 мг и от около 1 мг до 10 мг активного ингредиента (например, свободное основание соединения 1 и соль фосфорной кислоты соединения 1). Предпочтительно доза составляет от около 1 мг до около 50 мг или от около 1 мг до около 10 мг активного ингредиента. В некоторых вариантах осуществления каждая доза содержит около 10 мг активного ингредиента. В некоторых вариантах осуществления каждая доза содержит около 50 мг активного ингредиента. В некоторых вариантах осуществления каждая доза содержит около 25 мг активного ингредиента. Термин

«единичные лекарственные формы» относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных дозировок для человеческих субъектов и других млекопитающих, причем каждая единица содержит заданное количество активного вещества, рассчитанное на оказание желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с подходящим фармацевтическим эксципиентом.

В некоторых вариантах осуществления композиции содержат от около 1 до около 1000 мг, от около 1 мг до около 100 мг, от 1 мг до около 50 мг и от около 1 мг до 10 мг активного ингредиента (например, свободное основание соединения 1 и соль фосфорной кислоты соединения 1). Предпочтительно композиция содержит от около 1 мг до около 50 мг или от около 1 мг до около 10 мг активного ингредиента. Специалисту в данной области понятно, что речь идет о соединениях или композициях, содержащих от около 1 мг до около 10 мг, от около 1 мг до около 20 мг, от около 1 мг до около 25 мг, от около 1 мг до около 50 мг активного ингредиента.

Активное соединение (например, свободное основание соединения 1 и соль фосфорной кислоты соединения 1) может быть эффективным в широком диапазоне дозировок и, как правило, вводится в фармацевтически эффективном количестве. Однако следует понимать, что количество фактически вводимого соединения, как правило, определяет врач в соответствии с соответствующими обстоятельствами, включая состояние, подлежащее лечению, выбранный способ введения, фактически вводимое соединение, возраст, вес и реакцию отдельного пациента, тяжесть симптомов пациента и аналогичные обстоятельства.

Для приготовления твердых композиций, например, таблеток, главный активный ингредиент смешивают с фармацевтическим эксципиентом с образованием твердой композиции до придания ей лекарственной формы, содержащей гомогенную смесь соединения по настоящему изобретению. Когда указывают, что эти композиции до придания им лекарственной формы являются гомогенными, то понимают, что активный ингредиент, как правило, диспергирован равномерно по всей композиции, таким образом, композиция легко может быть последовательно разделена на равноэффективные единичные лекарственные формы, например, таблетки, драже и капсулы. Затем, эту твердую композицию до придания ей лекарственной формы разделяют на единичные лекарственные формы описанных выше типов, содержащие от, например, около 0,1 до около 1000 мг активного ингредиента по настоящему изобретению.

Таблетки или драже по настоящему изобретению могут быть покрыты или иным образом смешаны для получения лекарственной формы, обеспечивающей преимущество длительного действия. Например, таблетка или драже может содержать внутренний компонент и внешний компонент дозы, при этом последний находится в форме оболочки над первым. Два компонента могут быть разделены энтеросолюбильным слоем, который служит для противодействия распаду в желудке и позволяет внутреннему компоненту проходить в целости в двенадцатиперстную кишку или высвободиться замедленно. Для таких энтеросолюбильных слоев или покрытий применяют различные материалы, при

этом такие материалы включают ряд полимерных кислот и смеси полимерных кислот с такими материалами, как шеллак, цетиловый спирт и ацетат целлюлозы.

Жидкие формы, в которые соединения и композиции, предложенные в данном документе, могут быть включены для перорального или инъекционного введения, включают водные растворы, подходящие ароматизированные сиропы, водные или масляные суспензии и ароматизированные эмульсии с пищевыми маслами, такими как хлопковое масло, кунжутное масло, кокосовое масло или арахисовое масло, а также эликсиры и аналогичные фармацевтические носители.

Композиции для ингаляции или вдувания включают растворы и суспензии в фармацевтически приемлемых водных или органических растворителях, или их смесях, и порошки. Жидкие или твердые композиции могут содержать подходящие фармацевтически приемлемые эксципиенты, описанные *выше*. В некоторых вариантах осуществления композиции вводят посредством вдыхания через рот или нос для достижения местного или системного эффекта. Композиции могут быть распылены с использованием инертных газов. Распыленные растворы можно вдыхать непосредственно из распыляющего устройства, или распыляющее устройство может быть присоединено к маске для лица или дыхательному аппарату с перемежающимся положительным давлением. Композиции на основе раствора, суспензии или порошка могут быть введены перорально или назально из устройств, которые доставляют препарат соответствующим образом.

Препараты для местного применения могут содержать один или большее количество традиционных носителей. В некоторых вариантах осуществления мази могут содержать воду и один или большее количество гидрофобных носителей, выбранных из, например, жидкого парафина, алкилового эфира полиоксиэтилена, пропиленгликоля, белого вазелина и аналогичных носителей. Композиции носителей для кремов могут быть основаны на воде в комбинации с глицерином и одним или большим количеством других компонентов, например, глицеринмоностеаратом, ПЭГ-глицеринмоностеаратом и цетилстеариловым спиртом. Гели можно приготовить, используя изопропиловый спирт и воду, в комбинации с другими компонентами, например, глицерином, гидроксипропилцеллюлозой и аналогичными компонентами. В некоторых вариантах осуществления препараты для местного применения содержат по меньшей мере около 0,1, по меньшей мере около 0,25, по меньшей мере около 0,5, по меньшей мере около 1, по меньшей мере около 2 или по меньшей мере около 5% масс. соединения, предложенного в данном документе. Препараты для местного применения могут быть подходящим образом упакованы в тубики, например, по 100 г, которые необязательно сопровождаются инструкциями по лечению выбранного симптома, например, псориаза или другого кожного состояния.

Количество соединения или композиции, вводимое пациенту, варьируется в зависимости от того, что вводится, назначения введения, например, профилактика или лечение, состояния пациента, способа введения и аналогичных параметров. Для

терапевтических целей композиции могут быть введены пациенту, уже страдающему от заболевания, в количестве, достаточном для лечения или по меньшей мере частичного ослабления симптомов заболевания или его осложнений. Эффективные дозы зависят от состояния заболевания, подвергаемого лечению, а также от решения лечащего врача, в зависимости от таких факторов, как тяжесть заболевания, возраст, вес, общее состояние пациента и аналогичных факторов.

Композиции, вводимые пациенту, могут находиться в форме фармацевтических композиций, описанных выше. Эти композиции могут быть стерилизованы обычными методами стерилизации или подвергнуты стерилизации фильтрованием. Водные растворы могут быть упакованы для использования как есть, или лиофилизированными, причем лиофилизированный препарат перед введением объединяют со стерильным водным носителем. рН составных препаратов, как правило, составляет от 3 до 11, более предпочтительно от 5 до 9 и наиболее предпочтительно от 7 до 8. Следует понимать, что использование некоторых из вышеперечисленных эксципиентов, носителей или стабилизаторов приведет к образованию фармацевтических солей.

Терапевтическая дозировка соединения по настоящему изобретению может варьироваться в соответствии с, например, конкретной целью, с которой осуществляется лечение, способом введения соединения, состоянием здоровья пациента и заключением лечащего врача. Доля или концентрация свободного основания соединения 1 или соли фосфорной кислоты соединения 1 в фармацевтической композиции может варьироваться в зависимости от ряда факторов, включая дозировку, химические характеристики (например, гидрофобность), и способ введения. Например, соединения, предложенные в данном документе, могут быть получены в виде водного физиологического буферного раствора, содержащего от около 0,1 до около 10% масс./об. соединения для парентерального введения. Некоторые типичные дозы находятся в диапазоне от около 1 мкг/кг до около 1 г/кг массы тела в сутки. В некоторых вариантах осуществления доза находится в диапазоне от около 0,01 мг/кг до около 100 мг/кг массы тела в сутки. Дозировка, вероятно, будет зависеть от таких переменных, как тип и степень прогрессирования заболевания или расстройства, общее состояние здоровья конкретного пациента, относительная биологическая эффективность выбранного соединения, состав эксципиента и путь введения. Эффективные дозы могут быть экстраполированы из кривых доза-реакция, полученных *in vitro* в тест-системах на основе моделей животных.

Композиции по настоящему изобретению могут дополнительно включать одно или большее количество дополнительных фармацевтических средств, таких как химиотерапевтическое, стероидное, противовоспалительное соединение или иммунодепрессант, примеры которых перечислены выше.

В некоторых вариантах осуществления свободное основание соединения 1 или соль фосфорной кислоты соединения 1 вводят в виде офтальмологической композиции. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления способы включают введение соединения или его фармацевтически приемлемой соли и офтальмологически

приемлемого носителя. В некоторых вариантах осуществления офтальмологическая композиция представляет собой жидкую композицию, полутвердую композицию, вставку, пленку, микрочастицы или наночастицы.

В некоторых вариантах осуществления офтальмологическая композиция является жидкой композицией. В некоторых вариантах осуществления офтальмологическая композиция является полутвердой композицией. В некоторых вариантах осуществления офтальмологическая композиция является композицией для местного применения. Композиции для местного применения включают, но не ограничиваются ими, жидкие и полутвердые композиции. В некоторых вариантах осуществления офтальмологическая композиция является композицией для местного применения. В некоторых вариантах осуществления композиция для местного применения представляет собой водный раствор, водную суспензию, мазь или гель. В некоторых вариантах осуществления офтальмологическую композицию наносят местно на переднюю часть глаза, под верхнее веко, на нижнее веко и в слепой мешок. В некоторых вариантах осуществления офтальмологическая композиция является простерилизованной. Стерилизация может быть выполнена известными методами, такими как стерилизующая фильтрация раствора или нагревание раствора в ампуле, готовой к использованию. Офтальмологические композиции по настоящему изобретению могут дополнительно содержать фармацевтические эксципиенты, подходящие для приготовления офтальмологических препаратов. Примерами таких эксципиентов являются консерванты, буферные агенты, хелатирующие агенты, антиоксиданты и соли для регулирования осмотического давления.

В контексте данного документа термин «офтальмологически приемлемый носитель» относится к любому веществу, которое может содержать и высвобождать соединение или его фармацевтически приемлемую соль и который совместим с глазами. В некоторых вариантах осуществления офтальмологически приемлемый носитель представляет собой воду, водный раствор или суспензию, но также включает масла, например, те, которые используются для изготовления мазей, и полимерные матрицы, например, используемые в глазных вкладышах. В некоторых вариантах осуществления композиция может представлять собой водную суспензию, содержащую соединение или его фармацевтически приемлемую соль. Жидкие офтальмологические композиции, включая как мази, так и суспензии, могут иметь вязкость, подходящую для выбранного пути введения. В некоторых вариантах осуществления офтальмологическая композиция имеет вязкость в диапазоне от около 1000 до около 30 000 сантипуаз.

В некоторых вариантах осуществления офтальмологические композиции могут дополнительно содержать одно или большее количество поверхностно-активных веществ, адьювантов, буферов, антиоксидантов, регуляторов тонуса, консервантов (например, ЭДТА, БАК (хлорид бензалкония), хлорит натрия, перборат натрия, поликватерий-1), загустители или модификаторы вязкости (например, карбоксиметилцеллюлозу, гидроксиметилцеллюлозу, поливиниловый спирт, полиэтиленгликоль, гликоль 400, пропиленгликоль, гидроксиметилцеллюлозу, гидроксипропилгуар, гиалуроновую кислоту

и гидроксипропилцеллюлозу) и аналогичные вещества. Добавки в составе могут включать, но не ограничиваются ими, хлорид натрия, бикарбонат натрия, сорбиновую кислоту, метилпарабен, пропилпарабен, хлоргексидин, касторовое масло и перборат натрия.

Водные офтальмологические композиции (растворы или суспензии), как правило, не содержат физиологически или офтальмологически вредных компонентов. В некоторых вариантах осуществления в композиции используется очищенная или деионизированная вода. рН может быть отрегулирован добавлением любых физиологически и офтальмологически приемлемых кислот, оснований или буферов, регулирующих рН, в пределах диапазона от около 5,0 до 8,5. Примеры офтальмологически приемлемых кислот включают уксусную, борную, лимонную, молочную, фосфорную, соляную и аналогичные кислоты, а примеры оснований включают гидроксид натрия, фосфат натрия, борат натрия, цитрат натрия, ацетат натрия, лактат натрия, триметамин, трисгидроксиметиламинометан и аналогичные основания. Соли и буферы включают цитрат/декстрозу, бикарбонат натрия, хлорид аммония и смеси вышеупомянутых кислот и оснований.

В некоторых вариантах осуществления способы включают формирование или подачу депо терапевтического средства при контакте с внешней поверхностью глаза. Депо относится к источнику терапевтического средства, который не удаляется быстро слезами или другими механизмами очистки глаз. Это позволяет постоянно поддерживать высокие концентрации терапевтического агента в жидкости на внешней поверхности глаза при однократном применении. Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что абсорбция и проникновение могут зависеть как от концентрации растворенного лекарственного средства, так и от продолжительности контакта внешней ткани с жидкостью, содержащей лекарственное средство. Поскольку препарат выводится посредством клиренса глазной жидкости и/или абсорбируется в ткани глаза, обеспечивается большее количество лекарственного средства, например, растворяется в пополняемой глазной жидкости из депо. Соответственно, применение депо может облегчить загрузку ткани глаза более нерастворимыми терапевтическими средствами. В некоторых вариантах осуществления депо может сохраняться до восьми часов или более. В некоторых вариантах осуществления формы офтальмологического депо включают, но не ограничиваются ими, водные полимерные суспензии, мази и твердые вкладыши.

В некоторых вариантах осуществления офтальмологическая композиция представляет собой мазь или гель. В некоторых вариантах осуществления офтальмологическая композиция представляет собой средство доставки на масляной основе. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит нефтяную или ланолиновую основу, к которой добавляют активный ингредиент, как правило, в количестве от 0,1 до 2%, и эксципиенты. Часто основы могут включать, но не ограничиваются ими, минеральное масло, вазелин и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления мазь носят в виде узкой полоски на нижнее веко.

В некоторых вариантах осуществления офтальмологическая композиция

представляет собой офтальмологическую вставку. В некоторых вариантах осуществления офтальмологическая вставка является биологически инертной, мягкой, биоразлагаемой, вязкоупругой, устойчивой к стерилизации после воздействия терапевтических средств, устойчивой к инфекциям, вызываемым переносимыми по воздуху бактериями, биоразлагаемой, биосовместимой и/или вязкоупругой. В некоторых вариантах осуществления вставка содержит офтальмологически приемлемую матрицу, например, полимерную матрицу. Матрица, как правило, представляет собой полимер, а терапевтическое средство, как правило, диспергировано в ней или связано с полимерной матрицей. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство может медленно высвобождаться из матрицы посредством растворения или гидролиза ковалентной связи. В некоторых вариантах осуществления полимер является биоразлагаемым (растворимым), и скорость его растворения может регулировать скорость высвобождения диспергированного в нем терапевтического средства. В другой форме полимерная матрица представляет собой биоразлагаемый полимер, который расщепляется, например, посредством гидролиза с высвобождением терапевтического средства, связанного с ним или диспергированного в нем. В дополнительных вариантах осуществления матрица и терапевтическое средство могут быть окружены дополнительным полимерным покрытием для дополнительного контроля высвобождения. В некоторых вариантах осуществления вкладыш содержит биоразлагаемый полимер, например, поликапролактон (PCL), этиленвинилацетатный сополимер (EVA), полиалкилцианоакрилат, полиуретан, нейлон или поли(d, l-лактид-со-гликолид) (PLGA) или сополимер любого из них. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство диспергируют в матричном материале или диспергируют среди мономерной композиции, используемой для изготовления матричного материала перед полимеризацией. В некоторых вариантах осуществления количество терапевтического агента составляет от около 0,1 до около 50%, или от около 2 до около 20%. В дополнительных вариантах осуществления используется биоразлагаемая или биоразрушаемая полимерная матрица, таким образом, отработанную вставку не нужно удалять. При разрушении или растворении биоразлагаемого или биоразрушаемого полимера высвобождается терапевтическое средство.

В дополнительных вариантах осуществления офтальмологическая вставка содержит полимер, включая, но не ограничиваясь ими, полимеры, описанные в публикации Wagh, et al., «Polymers used in ocular dosage form and drug delivery systems», Asian J. Pharm., стр. 12-17 (январь, 2008 г.), которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления вставка содержит полимер, выбранный из поливинилпирролидона (PVP), акрилатного или метакрилатного полимера или сополимера (например, семейство полимеров Eudragit® от Rohm или Degussa), гидроксиметилцеллюлозы, полиакриловой кислоты, поли(амидоаминовых) дендримеров, поли(диметилсилоксана), полиэтиленоксида, поли(лактид-со-гликолида), поли(2-гидроксиэтилметакрилата), поли(винилового спирта)

или поли(пропиленфумарата). В некоторых вариантах осуществления вставка содержит Gelfoam® R. В некоторых вариантах осуществления вставка представляет собой конъюгат полиакриловой кислоты с молекулярной массой 450 кДа и цистеином.

В некоторых вариантах осуществления офтальмологическая композиция представляет собой офтальмологическую пленку. Полимеры, подходящие для таких пленок, включают, но не ограничиваются ими, полимеры, описанные в публикации Wagh, et al. (*там же*). В некоторых вариантах осуществления пленка представляет собой мягкую контактную линзу, например, линзы, изготовленные из сополимеров N, N-диэтилакриламида и метакриловой кислоты, сшитых диметакрилатом этиленгликоля.

В некоторых вариантах осуществления офтальмологическая композиция содержит микросферы или наночастицы. В некоторых вариантах осуществления микросферы содержат желатин. В некоторых вариантах осуществления микросферы вводят в задний сегмент глаза, в хориоидальное пространство, в склеру, интравитреально или субретинно. В некоторых вариантах осуществления микросферы или наночастицы содержат полимер, включая, но не ограничиваясь ими, полимеры, описанные в публикации Wagh, et al. (*там же*), которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления полимер представляет собой хитозан, поликарбоную кислоту, например, полиакриловую кислоту, частицы альбумина, сложные эфиры гиалуроновой кислоты, полиитаконную кислоту, поли(бутил)цианоакрилат, поликапролактон, поли(изобутил)капролактон, поли(молочную кислоту-со-гликолевую кислоту) или поли(молочную кислоту). В некоторых вариантах осуществления микросферы или наночастицы содержат твердые липидные частицы.

В некоторых вариантах осуществления офтальмологическая композиция содержит ионообменную смолу. В некоторых вариантах осуществления ионообменная смола представляет собой неорганический цеолит или синтетическую органическую смолу. В некоторых вариантах осуществления ионообменная смола включает, но не ограничивается ими, смолы, описанные в публикации Wagh, et al. (*там же*), которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления ионообменная смола представляет собой частично нейтрализованную полиакриловую кислоту.

В некоторых вариантах осуществления офтальмологическая композиция представляет собой водную полимерную суспензию. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство или полимерное суспендирующее средство суспендированы в водной среде. В некоторых вариантах осуществления водные полимерные суспензии могут быть составлены таким образом, чтобы они сохраняли такую же или по-существу такую же вязкость в глазу, какую они имели до введения в глаз. В некоторых вариантах осуществления они могут быть составлены таким образом, чтобы при контакте со слезной жидкостью происходило повышенное гелеобразование.

Наборы

Настоящее изобретение также включает фармацевтические наборы, применимые,

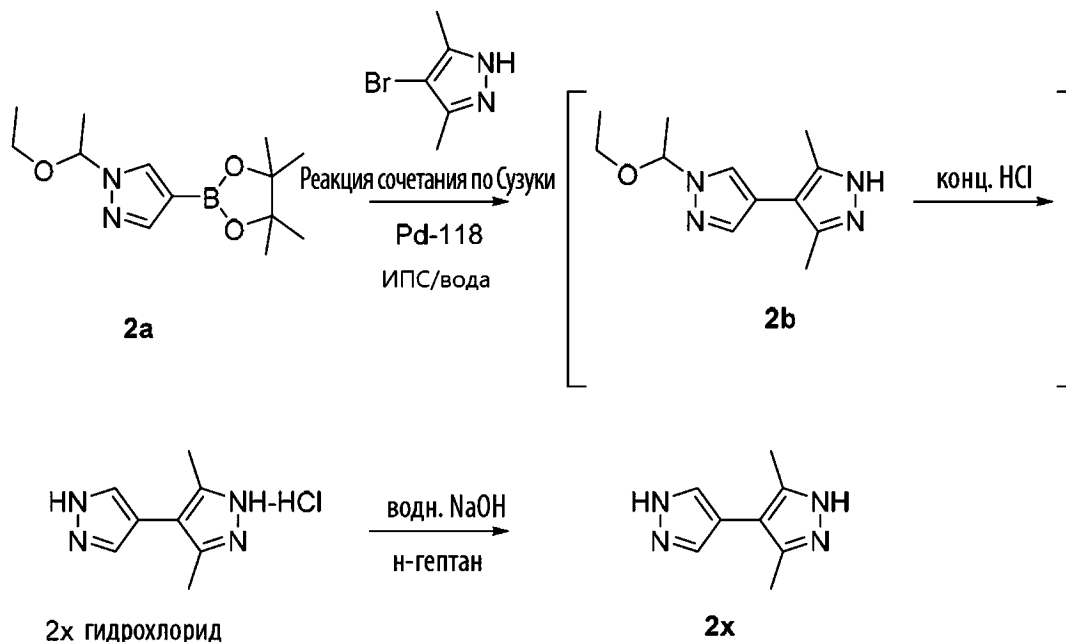
например, для лечения или профилактики связанных с JAK заболеваний или расстройств, таких как рак, которые включают один или большее количество контейнеров, содержащих фармацевтическую композицию, содержащую терапевтически эффективное количество свободного основания соединения 1 или соли фосфорной кислоты соединения 1. Такие наборы могут дополнительно включать, при желании, один или большее количество различных компонентов обычных фармацевтических наборов, например, контейнеры с одним или большим количеством фармацевтически приемлемых носителей, дополнительные контейнеры и т. д., как будет очевидно специалистам в данной области. Инструкции в виде вкладышей или этикеток с указанием количества вводимых компонентов, руководящие принципы введения, и/или инструкция по смешиванию компонентов также могут быть включены в комплект.

Изобретение будет более подробно описано на конкретных примерах. Приведенные ниже примеры служат для иллюстративных целей и никоим образом не предназначены для ограничения изобретения. Специалисты в данной области легко найдут множество некритичных параметров, которые можно изменить или модифицировать, чтобы получить точно такие же результаты. Было обнаружено, что соединения примеров являются ингибиторами JAK в соответствии с по меньшей мере одним описанным в данном документе анализом.

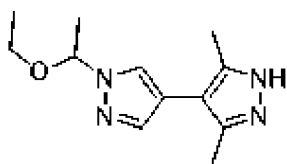
ПРИМЕРЫ

Промежуточное соединение 1. 3,5-Диметил-4,4'-бипиразол (соединение 2x)

Схема 1.



Стадия 1. 1'-(1-этокси-этил)-3,5-диметил-1Н,1'Н-[4,4']бипиразол (соединение 2b)

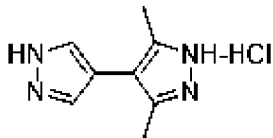


В продутый азотом стеклянный реактор объемом 100 л последовательно добавляли 1-пропанол (5,0 л), питьевую воду (6,0 л), K_2HPO_4 (1032 г), 4-бром-3,5-диметилпиразол (1084 г) и 1-(1-этоксиэтил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол (соединение **2a**, 1502 г). Газообразный азот барботировали через реакционную смесь в течение 18 минут, затем в реактор загружали Pd-118 (55,07 г) и через реакционную смесь барботировали газообразный азот в течение дополнительных 18 минут. Реакционную смесь нагревали до около $90^\circ C$ и перемешивали в течение около 4 часов при около $90^\circ C$. Затем реакционную смесь охлаждали до около $17^\circ C$ и фазы разделяли. Органическую фазу обрабатывали активированным углем (1500 г), нагревали до около $70^\circ C$, перемешивали при около $70^\circ C$ в течение около 4 часов и охлаждали до около $21^\circ C$. Смесь фильтровали через целит (1500 г) и осадок на фильтре промывали 2-пропанолом (15,0 л). Объединенный фильтрат и промывную жидкость концентрировали в вакууме при около $58^\circ C$ с получением неочищенного целевого продукта, 1'-(1-этоксиэтил)-3,5-диметил-1H,1'H-[4,4']бипиразолила (2593 г), который использовали при последующей обработке.

Неочищенный 1'-(1-этоксиэтил)-3,5-диметил-1H,1'H-[4,4']бипиразолил (2590 г) и этилацетат (EtOAc, 15,0 л) загружали в реактор. Отдельно готовили водный раствор $NaHSO_3$ посредством тщательного смешивания $NaHSO_3$ (1500 г) и питьевой воды (8,0 л). Водный раствор $NaHSO_3$ добавляли к реакционной смеси, нагревали до $65^\circ C$ - $70^\circ C$ и перемешивали при $65^\circ C$ - $70^\circ C$ в течение около 2,5 часов. Фазы разделяли и органическую фазу оставляли в реакторе. Отдельно готовили водный раствор $NaHSO_3$ посредством тщательного смешивания $NaHSO_3$ (1500 г) и питьевой воды (8,0 л). Водный раствор $NaHSO_3$ добавляли к реакционной смеси, нагревали до $65^\circ C$ - $70^\circ C$ и перемешивали при $65^\circ C$ - $70^\circ C$ в течение около 3,5 часов. Фазы разделяли. В хроматографическую колонку загружали последовательно морской песок (3000 г), этилацетат (EtOAc, 15,0 л) и силикагель (SiO_2 , 4500 г). Силикагель и растворитель смешивали и растворитель элюировали на поверхность силикагеля. Морской песок (3000 г) загружали в верхнюю часть колонны. Реакционную смесь загружали в колонку и элюировали этилацетатом (18,0 л). Желаемые фракции объединяли и объединенный раствор концентрировали в вакууме при около $55^\circ C$ с получением очищенного на колонке продукта (1760 г), который затем загружали в реактор с метиленхлоридом (16,0 л). Si-тиол (160 г) загружали в реактор и реакционную смесь нагревали до $35^\circ C$ - $40^\circ C$ и перемешивали при $35^\circ C$ - $40^\circ C$ в течение около 2 часов. Смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали метиленхлоридом (3,5 л). Объединенный фильтрат и промывной раствор концентрировали в вакууме с получением очищенного целевого продукта, 1'-(1-этоксиэтил)-3,5-диметил-1H,1'H-[4,4']бипиразолила (1600 г), который содержал остаточный растворитель и использовался непосредственно в последующей реакции. 1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$) δ 12,17 (с, 1H),

7,89 (с, 1H), 7,56 (с, 1H), 5,53 (к, J=6,0 Гц, 1H), 3,41 (дкв, J=9,6, 7,0 Гц, 1H), 3,19 (дкв, J=9,6, 7,0 Гц, 1H), 2,20 (с, 6H), 2,10, 1,60 (д, J=6,0 Гц, 3H), 1,01 (т, J=7,0 Гц, 3H) м.д.; ¹³С ЯМР (101 МГц, ДМСО-d₆) δ 145,7, 137,75, 135,9, 125,48, 114,94, 108,69, 86,84, 63,57, 21,84, 15,43, 13,86 м.д.

Стадия 2. 3,5-диметил-1H,1'H-[4,4']бипиразолил гидрохлорид (соединение 2х НСl)



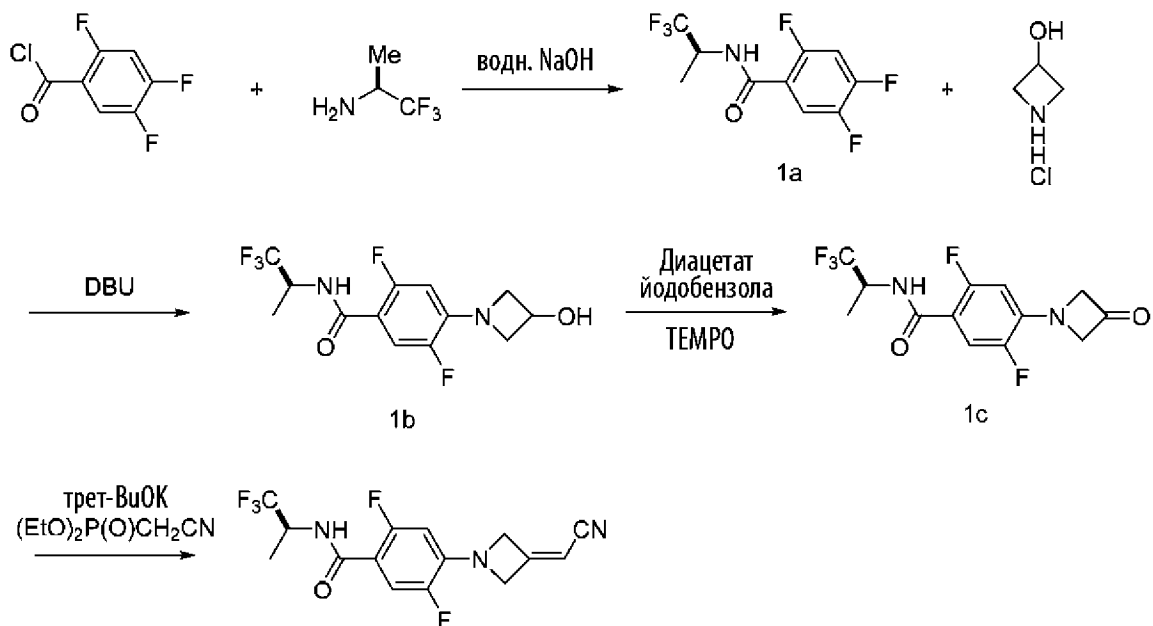
Стеклянный реактор объемом 100 л продували азотом и загружали 1'-(1-этоксипропан-2-ил)-3,5-диметил-1H,1'H-[4,4']бипиразолил (5723 г, исходя из теоретического выхода), 2-пропанол (ИПС, 13,0 л) и концентрированную соляную кислоту (НСl, 4,08 л) при комнатной температуре. Полученную реакционную смесь нагревали до около 60 °С-65 °С и перемешивали при 60 °С-65 °С в течение около 2 часов. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Твердую фазу собирали фильтрованием и осадок на фильтре промывали 2-пропанолом (6,5 л). Продукт сушили на воздухе с получением желаемого продукта, 3,5-диметил-1H,1'H-[4,4']бипиразолилгидрохлорида (3088 г, 63,6% за две стадии) в виде белой твердой фазы. ¹Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 7,94 (с, 2H), 2,38 (с, 6H) м.д.; ¹³С ЯМР (101 МГц, ДМСО-d₆) δ 141,95, 132,75, 111,78, 109,70, 10,97 м.д.

Стадия 3. 3,5-диметил-1H,1'H-[4,4']бипиразолил (соединение 2х)

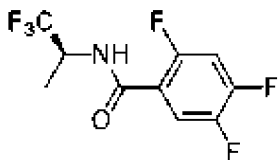
Стеклянный реактор объемом 100 л продували азотом и загружали 3,5-диметил-1H,1'H-[4,4']бипиразолилгидрохлорид (3010 г) и питьевую воду (24,1 л), и реакционную смесь охлаждали до 0 °С-5 °С. Отдельно готовили водный раствор NaOH посредством тщательного смешивания NaOH (1212 г) и питьевой воды (6,0 л). Водный раствор NaOH добавляли к реакционной смеси, поддерживая температуру около 15 °С. Реакционную смесь нагревали до около 18 °С и перемешивали при температуре около 18 °С в течение около 14 часов. Твердую фазу собирали фильтрованием и осадок на фильтре последовательно промывали питьевой водой (30,1 л) и *n*-гептаном (13,5 л). Продукт сушили на воздухе в течение около 16 часов, а затем дополнительно сушили в вакууме при температуре около 50 °С-60 °С с получением 3,5-диметил-1H,1'H-[4,4']бипиразолила (2006 г, 81,6%) в виде почти белого порошка. ¹Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 7,65 (с, 2H), 2,19 (с, 6H) м.д.; ¹³С ЯМР (101 МГц, ДМСО-d₆) δ 140,76, 131,92, 113,44, 109,16, 12,37 м.д.

Промежуточное соединение 2. (S)-4-(3-(цианометил)азетидин-1-ил)-2,5-дифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамид (соединение 1х)

Схема 2

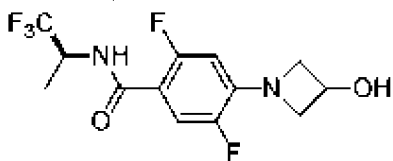


Стадия 1. (S)-2,4,5-трифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамид (соединение 1a)



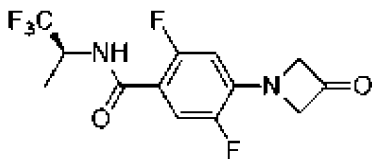
Смесь (2S)-1,1,1-трифторпропан-2-амина (520,96 г, 4,61 моль) в толуоле (9,7 л) охлаждали до 0 °С-5°С перед добавлением 1,0 М водного раствора гидроксида натрия (6,92 л, 6,92 моль, 1,5 экв.) при 0 °С-8 °С. Затем к смеси по каплям добавляли 2,4,5-трифторбензоилхлорид (995,62 г, 5,07 моль, 1,1 экв.) при 0 °С-15 °С в течение 20 мин. Охлаждающую баню удаляли, реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение дополнительного 1 часа. Две фазы реакционной смеси затем разделяли. Органическую фазу промывали 0,5 М водным раствором гидроксида натрия (4,6 л) и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта в виде белой твердой фазы. Затем твердую фазу суспендировали в *n*-гептане (2,3 л) при 50 °С в течение 1 ч, затем охлаждали до комнатной температуры. Твердую фазу собирали фильтрованием, промывали *n*-гептаном (1 л) и сушили в вакууме в течение 2 дней с получением (S)-2,4,5-трифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамида (1203,7 г, 93,2%) в виде белого порошка. ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 9,00 (д, J=8,09 Гц, 1H), 7,69 (м, 2H), 4,75 (м, 1H), 1,92 (д, J=7,00 Гц, 3H) м.д.

Стадия 2. (S)-2,5-дифтор-4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамид (соединение 1b)



К смеси (S)-2,4,5-трифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамида (соединение **1a**, 1807,5 г, 6,67 моль) и гидрохлорида азетидин-3-ола (827,9 г, 7,56 моль, 1,13 экв) в ацетонитриле (3,6 л) порциями добавляли 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен (DBU, 2335,2 г, 15,33 моль, 2,3 экв.). Экзотермическая реакция подняла внутреннюю температуру с 12 °С до 58 °С, когда первые 1000 г DBU загружали в течение 25 минут. Оставшийся DBU добавляли при 58 °С-68 °С в течение 20 минут и полученную реакцию смесь перемешивали при 58 °С-68 °С в течение 1 часа. Затем реакцию смесь охлаждали до комнатной температуры и обрабатывали 1,0 М водным раствором соляной кислоты (4,34 л). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 минут и добавляли воду (6 л). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Твердую фазу собирали фильтрованием, промывали водой (2 л) и сушили в вакууме в течение 4 дней с получением (S)-2,5-дифтор-4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамида (2009,8 г, 93,0%) в виде белого порошка. ¹H-ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,38 (д, J=8,71 Гц, 1H), 7,26 (дд, J=12,91 Гц, 1H), 6,38 (дд, J=12,29 Гц, 1H), 5,70 (д, J=6,38, 1H), 4,75 (м, 1H), 4,56 (м, 1H), 4,22 (м, 2H), 3,71 (м, 2H), 1,28 (д, J=7,16, 3H) м.д.

Стадия 3. (S)-2,5-дифтор-4-(3-оксоазетидин-1-ил)-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамид (соединение 1c)



Раствор 2,5-дифтор-4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (соединение **1b**, 1672,6 г, 5,16 моль) и диацетата йодбензола (1923,5 г, 5,98 моль, 1,16 экв.) в метилхлориде (8,5 л) добавляли к свободному радикалу 2,2,6,6-тетраметил-1-пиперидинилокси (ТЕМРО, 20,9 г, 0,13 моль, 0,025 экв.) при 10 °С-12 °С. Полученную реакцию смесь перемешивали при 10 °С-12 °С, при этом внутренняя температура достигала 36 °С-38 °С в течение 30-60 минут. Охлаждающую баню с ИПС и сухим льдом использовали для контроля температуры реакции. Как только внутренняя температура смеси снижалась до уровня ниже 25 °С, реакцию смесь затем нагревали до 35 °С-38 °С и перемешивали при 35 °С-38 °С в течение дополнительных 2-3 часов. Затем реакцию смесь охлаждали до комнатной температуры и гасили водным раствором (8,0 л) тиосульфата натрия (82,9 г, 0,52 моль) и фосфата калия (950,0 г, 4,5 моль). Две фазы разделяли и органическую фазу промывали водой (2 × 4 л). Затем органический раствор концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного целевого продукта в виде твердой фазы. Твердую фазу суспендировали в *n*-гептане (10 л) при комнатной температуре в течение 30 минут. Твердую фазу собирали фильтрованием, промывали *n*-гептаном (2 × 2 л) и сушили в вакууме в течение ночи с получением (S)-2,5-дифтор-4-(3-оксоазетидин-1-ил)-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамида (1552,1 г, 93,4%) в виде рыжевато-коричневого порошка. ¹H-ЯМР (300 МГц,

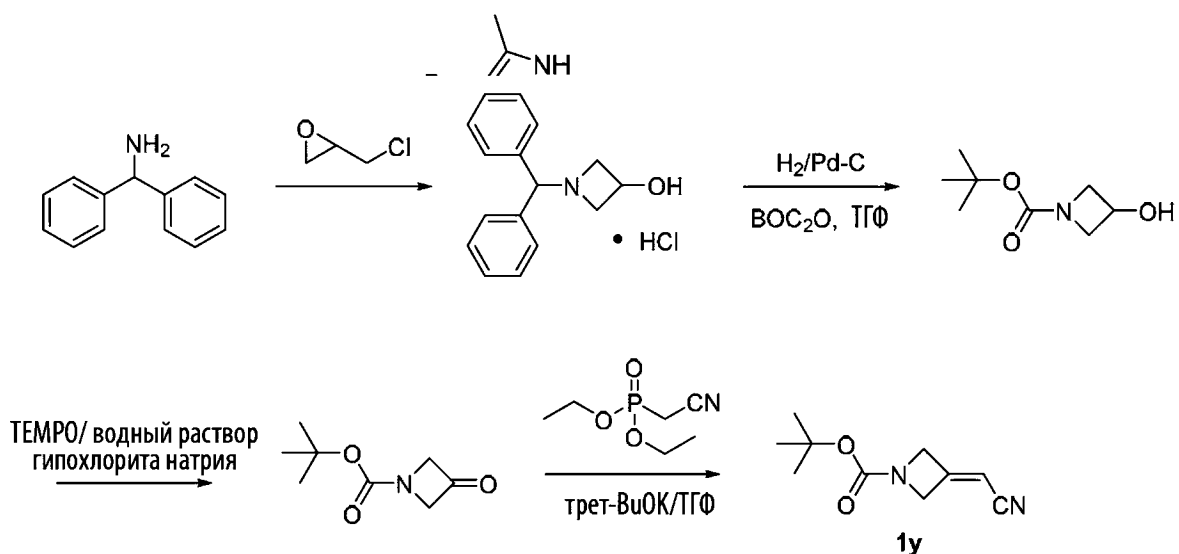
ДМСО- d_6) δ 8,50 (д, $J=8,72$ Гц, 1H), 7,35 (дд, $J=12,6$ Гц, 1H), 6,62 (дд, $J=12,1$ Гц, 1H), 4,81 (с, 4H), 4,56 (м, 1H), 1,30 (д, $J=7,0$ Гц, 3H) м.д.

Стадия 4. (S)-4-(3-(цианометилен)азетидин-1-ил)-2,5-дифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамид (соединение 1x)

Диэтилцианометилфосфонат (422,6 г, 2,39 моль, 0,98 экв) добавляли к раствору 1,0 М *трет*-бутоксидка калия в ТГФ (1996,6 г, 2,27 моль, 0,94 экв.) в атмосфере азота в течение 10 мин при 5 °С-25 °С. Полученную смесь затем нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 1 часа, чтобы получить прозрачный раствор (раствор А). Под азотом, [2,5-дифтор-4-(3-охоазетидин-1-ил)-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид (соединение 1с, 784,2 г, 2,43 моль) добавляли к смеси этанола (EtOH, 0,75 л) и тетрагидрофурана (ТГФ, 2,9 л) с образованием раствора (раствор В). Полученный раствор В затем охлаждали до -5°С в бане с сухим льдом и изопропиловым спиртом, и раствор А добавляли к раствору В в течение 30 минут при температуре от -5°С до 5 °С. Полученную смесь перемешивали при 0 °С-5 °С в течение 60 минут. Затем реакционную смесь гасили добавлением воды (9,4 л) в течение 10 минут. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 60 минут. Затем твердую фазу собирали фильтрованием и промывали водой (2 л) и *n*-гептаном (2,4 л) с получением коричневого порошка. Твердую фазу коричневого цвета суспендировали в метил-*трет*-бутиловом эфире (МТБЭ, 4 л) в течение ночи при комнатной температуре. Твердую фазу собирали фильтрованием, промывали МТБЭ (1 л) и сушили в вакууме в течение 3 дней с получением (S)-4-(3-(цианометилен)азетидин-1-ил)-2,5-дифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамида (671,1 г, 94%) в виде почти белого порошка. ¹H-ЯМР (300 МГц, ДМСО- d_6) δ 8,50 (д, $J=9,95$ Гц, 1H), 7,31 (дд, $J=12,4$ Гц, 1H), 6,58 (дд, $J=12,0$ Гц, 1H), 5,88 (м, 1H), 4,86-4,75 (м, 5H), 1,31 (д, $J=7,0$ Гц, 3H) м.д.

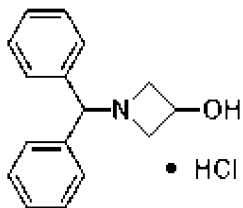
Промежуточное соединение 3. *трет*-Бутил 3-(цианометилен)азетидин-1-карбоксилат (соединение 1y)

Схема 3



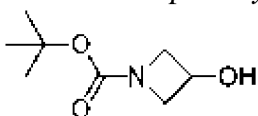
2x

Стадия 1. 1-Бензгидрилазетидин-3-ола гидрохлорид



Раствор дифенилметамин (2737 г, 15,0 моль, 1,04 экв.) в метаноле (MeOH, 6 л) обрабатывали 2-(хлорметил)оксираном (1330 г, 14,5 моль) при температуре окружающей среды. Полученную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 дней, затем кипятили с обратным холодильником еще 3 дня. Реакционную смесь затем охлаждали до комнатной температуры и затем до 0 °С-5°С на ледяной бане. Твердую фазу собирали фильтрованием и промывали ацетоном (4 л) с получением первой партии неочищенного целевого продукта (1516 г). Фильтрат концентрировали при пониженном давлении, а полученную полутвердую фазу разбавляли ацетоном (1 л). Эту твердую фазу затем собирали фильтрованием для получения второй партии неочищенного целевого продукта (221 г). Неочищенный продукт, 1-бензгидрилазетидин-3-ола гидрохлорид (1737 г, выход 43,4%) использовали в последующей реакции без дополнительной очистки. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-d₆) δ 12,28 (ушир.д, 1H), 7,7 (м, 5H), 7,49 (м, 5H), 6,38 (д, 1H), 4,72 (ушир.с, 1H), 4,46 (м, 1H), 4,12 (м, 2H), 3,85 (м, 2H) м.д.; C₁₆H₁₈ClNO (ММ 275,77; C₁₆H₁₇NO для свободного основания, ММ, 239,31), ЖХ-МС (ЭИ) m/e 240 (M⁺ + H).

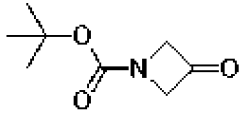
Стадия 2. трет-Бутил 3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат



Суспензию 1-бензгидрилазетидин-3-ола гидрохлорида (625 г, 2,27 моль) в 10% растворе водного карбоната натрия (Na₂CO₃, 5 л) и дихлорметане (CH₂Cl₂, 5 л) перемешивали при комнатной температуре до полного растворения твердой фазы. Два слоя разделяли и водный слой экстрагировали дихлорметаном (CH₂Cl₂, 2 л). Объединенные органические экстракты высушивали над сульфатом натрия (Na₂SO₄) и концентрировали при пониженном давлении. Затем полученное сырое свободное основание 1-бензгидрилазетидин-3-ола растворяли в ТГФ (6 л) и раствор помещали в большую бомбу Парра. В бомбу Парра добавляли ди-*трет*-бутилдикарбонат (BOC₂O, 545 г, 2,5 моль, 1,1 экв.) и 20% палладия (Pd) на углеороде (125 г, влажность 50%). Емкость заполняли до 30 фунтов/кв.дюйм газообразным водородом (H₂) и перемешивали при постоянном давлении водорода (емкость трижды пополняли для поддержания давления на уровне 30 фунтов/кв.дюйм) при комнатной температуре в течение 18 часов. Реакционную смесь фильтровали через слой целита и слой целита промывали ТГФ (4 л). Фильтраты концентрировали при пониженном давлении для удаления растворителя, а остаток загружали в колонку Biotage 150 с минимальным количеством дихлорметана (CH₂Cl₂).

Колонку элюировали 20%-50% этилацетата в *n*-гептане, и фракции, содержащие чистый целевой продукт, *трет*-бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилат, собирали и объединяли. Растворители удаляли при пониженном давлении с получением *трет*-бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата (357 г, выход 90,8%) в виде бесцветного масла, затвердевающего при стоянии в вакууме при температуре окружающей среды. ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3), δ 4,56 (м, 1H), 4,13 (м, 2H), 3,81 (м, 2H), 1,43 (с, 9H) м.д.

Стадия 3. трет-Бутил 3-оксоазетидин-1-карбоксилат



Раствор *трет*-бутил-3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата (50 г, 289 ммоль) в этилацетате (400 мл) охлаждали до 0 °С. Полученный раствор затем обрабатывали твердым ТЕМРО (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 °С-5 °С. Поддерживая температуру реакции в диапазоне 0 °С-5 °С, добавляли насыщенный водный раствор бикарбоната натрия (NaHCO_3 , 450 мл) и водный раствор гипохлорита натрия (NaClO , доступный хлор 10-13%, 450 мл). При добавлении дополнительного количества раствора гипохлорита натрия цвет реакционной смеси постепенно исчезал. Когда исходный материал был израсходован, цвет реакционной смеси больше не изменялся. Затем реакционную смесь разбавляли этилацетатом (EtOAc, 500 мл) и разделяли два слоя. Органический слой промывали водой (500 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (500 мл) и сушили над сульфатом натрия (Na_2SO_4). Затем растворитель удаляли при пониженном давлении для получения неочищенного продукта, *трет*-бутил-3-оксоазетидин-1-карбоксилата (48 г, 49,47 г теоретически, выход 97%), который использовали непосредственно на следующей стадии без дополнительной очистки. ^1H ЯМР (CDCl_3 , 300 МГц), δ 4,65 (с, 4H), 1,42 (с, 9H) м.д.

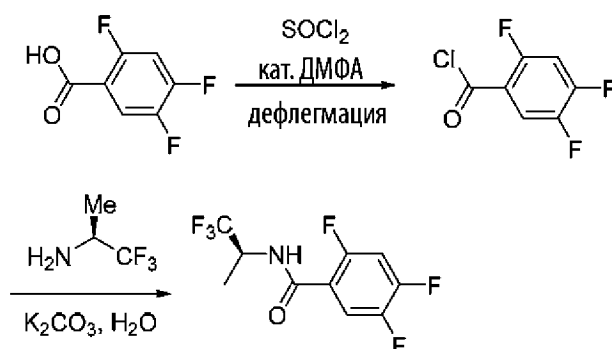
Стадия 4. трет-Бутил 3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилат

Диэтилцианометилфосфат (745 г, 4,20 моль, 1,20 экв.) и безводный тетрагидрофуран (ТГФ, 9 л) добавляли в четырехгорлую колбу при комнатной температуре. Раствор охлаждали на ледяной бане с метанолом до -14 °С и добавляли 1,0 М раствор *трет*-бутоксид калия (*трет*-BuOK) в безводном тетрагидрофуране (ТГФ, 3,85 л, 3,85 моль, 1,1 экв.) в течение 20 минут, поддерживая температуру реакционной смеси ниже -5 °С. Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 3 часов при -10 °С и добавляли раствор 1-*трет*-бутоксикарбонил-3-азетидинона (600 г, 3,50 моль) в безводном тетрагидрофуране (ТГФ, 2 л) на протяжении 2 часов, поддерживая внутреннюю температуру ниже -5 °С. Реакционную смесь перемешивали при температуре от -5 °С до -10 °С в течение 1 часа, а затем медленно нагревали до комнатной температуры и перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Затем реакционную смесь разбавляли водой (4,5 л) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (NaCl , 4,5 л), и экстрагировали этилацетатом (EtOAc, 2 x 9 л). Объединенные

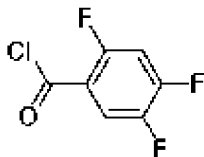
органические слои промывали насыщенным соевым раствором (6 л) и высушивали над безводным сульфатом натрия (Na_2SO_4). Растворитель удаляли при пониженном давлении, а остаток разбавляли дихлорметаном (CH_2Cl_2 , 4 л), затем абсорбировали на силикагеле (SiO_2 , 1,5 кг). Неочищенный продукт, который абсорбировали на силикагеле, очищали методом колоночной флэш-хроматографии (SiO_2 , 3,5 кг, градиентное элюирование 0%-25% EtOAc и *n*-гексаны) с получением *трет*-бутил-3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилата (414,7 г, выход 61%) в виде белой твердой фазы. ^1H ЯМР (300 МГц, CDCl_3) δ 5,40 (м, 1H), 4,70 (м, 2H), 4,61 (м, 2H), 1,46 (с, 9H) м.д.; $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ (ММ, 194,23), ЖХ-МС (ЭИ) m/e 217 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

Промежуточное соединение 4. Альтернативный синтез (S)-2,4,5-трифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамида (соединение 1a)

Схема 4.



Стадия 1. 2,4,5-трифторбензоилхлорид



В реактор объемом 100 л загружали SOCl_2 (34,9 кг), ДМФА (0,34 л) и 2,4,5-трифторбензойную кислоту (32,3 кг). Реакционную смесь нагревали до 80°C и перемешивали при 80°C - 90°C в течение 9 часов. Реакционную смесь охлаждали до 50°C - 60°C и перегоняли под вакуумом при 60°C до прекращения перегонки. В реактор загружали 14 кг толуола и реакционную смесь непрерывно перегоняли при 60°C с получением неочищенного продукта, 2,4,5-трифторбензоилхлорида (46,28 кг, 88% по данным ВЭЖХ), который использовали непосредственно в следующей реакции.

Стадия 2. (S)-2,4,5-трифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамид (соединение 1a)

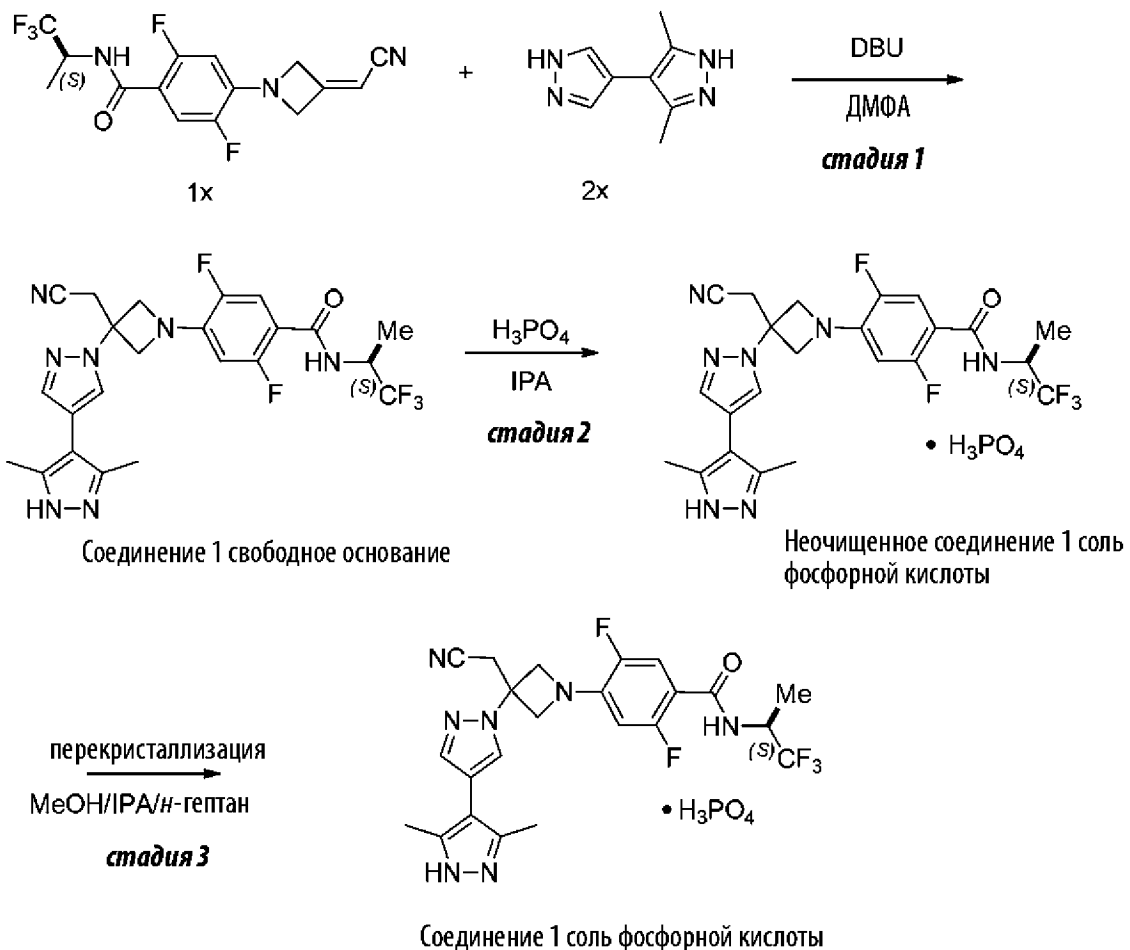
Водный раствор (158 л), содержащий гидрохлоридную соль (S)-1,1,1-трифторпропан-2-ами (35 кг), загружали в реактор объемом 1000 л, и в реактор загружали толуол (198 кг), после чего добавляли порциями K_2CO_3 (82 кг). 2,4,5-Трифторбензоилхлорид (36,1 кг) растворяли в толуоле (40 кг) и толуольный раствор загружали в реактор вместе с толуольным раствором аминного промежуточного соединения. Полученную смесь перемешивали при 20°C в течение 2 часов. Реакционную

смесь фильтровали и осадок на фильтре промывали толуолом (117 кг). Фильтрат и промывную жидкость загружали в реактор объемом 1000 л, и в реактор загружали 1 н. водный раствор NaOH (125 кг). Смесь перемешивали в течение 2 часов и давали фазам разделиться. Водную фазу отбрасывали, а органическую фазу дважды промывали водой (135 кг) и хранили в чистом контейнере (раствор 1). Отдельную часть (часть 2) обрабатывали таким же образом, чтобы получить раствор 2. Раствор 1 и раствор 2 загружали в реактор объемом 1000 л, и в реактор загружали Na₂SO₄ (104 кг). Смесь перемешивали в течение 2 часов, фильтровали и осадок на фильтре промывали толуолом (90 кг). Фильтрат и промывную жидкость загружали в реактор объемом 500 л и реакционную смесь перегоняли в вакууме при 50 °С. В реактор объемом 500 л загружали толуол (14 кг) и гептан (166 кг) и реакционную смесь перемешивали при 80°С до получения раствора. Раствор охлаждали до 25°С и перемешивали в течение 2 часов. Продукт выделяли вакуумной фильтрацией и осадок на фильтре промывали *n*-гептаном (40 кг). Осадок на фильтре высушивали в вакууме при ≤50°С с получением неочищенного продукта, (S)-2,4,5-трифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамида (87,0 кг; 79,0% масс. по ПМВ (потеря в массе при высушивании), чистый вес: 68,7 кг; 68%; 69,4% по данным ВЭЖХ; 97,1% э.и. методом хиральной ВЭЖХ), который дополнительно очищали от смеси ИПС и *n*-гептана в соответствии со следующими процедурами.

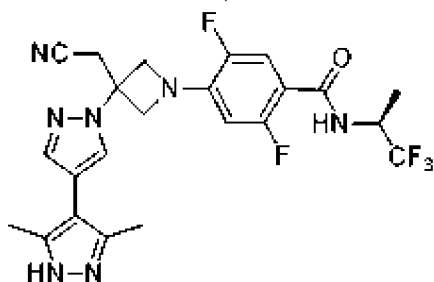
В реактор объемом 500 л загружали ИПС (30,5 кг), гептан (213 кг) и неочищенный (S)-2,4,5-трифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамид (70 кг). Смесь нагревали до 85°С и перемешивали до образования прозрачного раствора. Реакционную смесь охлаждали до 20°С и перемешивали в течение 12 часов. Реакционную смесь фильтровали, осадок на фильтре промывали *n*-гептаном (48 кг) и сушили в вакууме при 50°С с получением очищенного продукта (S)-2,4,5-трифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамида (37,5 кг, 54%; чистота ВЭЖХ: 98,8%; 99,7% э.и. по данным хиральной ВЭЖХ). ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃) δ 7,96 (м, 1H), 7,01 (м, 1H), 6,71 (м, 1H), 4,93 (м, 1H), 1,44 (д, J=8,00 Гц, 3H) м.д.

Пример 1. Синтез соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида фосфорной кислоты (соль фосфорной кислоты соединения 1)

Схема 5



Стадия 1. 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид (свободное основание соединения 1)

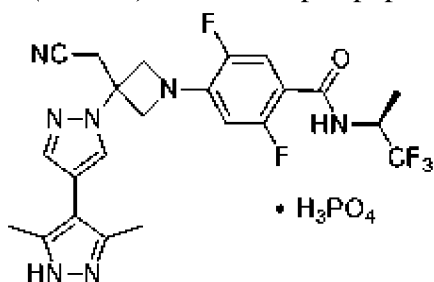


3,5-Диметил-1Н,1'Н-[4,4']бипиразолила гидрохлорид (соединение 2x HCl, 2002 г, 12,34 моль, 1,1 экв.), ДМФА (3,9 л) и DBU (0,201 л, 204,6 г, 1,34 моль, 0,12 экв.) загружали в реактор объемом 50 л и реакционную смесь нагревали до 50 °С-60°С и перемешивали около 30 минут. Отдельно готовили раствор посредством тщательного перемешивания (S)-4-(3-(цианометилен)азетидин-1-ил)-2,5-дифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамида (соединение 1x, 3872 г, 11,21 моль) и ДМФА (11,6 л). Затем к реакционной смеси добавляли раствор соединения 1x в ДМФА, поддерживая температуру при около 61 °С. Полученную реакционную смесь перемешивали при около 60°С в течение около 3,5 часов. Реакционную смесь затем охлаждали до комнатной температуры и в реактор добавляли воду (77,4 л). Охлажденную реакционную смесь добавляли к воде,

поддерживая температуру около 21 °С. Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение около 1,5 часов. Твердую фазу собирали фильтрованием и осадок на фильтре промывали питьевой водой (38,7 л). Влажный осадок сушили на воздухе с получением 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (свободное основание соединения 1, 5849 г).

В хроматографическую колонку загружали последовательно этилацетат (9,9 л), CH₂Cl₂ (22,4 л) и силикагель (8000 г), тщательно перемешивали и элюировали на поверхность силикагеля. Неочищенное свободное основание соединения 1 (1006 г), силикагель (4000 г) и CH₂Cl₂ (8,0 л) загружали в первый роторный испаритель и вращали при температуре около 22°С в течение около 45 минут без сбора растворителя. Неочищенное свободное основание соединения 1 (1008 г), силикагель (4002 г) и CH₂Cl₂ (8,0 л) загружали во второй роторный испаритель и вращали при температуре около 23°С в течение около 45 минут без сбора растворителя. Обе смеси затем концентрировали при около 34°С при пониженном давлении, и остаток загружали в колонку. В колонку загружали морской песок (5010 г). Колонку последовательно элюировали собранным элюентом (16 л), 30% (об./об.) EtOAc-CH₂Cl₂ (приготовлен отдельно из 31,2 л EtOAc и 72,8 л CH₂Cl₂), 5% (об./об.) MeOH-CH₂Cl₂ (приготовлен отдельно из 2,5 л MeOH и 47,5 л CH₂Cl₂) и 8% (об./об.) MeOH-CH₂Cl₂ (приготовлен отдельно из 4,8 л MeOH и 55,2 л CH₂Cl₂). Объединенные фракции концентрировали при пониженном давлении при около 45°С с получением чистого свободного основания соединения 1 (1824 г). Провели четыре партии очистки на колонке, чтобы получить 5181 г чистого 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (свободное основание соединения 1; выход 91%). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,22 (с, 1H), 8,50 (д, J=8,7 Гц, 1H), 8,13 (с, 1H), 7,72 (с, 1H), 7,36 (дд, J=12,5, 6,3 Гц, 1H), 6,62 (дд, J=11,9, 7,3 Гц, 1H), 4,78 (м, 1H), 4,64 (д, J=8,9 Гц, 2H), 4,40 (д, J=9,1 Гц, 2H), 3,66 (с, 2H), 2,23 (с, 6H), 1,31 (д, J=7,0 Гц, 3H) м.д.; ¹³C ЯМР (101 МГц, DMSO-d₆) δ 162,8, 156,7 (д, J=246,6 Гц), 146,9 (д, J=236,9 Гц), 145,2, 141,6 (т, J=12,3 Гц), 138,3, 135,5, 125,8 (к, J=281,9 Гц), 125,6, 117,2, 116,4 (д, J=26,4 Гц), 115,2, 111,3 (дд, J=15,7, 5,8 Гц), 107,7, 102,0 (д, J=29,1 Гц), 62,4, 57,7, 45,8 (к, J=30,8 Гц), 27,0, 13,3, 13,3, 10,4 м.д.; ¹⁹F ЯМР (282 МГц, DMSO-d₆) δ -76,17 (д, J=7,4 Гц), -116,89 (с), -139,71 (с) м.д.

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



К прозрачному раствору 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (свободное основание соединения 1, 405,0 г, 798,1 ммоль) в метаноле (MeOH, 520,0 мл) и 2-пропаноле (ИПС, 2550,0 мл) при 50 °С добавляли раствор фосфорной кислоты (85% масс. водный, 119,65 г, 1037,8 ммоль, 1,3 экв.) в изопропиловом спирте (ИПС, 120,0 мл) в течение 18 минут. Полученную суспензию перемешивали при 50 °С в течение 1 часа. Затем добавляли *n*-гептан (4050,0 мл) в течение 40 минут, поддерживая внутреннюю температуру в диапазоне 46 С-53 °С. После добавления *n*-гептана суспензию охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение 19 часов. Твердую фазу собирали фильтрованием, промывали смесью 2-пропанол/и *n*-гептан (от 3 до 10 по объему, 2 x 700 мл), затем *n*-гептаном (3 x 550 мл) и сушили в вакууме при комнатной температуре с получением неочищенной соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида фосфорной кислоты (неочищенная соль фосфорной кислоты соединения 1, 434,6 г, выход 89,9%).

Стадия 3. Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид фосфорной кислоты (неочищенная соль фосфорной кислоты соединения 1)

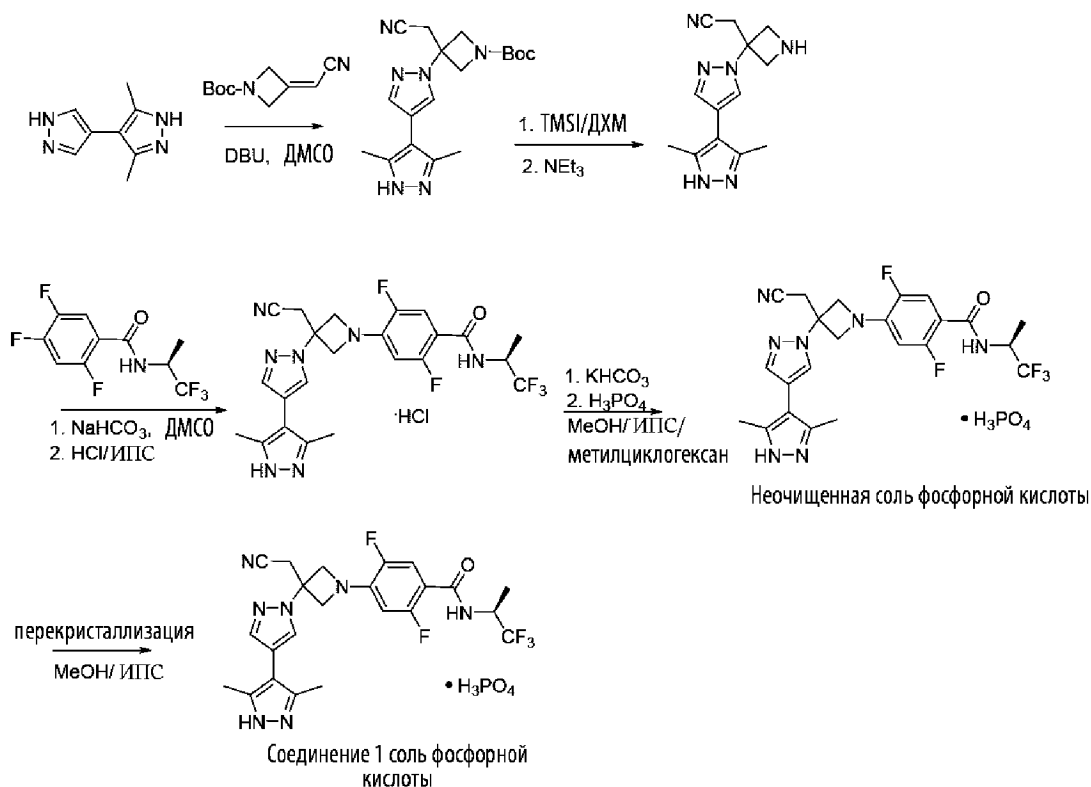
Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид фосфорной кислоты (неочищенная соль фосфорной кислоты соединения 1, 958,3 г, 1583 ммоль) и метанол (MeOH, 9583,0 мл) загружали в колбу объемом 22 л при комнатной температуре. Полученную суспензию нагревали до 50 °С с получением прозрачного светло-оранжевого раствора. Раствор подвергали полирующей фильтрации, переносили в колбу объемом 22 л и нагревали для удаления метанола в течение 70 мин. Затем в колбу добавляли 2-пропанол (ИПС, 7700 мл) в течение 30 минут, поддерживая внутреннюю температуру в диапазоне 50 °С-65 °С. Затем порциями добавляли *n*-гептан (14400 мл), поддерживая перегонку смеси растворителей (MeOH, ИПС и *n*-гептан) в течение 2,5 часов. Всего перегоняли 10818 г (15000 мл) смеси растворителей. Реакционную суспензию охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение 17 ч. Твердую фазу собирали фильтрованием, промывали смесью 2-пропанола (ИПС) и *n*-гептана (от 1 до 5 по объему, 3000 мл), затем *n*-гептаном (3 x 4000 мл) и сушили в вакууме при комнатной температуре с получением 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамидной соли фосфорной кислоты (соль фосфорной кислоты соединения 1, 925,7 г, выход 96,6%) в виде почти белого кристаллического порошка. ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d₆) δ 9,35 (уш.с, 4H), 8,50 (д, J=8,9 Гц, 1H), 8,11 (с, 1H), 7,70 (с, 1H), 7,34 (дд, J=12,5, 6,4 Гц, 1H), 6,61 (дд, J=12,0, 7,4 Гц, 1H), 4,86-4,69 (м, 1H), 4,61 (д, J=8,9 Гц, 2H), 4,38 (д, J=8,9 Гц, 2H), 3,64 (с, 2H), 2,21 (с, 6H), 1,30 (д, J=7,1 Гц, 3H) м.д.; ¹³C ЯМР (100 МГц, ДМСО- d₆) δ 162,8, 156,7 (д, J_{CF}=246,5 Гц), 146,9 (д, J_{CF}=236,1 Гц), 141,6 (дд, J_{CF}=13,0, 11,7 Гц), 140,3, 138,3, 125,8 (к, J_{CF}=281,8 Гц), 125,6, 117,2, 116,4 (дд, J_{CF}=22,3, 4,6 Гц), 115,1, 111,3 (дд, J_{CF}=15,7, 5,8 Гц), 107,7, 102,0 (дд,

$J_{CF}=29,5, 4,5$ Гц), 62,3, 57,7, 57,7, 45,8 (к, $J_{CF}=30,5$ Гц), 27,0, 13,3 (д, $J_{CF}=1,7$ Гц), 11,7 м.д.; $C_{23}H_{22}F_5N_7O$ (ММ 507,46), ЖХ-МС (ЭИ) m/e 508,1 ($M^+ + H$).

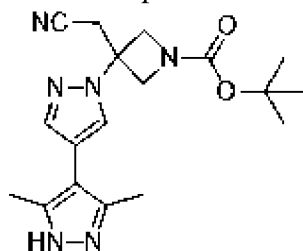
Соотношение в соли фосфорной кислоты измеряли методом 1H ЯМР при 1,01 фосфорной кислоты к свободному основанию соединения 1. Такую же кристаллическую форму лекарственного вещества соли фосфорной кислоты соединения 1 последовательно готовили в соответствии с процедурами получения и очистки, описанными выше. Эта форма была подтверждена дифференциальной сканирующей калориметрией (ДСК), как показано на фиг. 1, термогравиметрическим анализом (ТГА), как показано на фиг. 2, и порошковой рентгеновской дифракцией (РПД), как показано на фиг. 3.

Пример 2. Альтернативный синтез соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида фосфорной кислоты (соль фосфорной кислоты соединения 1)

Схема 6



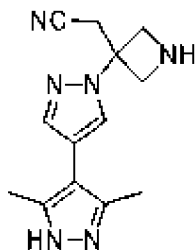
Стадия 1. трет-Бутил 3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-[4,4'-бипиразол]-1-ил)азетидин-1-карбоксилат



В высушенный остеклованный реактор объемом 250 л загружали безводный диметилсульфоксид (ДМСО; 57,0 л), который нагревали до 32 °С. Как только

растворитель достигал температуры, в реакционный сосуд загружали *трет*-бутил-3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилат (соединение **1y**, 22,8 кг, 117,4 моль, 1,0 экв.), а затем 3,5-диметил-4, 4'-бипиразол (соединение **2x**, 20,0 кг, 123,3 моль, 1,05 экв.). Реакционную смесь охлаждали до 24 °С, в реакционный сосуд загружали DBU (4,4 л, 29,56 моль, 0,25 экв) и полученный раствор перемешивали в течение по меньшей мере 2 часов. Затем реакционную смесь разбавляли метиленхлоридом (116 л) и добавляли к водному раствору 10% лимонной кислоты и 10% NaCl (97 л). Нижний органический слой отделяли от двухфазной смеси и водный слой экстрагировали метиленхлоридом (58 л). Затем объединенные органические слои дважды промывали водным раствором 10% лимонной кислоты и 10% NaCl (97 л). В рамках второй промывки к органическому слою (58 л) добавляли дополнительное количество метиленхлорида (ДХМ). После промывки в реакционную смесь загружали изопропилацетат (465 л), проводя перегонку при постоянном объеме. В процессе перегонки образовывалась белая твердая фаза. Полученную суспензию охлаждали до 20 °С, перемешивали в течение по меньшей мере 4 часов, фильтровали и сушили с получением целевого продукта, *трет*-бутил-3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-[4,4'-бипиразол]-1-ил)азетидин-1-карбоксилата (30,4 кг, 79%), в виде белой твердой фазы. ¹Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,19 (с, 1Н), 8,06 (с, 1Н), 7,70 (с, 1Н), 4,41 (д, J=9,4 Гц, 2Н), 4,18 (д, J=9,3 Гц, 2Н), 3,55 (с, 2Н), 2,23 (д, J=19,5 Гц, 6Н), 1,41 (с, 9Н) м.д.; C₁₈H₂₄N₆O₂, (ММ 356,42), ЖХ-МС (ЭИ) m/e 357,4 (M⁺+Н).

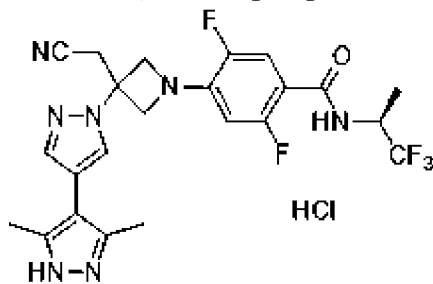
Стадия 2. 2-(3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-[4,4'-бипиразол]-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил



В остеклованный реактор объемом 450 л загружали метиленхлорид (300 л) и *трет*-бутил-3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-[4,4'-бипиразол]-1-ил)азетидин-1-карбоксилат (30,0 кг, 84,17 моль, 1000 экв.). Добавляли TMSI (14,4 л, 101,45 моль, 1,205 экв.) и полученный раствор перемешивали в течение по меньшей мере 2 часов при 25 °С. В реактор загружали метанол (4,3 л, 106,12 моль, 1,261 экв.) и реакционную смесь перемешивали в течение дополнительных 30 минут. Затем реакционную смесь нагревали для удаления метиленхлорида (150 л) посредством перегонки. После завершения перегонки в сосуд загружали изопропилацетат (IPAc, 150 л) при 25°С и реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа. Полученную суспензию фильтровали и промывали IPAc с получением неочищенной смеси 2-(3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-[4,4'-бипиразол]-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрила и 2-(3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-[4,4'-бипиразол]-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрильной соли йодистоводородной кислоты в виде желтой твердой фазы (68 кг).

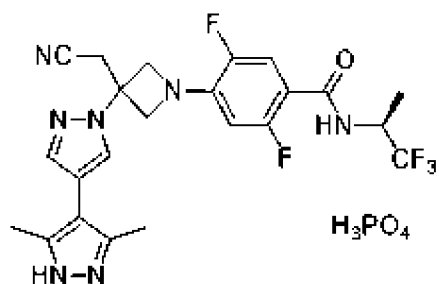
Затем неочищенную твердую фазу переносили в остеклованный реактор объемом 450 л, загруженный метиленхлоридом (360 л). Триэтиламин (14 л, 100,80 моль, 1,198 экв.) загружали в реактор в течение 30 минут и полученную смесь перемешивали при 25°C в течение 12 часов. Полученную суспензию фильтровали, промывали один раз метиленхлоридом и трижды IPAc, фильтровали и сушили с получением целевого продукта, 2-(3-(3',5'-диметил-1H,1'H-[4,4'-бипиразол]-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрила (16,8 кг, 78%), в виде белой твердой фазы. ¹H ЯМР (600 МГц, ДМСО- d₆) δ 10,16 (к, J=7,0 Гц, 1H), 9,90 (с, 1H), 8,45 (с, 1H), 7,92 (с, 1H), 4,65-4,55 (м, 2H), 4,36-4,25 (м, 2H), 3,88 (с, 2H), 2,41 (с, 6H) м.д.; C₁₃H₁₆N₆, (ММ 256,31), ЖХ-МС (ЭИ) m/e 257,2 (M⁺ + H).

Стадия 3. Соль (S)-4-(3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-[4,4'-бипиразол]-1-ил)азетидин-1-ил)-2,5-дифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамид соляной кислоты



В остеклованный реактор объемом 250 л загружали 2-(3-(3',5'-диметил-1H,1'H-[4,4'-бипиразол]-1-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил (12 кг, 46,8 моль, 1,00 экв.), (S)-2,4,5-трифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамид (14,6 кг, 53,8 моль, 1,15 экв.), NaHCO₃ (4,1 кг, 49,1 моль, 1,05 экв.), LiCl (4,0 кг, 93,6 моль, 2,00 экв) и ДМСО (96 л, 8 В). Полученную реакционную смесь нагревали до 85 °С в течение по меньшей мере 7 часов, а затем полученный раствор охлаждали до комнатной температуры. Реакционную смесь разбавляли изопропилацетатом (147 л, 12 В), а затем водой (120 л, 10 В). Водный слой отделяли, а оставшийся органический слой промывали 1% масс. водным раствором лимонной кислоты (88 л, 7,3 В) и водой (88 л, 7,3 В) перед концентрированием до около 133 л (11 В). Затем к смеси добавляли изопропилацетат (147 л, 12,25 В) в процессе проведения перегонки при постоянном объеме. Далее раствор HCl в ИПС (2,5% масс., 96 л, 8 В) загружали в реактор и полученный раствор перемешивали при комнатной температуре. Через 1 час в суспензию загружали метилциклогексан (220 л, 18,1 В) и полученную суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение дополнительных 4 часов. Полученную суспензию фильтровали и влажный осадок промывали смесью метилциклогексана и изопропилацетата (3:1, 60 л, 5 В), затем метилциклогексаном (60 л, 5 В). Наконец, влажный осадок сушили при 50 °С-60 °С в вакууме с получением неочищенного целевого продукта, (S)-4-(3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-[4,4'-бипиразол]-1-ил)азетидин-1-ил)-2,5-дифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамида гидрохлорида (22,4 кг, 88%).

Стадия 4. Соль (S)-4-(3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-[4,4'-бипиразол]-1-ил)азетидин-1-ил)-2,5-дифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамид фосфорной кислоты



В остеклованный реактор объемом 450 л загружали изопропилацетат (286 л, 10 В) и (S)-4-(3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-[4,4'-бипиразол]-1-ил)азетидин-1-ил)-2,5-дифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамидную соль соляной кислоты (28,6 кг), затем KHCO_3 (86 л, 10% масс. в воде, 3 В). Суспензию перемешивали до получения прозрачного раствора. Затем удаляли водный слой и органические слои промывали водой (86 л (3 В)) и затем фильтровали через древесный уголь во второй остеклованный реактор. Органические слои концентрировали для удаления 240 л (8,4 В) растворителя при 50 °С при пониженном давлении от 200 мбар до 400 мбар. В полученный остаток загружали изопропанол (163 л, 5,7 В) при 50 °С и затем охлаждали до комнатной температуры. Далее 14,9 кг (52% масс.) из 48% масс. H_3PO_4 в ИПС/вода загружали в реактор в течение по меньшей мере 2 часов и полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение по меньшей мере 1 часа. Метилциклогексан (172 л, 6 В) загружали при комнатной температуре и смесь перемешивали в течение по меньшей мере 1 часа. Суспензию фильтровали и осадок промывали 1:1 ИПС/метилциклогексан (86 л, 3 В), затем метилциклогексаном (86 л, 3 В). Влажный осадок затем сушили при 50°С в вакууме с получением неочищенной (S)-4-(3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-[4,4'-бипиразол]-1-ил)азетидин-1-ил)-2,5-дифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамидной соли фосфорной кислоты (28,0 кг (88%).

В остеклованный реактор емкостью 450 л загружали неочищенную соль фосфорной кислоты (28,0 кг) и метанол (336 л (12 В)), и полученную смесь нагревали до 50 °С с получением прозрачного раствора. Раствор переносили в отдельный реактор через полирующий фильтр. МеОН (28 л, 1 В) использовали для промывки первого реактора, а затем переносили во второй реактор через полирующий фильтр. Затем фильтрат концентрировали до 7 В посредством перегонки 196 л (7 В) растворителя при 45 °С при пониженном давлении от 300 мбар до 400 мбар. Далее заправку чистой (S)-4-(3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-[4,4'-бипиразол]-1-ил)азетидин-1-ил)-2,5-дифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамидной соли фосфорной кислоты (28,0 г, 0,1% масс.) загружали в реактор и смесь перемешивали при 45°С в течение по меньшей мере 15 мин. Загружали изопропанол (196 л, 7 В) и отгоняли 196 л (7 В) растворителей при температуре около 45 °С при пониженном давлении от 100 мбар до 200 мбар. Изопропанол (196 л, 7 В) загружали в реактор и 196 л (7 В) растворителей удаляли перегонкой. Выполняли ИПС, чтобы подтвердить, что содержание метанола не превышало 5% в смеси. Затем смесь охлаждали до комнатной температуры и полученную суспензию фильтровали. Остаток на фильтре дважды промывали изопропанолом (56 л, 2 В), а затем сушили при 50°С при

пониженном давлении с получением (S)-4-(3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-[4,4'-бипиразол]-1-ил)азетидин-1-ил)-2,5-дифтор-N-(1,1,1-трифторпропан-2-ил)бензамидной соли фосфорной кислоты (24,1 кг (86,1%) в виде белой твердой фазы. ^1H ЯМР (500 МГц, ДМСО- d_6) δ 8,53-8,43 (м, 1H), 8,12 (д, $J=0,7$ Гц, 1H), 7,72 (с, 1H), 7,36 (дд, $J=12,5, 6,3$ Гц, 1H), 6,63 (дд, $J=11,9, 7,2$ Гц, 1H), 4,85-4,72 (м, $J=7,5$ Гц, 1H), 4,64 (д, $J=9,0$ Гц, 2H), 4,45-4,37 (м, 2H), 3,66 (с, 2H), 2,24 (с, 6H), 1,33 (д, $J=7,1$ Гц, 3H) м.д.; $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{F}_5\text{N}_7\text{O}_5\text{P}$ (ММ 605,45; $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{F}_5\text{N}_7\text{O}$: ММ 507,47), ЖХ-МС (ЭИ) m/e 508,2 ($\text{M}^+ + \text{H}$).

Пример А. Анализ JAK-киназы in vitro

Соединения, предложенные в данном документе, испытывали на предмет ингибирующей активности в отношении мишеней JAK в соответствии со следующим анализом in vitro, описанным в Park et al., Analytical Biochemistry **1999**, 269, 94-104. Каталитические домены JAK1 человека (837-1142 а.о.), JAK2 (828-1132 а.о.) и JAK3 (781-1124 а.о.) с N-концевой His-меткой экспрессируют с использованием бакуловируса в клетках насекомых и очищают. Каталитическую активность JAK1, JAK2 или JAK3 анализировали, измеряя фосфорилирование биотинилированного пептида. Фосфорилированный пептид обнаруживали по гомогенной флуоресценции с временным разрешением (ГФВР). Значения IC_{50} соединений измеряли для каждой киназы в 40 мкл реакционных смесей, которые содержали фермент, АТФ и 500 нМ пептида в 50 мМ буфере Трис (рН 7,8), содержащем 100 мМ NaCl, 5 мМ Дт и 0,1 мг/мл (0,01%) БСА. Для определения значений измерений 1 мМ IC_{50} , концентрация АТФ в реакционных смесях составляла 1 мМ. Реакции осуществляли при комнатной температуре в течение 1 часа, после чего останавливали с использованием 20 мкл 45 мМ ЭДТА, 300 нМ СА-АФЦ, 6 нМ Eu-Py20 в буфере анализа (Perkin Elmer, Бостон, Массачусетс). Связывание с меченым европием антителиком происходило в течение 40 минут, и сигнал ГФВР измеряли на устройстве для считывания планшетов Fusion (Perkin Elmer, Бостон, Массачусетс). Свободное основание соединения 1 имело $\text{IC}_{50} \leq 300$ нМ с селективностью JAK2/JAK1 > 10 при 1 мМ АТФ.

Пример В: Клеточные анализы

Линиями раковых клеток, рост которых зависит от цитокинов и, таким образом, от преобразования сигнала JAK/STAT, можно покрыть с плотностью 6000 клеток лунку (формат 96-луночного планшета) в RPMI 1640, содержащей 10% ФБС и 1 нг/мл подходящего цитокина. Соединения, предложенные в данном документе, добавляли к клеткам в ДМСО/среде (конечная концентрация 0,2% ДМСО) и инкубировали в течение 72 часов при 37 °С, 5% CO_2 . Влияние соединения на жизнеспособность клеток оценивают с применением люминесцентного анализа жизнеспособности клеток CellTiter-Glo (Promega), с последующей количественной оценкой с использованием TopCount (Perkin Elmer, Бостон, Массачусетс). Потенциальные нецелевые эффекты соединений измеряют в параллельном эксперименте с применением клеточной линии, не управляемой JAK, с таким же считыванием результатов анализа. Все эксперименты, как правило, выполняют в двух параллельных экспериментах.

Вышеупомянутые линии клеток могут применяться для изучения влияния соединений на фосфорилирование JAK-киназ или потенциальных субстратов ниже в биохимическом пути, таких как белки STAT, Akt, Shp2 или Erk. Эти эксперименты могут выполняться после лишения цитокинов на протяжении ночи, с последующей краткой предварительной инкубацией с соединением (2 часа или менее) и стимуляцией цитокином приблизительно в течение 1 часа или менее. Затем белки экстрагируют из клеток и анализируют методами, известными специалистам в данной области, включая Вестерн-блоттинг или ТИФА с применением антител, которые могут различать фосфорилированный и общий белок. В таких экспериментах могут применяться нормальные или раковые клетки для исследования влияния соединений на биологию выживания опухолевой клетки или медиаторы воспалительного заболевания. Например, с учетом последнего, цитокины, например, IL-6, IL-12, IL-23 или IFN, могут применяться для стимуляции активации JAK, что приводит к фосфорилированию белка(ов) STAT и потенциально к профилям транскрипции (оцененным с помощью массива или технологией кПЦР) или выработке и/или секреции белков, таких как IL-17. Способность соединений подавлять эти опосредованные цитокинами эффекты может быть измерена с применением методик, обычных для специалистов в данной области.

Соединения, предложенные в данном документе, могут быть испытаны на клеточных моделях, разработанных для оценки их активности и действия против мутантных JAK, например, мутации JAK2V617F, обнаруженной при миелоидных пролиферативных расстройствах. В этих экспериментах часто используют зависимые от цитокинов клетки гематологического происхождения (например, BaF/3), в которые эктопически экспрессируются киназы JAK дикого типа или мутантные (James, C., et al. Nature 434:1144-1148; Staerk, J., et al. JBC 280:41893-41899). Конечные точки включают влияние соединений на выживание, пролиферацию клеток и фосфорилированные белки JAK, STAT, Akt или Erk.

Соединения, предложенные в данном документе, могут быть оценены на предмет их активности с точки зрения подавления пролиферации Т-клеток. Такой анализ можно рассматривать как второй анализ пролиферации, управляемый цитокинами (*например*, JAK), а также упрощенный анализ подавления иммунитета или ингибирования активации иммунитета. Следующее представляет собой краткий набросок того, каким образом могут выполняться такие эксперименты. Моноядерные клетки периферической крови (МКПК) получают из образцов цельной крови человека с применением метода отделения Ficoll Нураге, и Т-клетки (фракция 2000) могут быть получены из МКПК сцеживанием. Свежевыделенные Т-клетки человека можно сохранять в среде для культивирования (RPMI 1640 с добавлением 10% сыворотки телячьего эмбриона, 100 Ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина) с плотностью 2×10^6 клеток/мл при 37°C до 2 дней. Для анализа стимулированной IL-2 пролиферации клеток, Т-клетки вначале обрабатывают фитогемагглютинином (ФГА) в конечной концентрации 10 мкг/мл в течение 72 часов. После однократного промывания ФСБ, 6000 клеток/лунку высевали в 96-луночные

планшеты и обрабатывали соединениями, предложенными в данном документе, в различных концентрациях в среде для культивирования в присутствии 100 Ед/мл IL-2 человека (ProSpec-Tany TechnoGene; Реховот, Израиль). Планшеты инкубировали при 37°C в течение 72 часов, и индекс пролиферации оценивали с применением люминесцентных реактивов CellTiter-Glo, в соответствии с предложенным производителем протоколом (Promega; Мэдисон, Висконсин).

Пример С. Противоопухолевая эффективность *in vivo*

Соединения, предложенные в данном документе, могут быть оценены на моделях ксенотрансплантата опухоли человека у иммунокомпromетированных мышей. Например, туморигенный вариант линии клеток плазмацитомы INA-6 может применяться для подкожной инокуляции мышей SCID (Burger, R., et al. *Hematol J.* 2:42-53, 2001). Затем несущие опухоль животные могут быть рандомизированы в группы лечения лекарственным средством или несущей лекарственное вещество средой, и различные дозы соединений, предложенных в данном документе, могут быть введены любым количеством обычных способов, включая пероральный, внутрибрюшинный или непрерывную инфузию с применением имплантируемых насосов. Рост опухоли отслеживают с течением времени с применением штангенциркуля. В дальнейшем, образцы опухоли могут быть собраны для анализа в любое время после начала лечения, как описано выше (пример В), чтобы оценить влияние соединения на активность JAK и нижележащие пути проведения сигнала. Кроме того, селективность соединения может быть оценена с применением ксенотрансплантатных моделей опухоли, которыми управляют другие известные киназы, например, Vcr-Abl), например, модель опухоли K562.

Пример D: Испытание на мышах замедленной реакции гиперчувствительности при контакте с кожей

Соединения, предложенные в данном документе, также могут быть испытаны на предмет их эффективности (ингибирование мишеней JAK) модели для испытаний управляемой Т-клетками замедленной гиперчувствительности у мышей. Реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) при контакте с кожей у мышей считается валидной моделью клинического контактного дерматита и других опосредованных Т-лимфоцитами иммунных кожных расстройств, таких как псориаз (*Immunol Today.* 1998 Jan;19(1):37-44). ГЗТ у мышей обладает множеством общих характеристик с псориазом, включая иммунный инфильтрат, сопутствующее повышение уровня воспалительных цитокинов и гиперпролиферацию кератиноцитов. Кроме того, многие классы агентов, эффективных для лечения 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 сенсibiliзируют местным нанесением на выбритое брюхо антигена 2,4-динитро-фторбензола (ДНФБ). На 5-й день толщину ушей измеряют с применением инженерного микрометра. Результаты измерения регистрируют и используют в качестве начального значения. На оба уха животных местно наносят ДНФБ в общем количестве 20 мкл (10 мкл на внутреннюю сторону ушной раковины и 10 мкл на

наружную сторону ушной раковины) с концентрацией 0,2%. Через 24-72 часа после провокации уши снова измеряют. Лечение соединениями, предложенными в данном документе, осуществляют в ходе фаз сенсibilизации и провокации (с дня -1 до 7-го дня) или до и на протяжении фазы провокации (как правило, во второй половине дня с 4-го дня до 7-го дня). Лечение исследуемым соединением (в различной концентрации) осуществляют системно или местно (местное нанесение лекарственного средства на уши). На эффективность исследуемого соединения указывает уменьшение степени опухания уха, по сравнению с ситуацией без лечения. Исследуемое соединение, вызывающее уменьшение на 20% или более, считается эффективным. В некоторых экспериментах мышам осуществляют провокацию без сенсibilизации (отрицательный контроль).

Ингибирующее влияние соединений, предложенных в данном документе, (подавление активации путей JAK-STAT) может быть подтверждено иммуногистохимическим анализом. Активация пути(ей) JAK-STAT приводит к образованию и транслокации функциональных факторов транскрипции. В дальнейшем, приток иммунных клеток и усиление пролиферации кератиноцитов должны также обеспечивать уникальные изменения профиля экспрессии в ухе, которые можно исследовать и количественно определить. Фиксированные формалином и залитые парафином срезы ушей (полученные после фазы провокации в модели ГЗТ) подвергают иммуногистохимическому анализу с применением антитела, которое специфично взаимодействует с фосфорилированным STAT3 (клон 58E12, Cell Signaling Technologies). Уши мышей обрабатывают соединениями, предложенными в данном документе, несущей лекарственное вещество средой или дексаметазоном (клинически эффективное средство для лечения псориаза) или оставляют без лечения в модели ГЗТ для сравнения. Исследуемые соединения и дексаметазон могут приводить к аналогичным изменениям транскрипции, как качественно, так и количественно, а также как исследуемые соединения, так и дексаметазон могут снижать количество инфильтрирующих клеток. Как системное, так и местное применение исследуемых соединений может оказывать подавляющее воздействие, *т. е.* уменьшение количества инфильтрирующих клеток и ингибирование транскрипционных изменений.

Пример Е. Противовоспалительная активность *in vivo*

Соединения, предложенные в данном документе, могут быть оценены на моделях грызунов или не грызунов, разработанных таким образом, чтобы воспроизводить единичную или комплексную реакцию воспаления. Например, модели артрита у грызунов могут применяться для оценки терапевтического потенциала соединений при профилактическом или терапевтическом введении. Эти модели включают, но не ограничиваются ими, индуцированный коллагеном артрит у мышей или крыс, индуцированный адьювантом артрит у крыс и артрит, индуцированный антителом против коллагена. Также могут быть использованы аутоиммунные заболевания, включая, но не ограничиваясь ими, рассеянный склероз, сахарный диабет I типа, увеоретинит, тиреоидит, миастения гравис, иммуноглобулиновые нефропатии, миокардит, сенсibilизация

дыхательных путей (астма), волчанка или колит, для оценки терапевтического потенциала соединений, предложенных в данном документе. Эти модели хорошо зарекомендовали себя в исследовательском сообществе и знакомы специалистам в данной области (Current Protocols in Immunology, Vol 3., Coligan, J.E. et al, Wiley Press.; Methods in Molecular Biology: Vol. 225, Inflammation Protocols., Winyard, P.G. and Willoughby, D.A., Humana Press, 2003.).

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

Агенты можно оценить в одной или большем количестве доклинических моделей сухости глаз, которые известны специалистам в данной области, включая, но не ограничиваясь ими, модель с конкавалином А (ConA) в слезной железе на кроликах, модель со скополамином на мышцах (подкожно или трансдермально), модель с ботулином в слезной железе на мышцах, или любую из множества спонтанных аутоиммунных моделей на грызунах, которые приводят к дисфункции глазных желез (например, NOD-SCID, MRL/lpr или NZB/NZW) (публикации 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 этих моделей могут включать гистопатологию глазных желез и глаз (роговицы и тому подобного) и, возможно, классический тест Ширмера или его модифицированные версии (Barabino et al.), в которых измеряют выработку слезной жидкости. Активность может быть оценена введением доз различными способами (например, системным или местным), которое может быть начато до появления измеряемого заболевания или после него.

Агенты могут быть оценены в одной или большем количестве доклинических моделей увеита, известных специалистам в данной области. Они включают, но не ограничиваются ими, модели экспериментального аутоиммунного увеита (EAU) и эндотоксин-индуцированного увеита (EIU). Эксперименты с EAU могут проводиться на кроликах, крысах или мышцах и могут включать пассивную или активирующую иммунизацию. Например, любой из ряда ретинальных антигенов может быть использован для сенсбилизации животных к соответствующему иммуногену, после чего животных можно окуарно спровоцировать тем же антигеном. Модель EIU является более острой и включает местное или системное введение липополисахарида в сублетальных дозах. Конечные точки обеих моделей EIU и EAU могут включать исследование глазного дна и гистопатологию, среди прочего. Эти модели рассмотрены учеными Smith et al. (публикация Immunology and Cell Biology 1998, 76, 497-512, содержание которой включено в данный документ в полном объеме посредством ссылки). Активность оценивают введением доз различными способами (например, системным или местным), которое может быть начато до появления измеряемого заболевания или после него. Некоторые модели, перечисленные выше, могут также приводить к развитию склерита/эписклерита, хориоидита, циклита или ирита, и поэтому полезны для изучения

потенциальной активности соединений для терапевтического лечения этих заболеваний.

Агенты также могут быть оценены в одной или большем количестве доклинических моделей конъюнктивита, которые известны специалистам в данной области. Они включают, но не ограничиваются ими, модели на грызунах с использованием морских свинок, крыс или мышей. Модели на морских свинках включают модели, использующие активную или пассивную иммунизацию, и/или протоколы иммунных провокаций антителами, такими как овальбумин или амброзия (рассмотренные в публикации Groneberg, D.A., et al., *Allergy* 2003, 58, 1101-1113 которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки). Модели на крысах и мышях являются, в общих чертах, такими же, как и модели на морских свинках (также рассмотрены в публикации Groneberg). Активность может быть оценена введением доз различными способами (например, системным или местным), которое может быть начато до появления измеряемого заболевания или после него. Конечные точки таких исследований могут включать, например, гистологический, иммунологический, биохимический или молекулярный анализ глазных тканей, таких как конъюнктива.

Пример G. Защита костей *in vivo*

Соединения, предложенные в данном документе, могут быть оценены в различных доклинических моделях остеопении, остеопороза или резорбции костей, которые известны специалистам в данной области. Например, грызуны после овариэктомии могут быть использованы для оценки способности соединений влиять на признаки и маркеры реконструкции и/или плотности костей (публикация W.S.S. Jee and W. Yao, *J Musculoskel. Nueron. Interact.*, 2001, 1(3), 193-207, которая включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки). В альтернативном варианте, плотность костей и их структура могут быть оценены в контрольных грызунах или грызунах, обработанных соединением, в моделях остеопении, индуцированной терапией (например, глюкокортикоидами) (публикации Yao, et al. *Arthritis and Rheumatism*, 2008, 58(6), 3485-3497; и id. 58(11), 1674-1686, обе из которых включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки). Кроме того, влияние соединений, предложенных в данном документе, на резорбцию и плотность кости можно оценить на моделях артрита у грызунов, рассмотренных выше (пример E). Конечные точки всех этих моделей могут варьироваться, но часто включают гистологические и радиологические оценки, а также иммуногистологию и соответствующие биохимические маркеры реконструкции костей.

Пример H. Модель трансгенной мыши S100A9

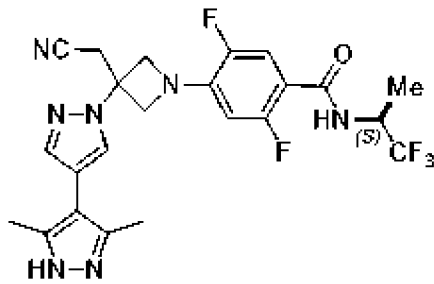
Ранее было показано, что у трансгенных мышей *S100A9* наблюдается накопление MDSC в костном мозге, сопровождающееся развитием прогрессирующей мультилинейной цитопении и цитологической дисплазии, сходной с MDS. Кроме того, раннее форсированное созревание MDSC посредством обработки *полностью*-транс-ретиноевой кислотой либо посредством прерывания передачи сигнала CD33 активным иммунорецепторным активационным мотивом на основе тирозина (ITAM-несущим) адаптерным белком (DAP12) восстанавливало гематологический фенотип и смягчало

заболевание. Эта система может быть полезна для проверки влияния ингибирования JAK1 на MDS-подобное заболевание в доклинической модели. *J. Clin. Invest.*, 123(11):4595-4611 (2013). Соответственно, дозу селективного ингибитора JAK1 вводят перорально через желудочный зонд. Отслеживали способность соединения уменьшать цитопению и цитологическую дисплазию, наблюдаемые у трансгенных мышей S100A9.

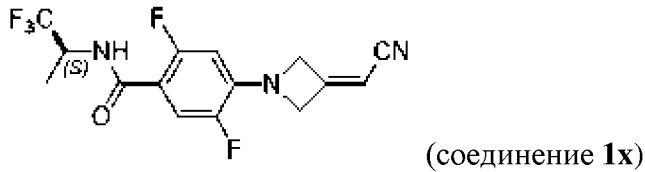
Из вышеприведенного описания специалистам в данной области будут очевидны различные модификации изобретения, в дополнение к описанным в данном документе. Предполагается, что такие модификации также находятся в рамках прилагаемой формулы изобретения. Каждая ссылка, включая все патенты, заявки на патент и публикации, приведенные в настоящей заявке, включена в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

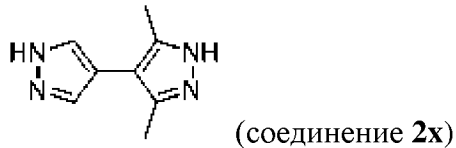
1. Способ получения



или его соли, включающий взаимодействие



с



с образованием свободного основания соединения 1 или его соли.

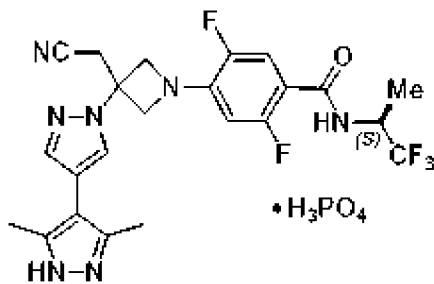
2. Способ по п. 1, в котором взаимодействие соединения 1x с соединением 2x осуществляют в присутствии 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена (DBU) и компонента органического растворителя.

3. Способ по п. 2, в котором компонент органического растворителя включает диметилформамид (ДМФ).

4. Способ по любому из пп. 1-3, в котором взаимодействие соединения 1x с соединением 2x осуществляют при температуре от около 50°C до около 60 °С.

5. Способ по п. 4, в котором температура составляет около 60 °С.

6. Способ по любому из пп. 1-5, в котором соль соединения 1 представляет собой соль фосфорной кислоты соединения 1, которую получают способом, включающим взаимодействие свободного основания соединения 1 с фосфорной кислотой с образованием



7. Способ по п. 6, в котором взаимодействие свободного основания соединения 1 с фосфорной кислотой осуществляют в присутствии компонента растворителя.

8. Способ по п. 7, в котором компонент растворителя включает метанол,

изопропанол или их смесь.

9. Способ по любому из пп. 6-8, в котором взаимодействие свободного основания соединения 1 с фосфорной кислотой осуществляют при температуре от около 40°C до около 70 °С.

10. Способ по п. 9, в котором температура составляет от около 45°C до около 55 °С.

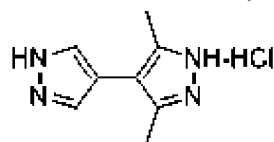
11. Способ по п. 10, в котором температура составляет около 50 °С.

12. Способ по любому из пп. 6-11, в котором фосфорная кислота представляет собой водный раствор около 85% масс. фосфорной кислоты.

13. Способ по любому из пп. 6-12, в котором взаимодействие свободного основания соединения 1 с фосфорной кислотой дополнительно включает добавление второго компонента растворителя к реакционной смеси.

14. Способ по п. 13, в котором второй компонент растворителя включает н-гептан.

15. Способ по любому из пп. 1-14, дополнительно включающий получение соединения **2x** способом, включающим взаимодействие



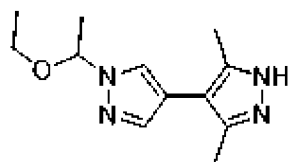
(соединение **2x** HCl)

с основанием.

16. Способ по п. 15, в котором основание представляет собой NaOH.

17. Способ по п. 15 или 16, в котором взаимодействие соединения **2x** HCl с основанием осуществляют при температуре от около 15°C до около 18 °С.

18. Способ по любому из пп. 15-17, дополнительно включающий получение соединения **2x** HCl способом, включающим взаимодействие



(соединение **2b**)

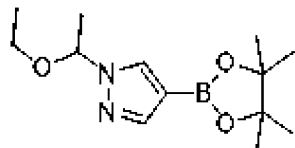
с соляной кислотой.

19. Способ по п. 18, в котором взаимодействие соединения **2b** с соляной кислотой осуществляют в присутствии компонента органического растворителя.

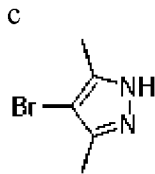
20. Способ по п. 19, в котором компонент органического растворителя включает 2-пропанол.

21. Способ по любому из пп. 18-20, в котором взаимодействие соединения **2b** с соляной кислотой осуществляют при температуре от около 60°C до около 65 °С.

22. Способ по любому из пп. 18-21, дополнительно включающий получение соединения **2b** способом, включающим взаимодействие



(соединение **2a**)



23. Способ по п. 22, в котором взаимодействие соединения **2a** с 4-бром-3,5-диметилпиразолом осуществляют в присутствии K_2HPO_4 , компонента растворителя и комплекса палладия.

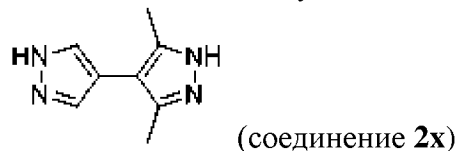
24. Способ по п. 23, в котором компонент растворителя включает 1-пропанол, воду или их смесь.

25. Способ по п. 23, в котором комплекс палладия представляет собой [1,1'-бис(ди-трет-бутилфосфино)ферроцен]дихлорпалладий(II) (Pd-118).

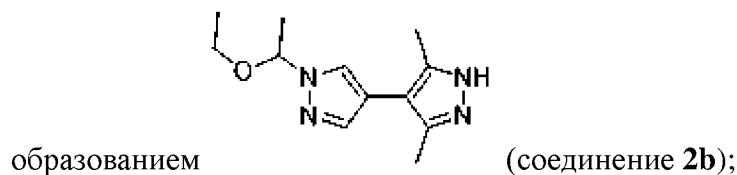
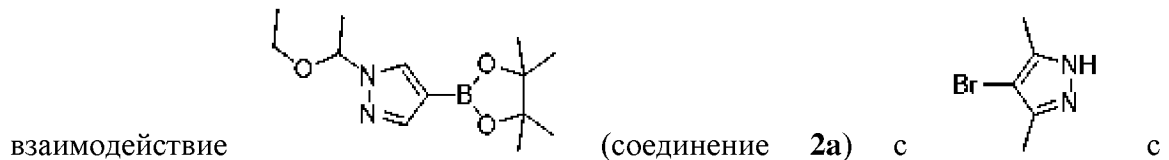
26. Способ по любому из пп. 22-25, в котором взаимодействие соединения **2a** с 4-бром-3,5-диметилпиразолом осуществляют при температуре от около 80 °С до около 100 °С.

27. Способ по п. 26, в котором температура составляет около 90 °С.

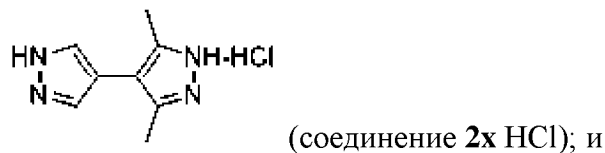
28. Способ по любому из пп. 1-14, дополнительно включающий получение



способом, включающим:

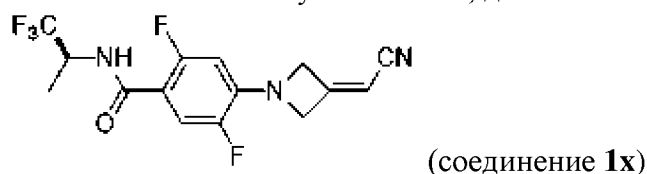


взаимодействие соединения **2b** с соляной кислотой с образованием

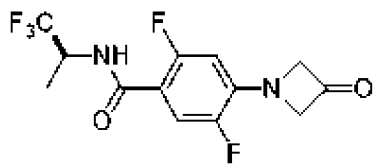


взаимодействие соединения **2x HCl** с основанием с образованием соединения **2x**.

29. Способ по любому из пп. 1-28, дополнительно включающий получение



причем соединение **1x** получают способом, включающим взаимодействие

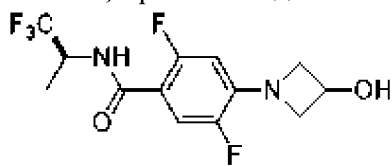
(соединение **1c**)

с диэтилцианометилфосфонатом в присутствии основания.

30. Способ по п. 29, в котором взаимодействие соединения **1c** с диэтилцианометилфосфонатом в присутствии основания осуществляют в компоненте органического растворителя.

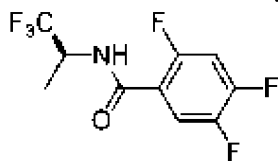
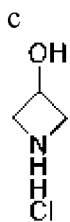
31. Способ по п. 30, в котором компонент органического растворителя включает тетрагидрофуран, этанол или их смесь.

32. Способ по любому из пп. 29-31, дополнительно включающий получение соединения **1c**, причем соединение **1c** получают способом, включающим взаимодействие

(соединение **1b**)

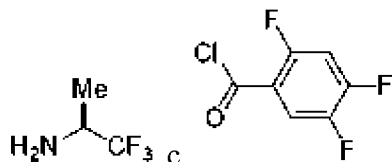
с диацетатом йодобензола и 2,2,6,6-тетраметил-1-пиперидинилокси свободным радикалом (TEMPO).

33. Способ по п. 32, дополнительно включающий получение соединения **1b**, причем соединение **1b** получают способом, включающим взаимодействие

(соединение **1a**)

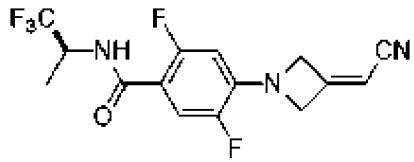
в присутствии DBU.

34. Способ по п. 33, дополнительно включающий получение соединения **1a**, причем соединение **1a** получают способом, включающим взаимодействие

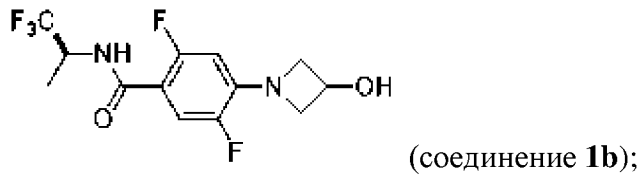
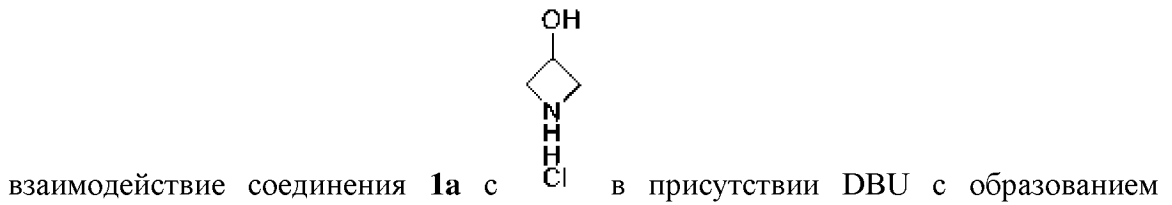
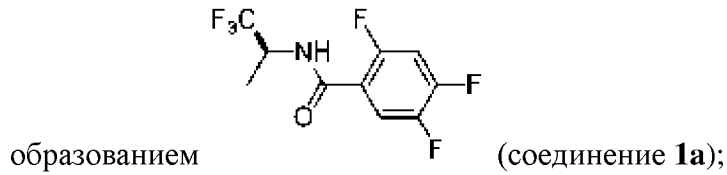
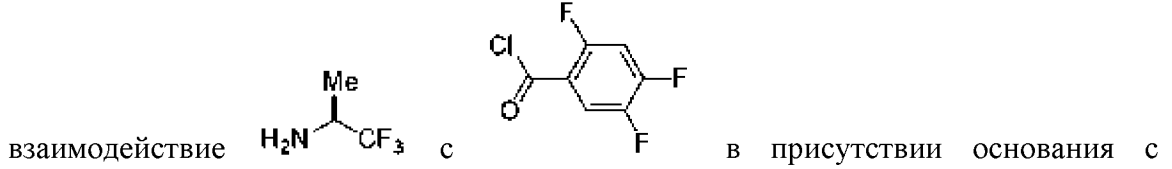


в присутствии основания.

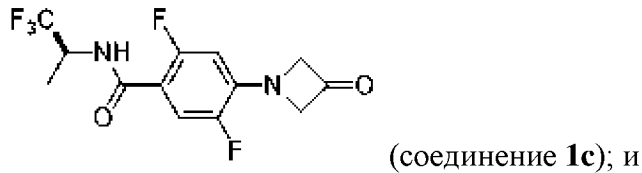
35. Способ по любому из пп. 1-28, дополнительно включающий получение

(соединение **1x**)

способом, включающим:

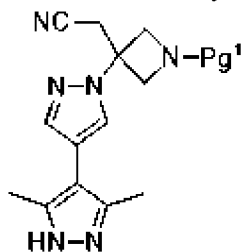


взаимодействие соединения **1b** с диацетатом иодбензола и TEMPO с образованием



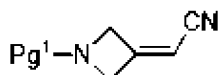
взаимодействие соединения **1c** с диэтилцианометилфосфонатом в присутствии основания с образованием соединения **1x**.

36. Способ получения соединения формулы **A**:



A

включающий взаимодействие 3,5-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразола с соединением формулы **B**:



В

где Rg^1 представляет собой аминозащитную группу.

37. Способ по п. 36, в котором Rg^1 представляет собой *трет*-бутоксикарбонил.

38. Способ по п. 36 или 37, в котором реакцию осуществляют в присутствии 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена.

39. Способ по п. 38, в котором используют менее 1 эквивалента 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена в пересчете на 1 эквивалент соединения формулы **В**.

40. Способ по п. 38, в котором используют от около 0,2 до около 0,3 эквивалента 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена в пересчете на 1 эквивалент соединения формулы **В**.

41. Способ по любому из пп. 36-40, в котором используют от около 1,0 до около 1,1 эквивалента 3,5-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразола на 1 эквивалент соединения формулы **В**.

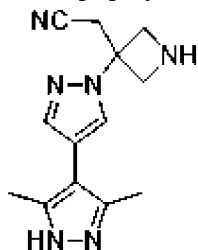
42. Способ по любому из пп. 36-41, в котором реакцию осуществляют при около комнатной температуре.

43. Способ по любому из пп. 36-42, в котором взаимодействие 3,5-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразола с соединением формулы **В** осуществляют в присутствии компонента растворителя.

44. Способ по п. 43, в котором компонент растворителя включает диметилсульфоксид.

45. Способ по п. 43, в котором компонент растворителя включает диметилсульфоксид и метиленхлорид.

46. Способ по любому из пп. 36-45, дополнительно включающий снятие защиты с соединения формулы **А** с образованием соединения формулы **С**:

**С**

или его соли.

47. Способ по п. 46, в котором снятие защиты включает взаимодействие соединения формулы **А** в присутствии триалкилсилилгалогенида.

48. Способ по п. 47, в котором триалкилсилилгалогенид представляет собой триметилсилилиодид.

49. Способ по любому из пп. 47-48, в котором снятие защиты осуществляют в присутствии компонента растворителя.

50. Способ по п. 49, в котором компонент растворителя включает метиленхлорид.

51. Способ по п. 49, в котором компонент растворителя включает метиленхлорид и метанол.

52. Способ по любому из пп. 47-51, в котором снятие защиты осуществляют при

около комнатной температуре.

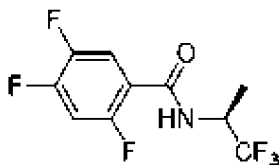
53. Способ по любому из пп. 47-52, дополнительно включающий взаимодействие соединения формулы **C** или его соли с аминовым основанием с образованием формы свободного основания соединения формулы **C**.

54. Способ по п. 53, в котором аминовое основание представляет собой триэтиламин.

55. Способ по п. 53 или 54, в котором взаимодействие соединения формулы **C** или его соли с аминовым основанием осуществляют в присутствии компонента растворителя.

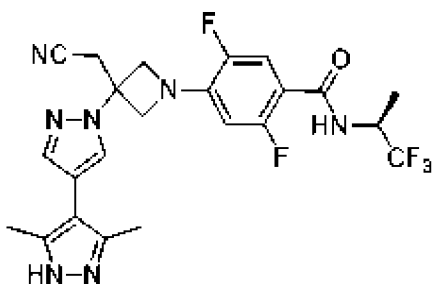
56. Способ по п. 55, в котором компонент растворителя включает метиленхлорид.

57. Способ по любому из пп. 53-56, дополнительно включающий взаимодействие формы свободного основания соединения формулы **C** с соединением **1a**:



1a

в присутствии основания и галогенида щелочного металла с образованием соединения **1**:



или его соли.

58. Способ по пп. 57, в котором основание представляет собой бикарбонатное основание.

59. Способ по п. 57, в котором основание представляет собой бикарбонат натрия.

60. Способ по любому из пп. 57-59, в котором галогенид щелочного металла представляет собой хлорид лития.

61. Способ по любому из пп. 57-60, в котором реакцию осуществляют при температуре от около 80°C до около 90 °C.

62. Способ по любому из пп. 57-61, в котором взаимодействие соединения формулы **C** в форме свободного основания с соединением **1a** осуществляют в присутствии компонента растворителя.

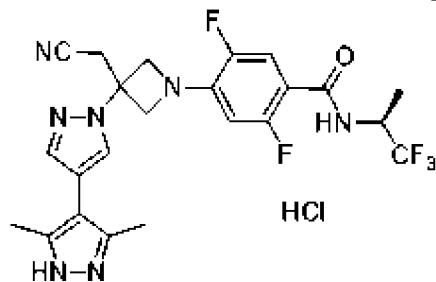
63. Способ по п. 62, в котором компонент растворителя включает диметилсульфоксид.

64. Способ по п. 62, в котором компонент растворителя включает диметилсульфоксид и изопропилацетат.

65. Способ по любому из пп. 57-64, дополнительно включающий взаимодействие

соединения 1 с сильной кислотой с образованием формы соли соединения 1.

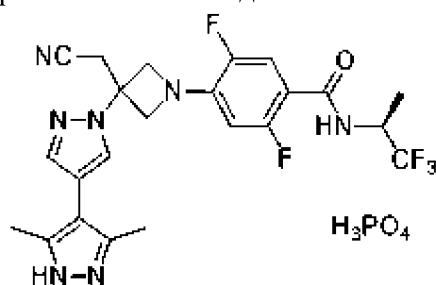
66. Способ по любому из пп. 57-64, дополнительно включающий взаимодействие соединения 1 с соляной кислотой с образованием соли соляной кислоты соединения 1:



67. Способ по п. 66, дополнительно включающий взаимодействие соли соляной кислоты соединения 1 с бикарбонатным основанием с образованием формы свободного основания соединения 1.

68. Способ по п. 67, в котором бикарбонатное основание представляет собой бикарбонат калия.

69. Способ по п. 67 или 68, дополнительно включающий взаимодействие формы свободного основания соединения 1 с фосфорной кислотой с образованием соли фосфорной кислоты соединения 1:



70. Способ по п. 69, в котором реакцию осуществляют при около комнатной температуре.

71. Способ по п. 69 или 70, в котором взаимодействие формы свободного основания соединения 1 с фосфорной кислотой осуществляют в присутствии компонента растворителя.

72. Способ по п. 71, в котором компонент растворителя включает воду.

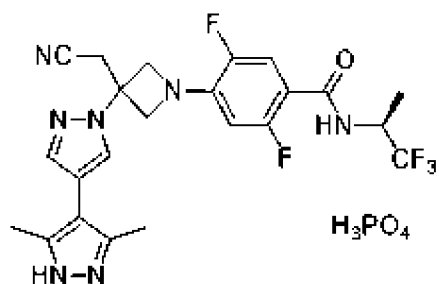
73. Способ по п. 71, в котором компонент растворителя включает воду и изопропиловый спирт.

74. Способ по любому из пп. 69-73, дополнительно включающий выделение соли фосфорной кислоты соединения 1.

75. Способ по п. 74, в котором соль фосфорной кислоты соединения 1 выделяют перекристаллизацией.

76. Способ по п. 74 или 75, в котором соль фосфорной кислоты соединения 1 выделяют перекристаллизацией из смеси метанола, изопропанола и метилциклогексана.

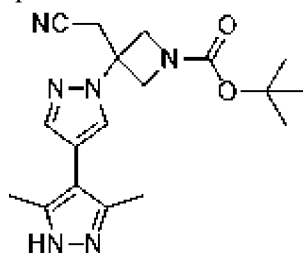
77. Способ получения соли фосфорной кислоты соединения 1:



Соль фосфорной кислоты соединения 1

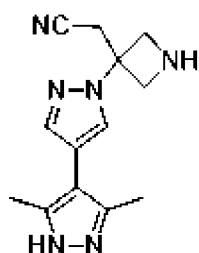
включающий:

взаимодействие 3,5-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразола с *tert*-бутил-3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилатом в присутствии 1,8-диазацикло[5.4.0]ундец-7-ена с образованием соединения формулы **A-1**:



A-1;

снятие защиты с соединения формулы **A-1** с образованием соединения формулы **C-1**:

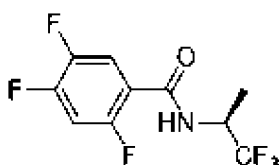


C-1

или его соли;

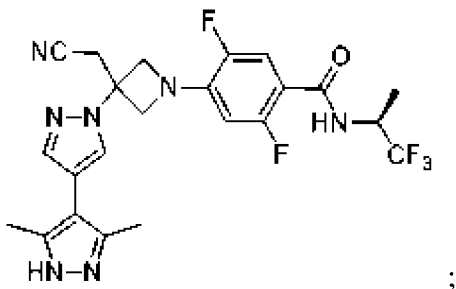
взаимодействие соединения формулы **C-1** с триэтиламино с образованием формы свободного основания соединения формулы **C-1**;

взаимодействие формы свободного основания соединения формулы **C-1** с соединением **1a**:

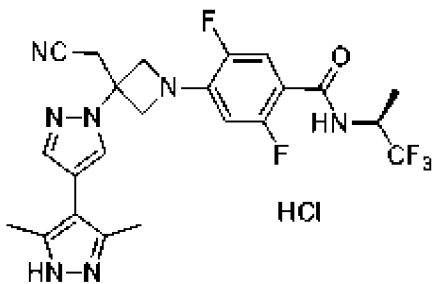


1a

в присутствии бикарбоната натрия и хлорида лития с образованием соединения 1:



взаимодействие соединения 1 с соляной кислотой с образованием соли соляной кислоты соединения 1:



взаимодействие соли соляной кислоты соединения 1 с бикарбонатом калия с образованием формы свободного основания соединения 1; и

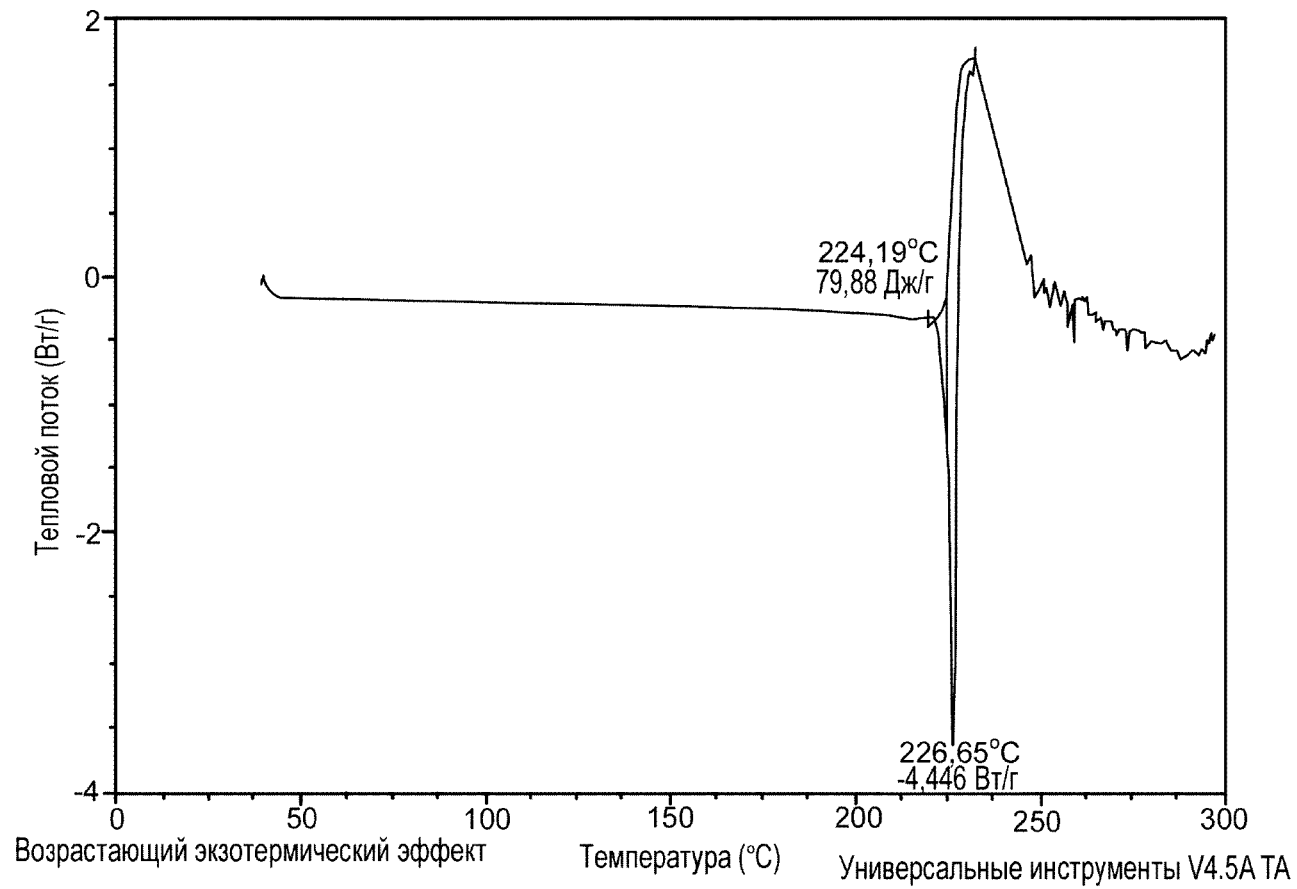
взаимодействие формы свободного основания соединения 1 с фосфорной кислотой с образованием соли фосфорной кислоты соединения 1.

78. Способ по п. 77, дополнительно включающий выделение соли фосфорной кислоты соединения 1.

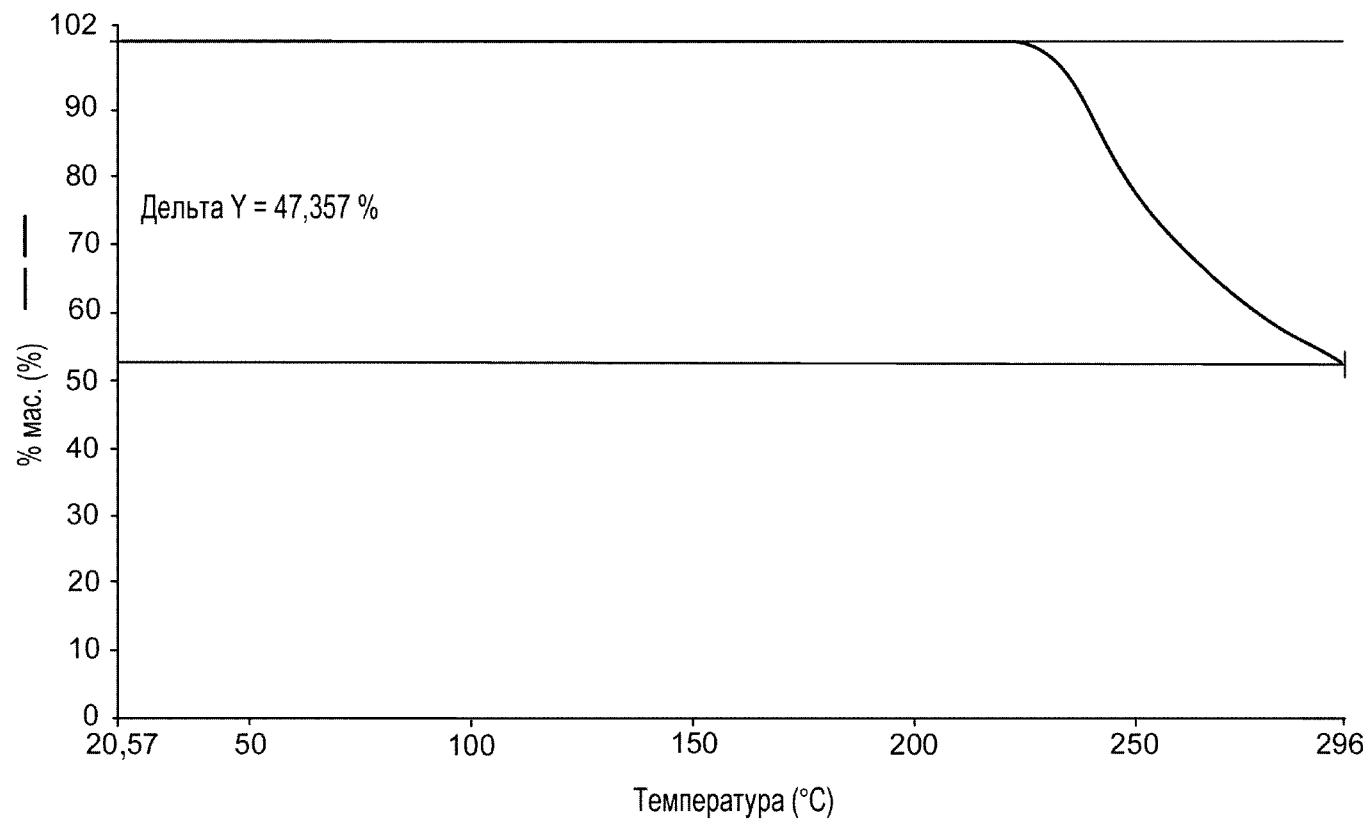
79. Способ по п. 78, в котором соль фосфорной кислоты соединения 1 выделяют перекристаллизацией.

80. Способ по п. 78 или 79, в котором соль фосфорной кислоты соединения 1 выделяют перекристаллизацией из смеси метанола, изопропанола и метилциклогексана.

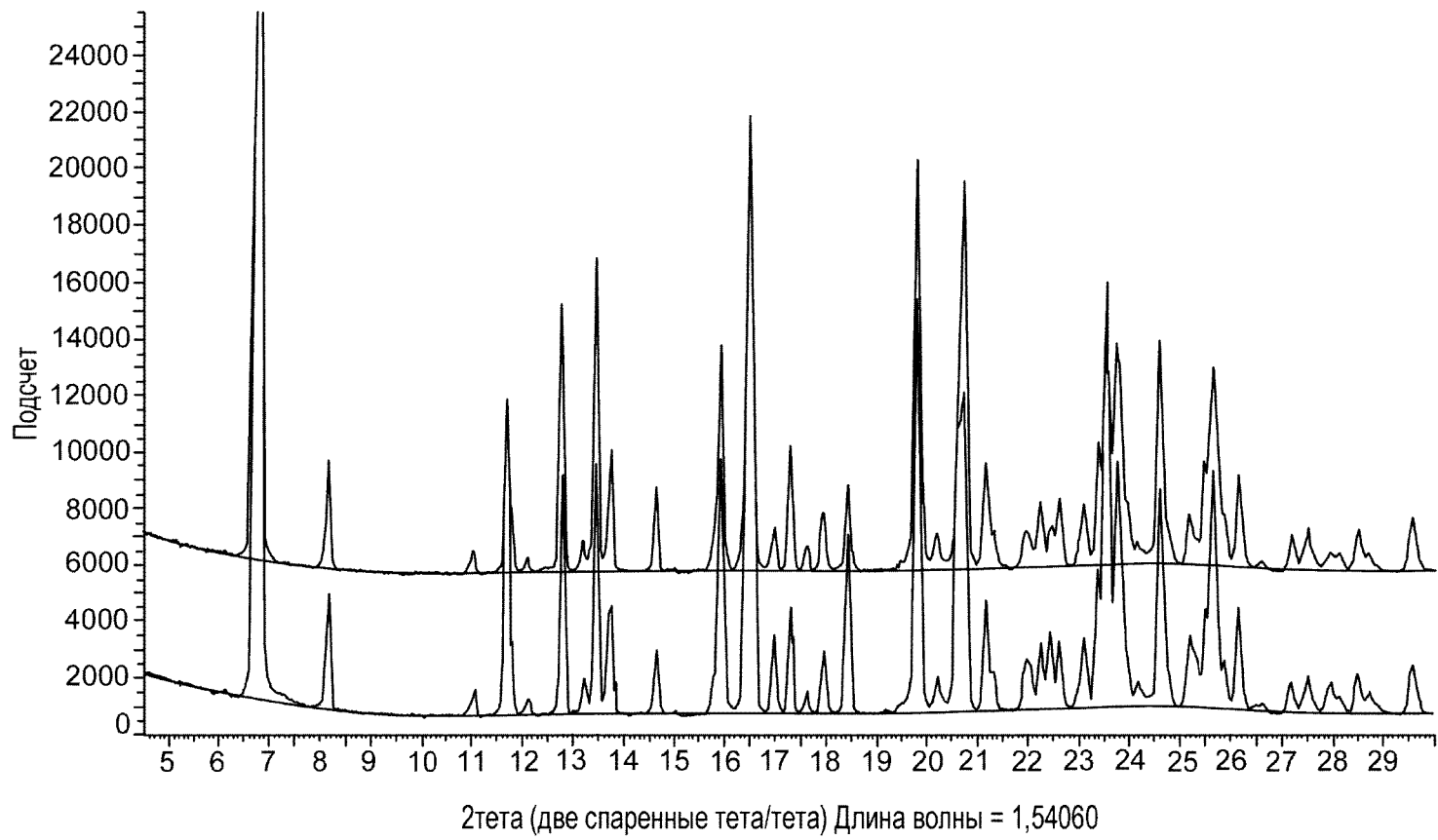
По доверенности



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3