

(12) ИСПРАВЛЕННОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(15) Информация об исправлении Версия исправления: 1 (W1 B1) исправления в формуле: п.2

- (48) Дата публикации исправления 2023.05.10, Бюллетень №5'2023
- (45) Дата публикации и выдачи патента 2016.09.30
- (21) Номер заявки 201491824
- (22) Дата подачи заявки 2013.05.09

(51) Int. Cl. *C07D* 401/14 (2006.01) **C07D 401/04** (2006.01) **C07D 403/10** (2006.01) **C07D 213/82** (2006.01) A61K 31/4439 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)

ПРОИЗВОДНЫЕ БЕНЗАМИДА ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ АКТИВНОСТИ ABL1, ABL2 (54) И BCR-ABL1

- (31) 61/647,174; 61/790,967
- (32) 2012.05.15; 2013.03.15
- (33) US
- (43) 2015.02.27
- (86) PCT/IB2013/053768
- WO 2013/171639 2013.11.21 (87)
- (71)(73) Заявитель и патентовладелец: НОВАРТИС АГ (СН)
- **(72)** Изобретатель: Додд Стефани Кей (US), Фюре Паскаль, Гротцфельд Роберт Мартин, Янке Вольфганг, Джоунс Дэррил Бринли, Манли Пол, Марцинцик Андреас, Пелле Ксавье Франсуа Андре, Салем Баха, Шепфер Йозеф (CH)

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

(56)

WO-A1-2004005281 ECK M.J. ET AL.: "The interplay of structural information and functional studies in kinase drug design: insights from BCR-Abl", CURRENT OPĪNION ΙN CELL BIOLOGY, CURRENT SCIENCE, LONDON, GB, vol. 21, no. 2, 1 April 2009 (2009-04-01), pages 288-295, XP026035462, ISSN: 0955-0674, DOI: 10.1016/J.CEB.2009.01.014

[retrieved on 2009-02-11], fig. 1, 2 YUPENG LI ET AL.: "Design, Synthesis, and Biological Evaluation of 3-(1H-1,2,3-Triazol-1yl)benzamide Derivatives as Potent Pan Bcr-Abl Inhibitors Including the Threonine 315 ->Isoleucine Mutant", ĴOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 55, no. 22, 26 November 2012 (2012-11-26), pages 10033-10046, XP055082710, ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/jm301188x,

compound 6

Изобретение относится к соединениям формулы (I)

где Y, Y₁, R₁, R₂, R₃ и R₄ определены в "Кратком описании изобретения"; способным к ингибированию активности BCR-ABL1 и его мутантов. Изобретение также обеспечивает способ получения соединений по изобретению, фармацевтические композиции, содержащие такие соединения, и способы применения таких соединений при лечении рака.

Перекрестные ссылки на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет к предварительной заявке США № 61/647174, поданной 15 мая 2012 г., и предварительной заявке США № 61/790967, поданной 15 марта 2013 г., каждая из которых включена в настоящую заявку в качестве ссылки в полном объеме.

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к соединениям, способным к ингибированию тирозинкиназной ферментативной активности белка Абельсона (ABL1), Абельсон-родственного белка (ABL2) и родственных химерных белков, в частности BCR-ABL1. Изобретение также обеспечивает способ получения соединений по настоящему изобретению, фармацевтических препаратов, содержащих такие соединения, и способы применения таких соединений при лечении рака.

Предпосылки создания изобретения

Тирозинкиназная активность ABL1 белка обычно жестко регулируется N-концевой кэппирующей областью SH3 домена, играющей важную роль. Один регуляторный механизм включает миристоилирование глицин-2 остатка на N-концевом кэп-сайте и затем взаимодействие с миристатсвязывающим сайтом в SH1 каталитическом домене. Отличительным признаком хронического миелогенного лейкоза (CML) является хромосома Philadelphia (Ph), образованная в результате t(9,22) реципрокальной хромосомной транслокации в гемтатопоэтической стволовой клетке. Эта хромосома несет BCR-ABL1 онкоген, который кодирует химерный BCR-ABL1 белок, который не содержит N-концевой кэп и содержит конститутивно активный тирозинкиназный домен.

Хотя лекарственные средства, которые ингибируют тирозинкиназную активность BCR-ABL1 через ATP-конкуретный механизм, такие как Gleevec[®]/Glivec[®] (иматиниб), Tasigna[®] (нилотиниб) и Sprycel[®] (дасатиниб), являются эффективными для лечения CML, у некоторых пациентов возникает рецидив из-за возникновения лекарственно-резистентных клонов, в которых мутации в SH1 домене мешают связыванию с ингибитором. Хотя Tasigna[®] и Sprycel[®] сохраняют эффективность в отношении многих Gleevec-резистентных мутантных форм BCR-ABL1, мутация, в которой треонин-315 остаток заменен изолейцином (Т3151), остается нечувствительной ко всем трем лекарственным средствам и может привести к развитию резистентности к терапии у CML пациентов. Поэтому ингибование BCR-ABL1 мутаций, таких как Т3151, остается неудовлетворенной медицинской потребностью. Помимо CML, BCR-ABL1 гибридные белки являются причиной, вызывающей определенный процент острых лимфоцитарных лейкозов, и лекарственные средства, прицельно действующие на ABL киназную активность, также являются полезными для этого показания.

Средства, прицельно действующие на миристоилсвязывающий сайт (так называемые аллостерические ингибиторы), обладают потенциалом для лечения BCR-ABL1 расстройств (J. Zhang, F.J. Adrian, W. Jahnke, S.W. Cowan-Jacob, A.G. Li, R.E. Iacob, T. Sim, J. Powers, C. Dierks, F. Sun, G.-R. Guo, Q. Ding, B. Okram, Y. Choi, A. Wojciechowski, X. Deng, G. Liu, G. Fendrich, A. Strauss, N. Vajpai, S. Grzesiek, T. Tuntland, Y. Liu, B. Bursulaya, M. Azam, P.W. Manley, J.R. Engen, G.Q. Daley, M. Warmuth., N.S. Gray. Targeting BCR-ABL by combining allosteric with ATP-binding-site inhibitors. Nature 2010/ 463:501-6). Для предотвращения возникновения лекарственной резистентности в результате использования ATP ингибитора и/или аллостерического ингибитора может быть разработано комбинированное лечение с использованием обоих типов ингибитора для лечения BCR-ABL1-связанных расстройств. В частности, существует потребность в малых молекулах или их комбинациях, которые ингибируют активность BCR-ABL1 и BCR-ABL1-мутации через ATP связывающий сайт, миристоилсвязывающий сайт или комбинацию обоих сайтов.

Кроме того, соединения по настоящему изобретению в качестве ингибиторов ABL1 киназной активности имеют потенциал для использования в качестве терапевтических средств для лечения метастатических инвазивных карцином и вирусных инфекций, таких как покс-вирус и вирус Эбола.

Соединения по настоящему изобретению также обладают потенциалом для лечения или профилактики заболеваний или расстройств, ассоциированных с аномально активированной киназной активностью ABL1 дикого типа, включая незлокачественные заболевания или расстройства, такие как заболевания ЦНС, в частности нейродегенеративные заболевания (например, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона), заболевания двигательных нейронов (амиотрофический боковой склероз), мышечные дистрофии, аутоиммунные и воспалительные заболевания (диабет и фиброз легких), вирусные инфекции, прионовые заболевания.

Краткое описание изобретения

В одном аспекте настоящее изобретение обеспечивает соединения формулы (I)

$$R_3$$
 N
 R_1
 R_2
 R_3
 R_1
 R_2

где R_1 представляет собой пиразолил; где указанный пиразолил является незамещенным или замещен 1-2 группами R_6 ;

R₂ представляет собой пирролидинил; где указанный пирролидинил замещен одной группой R₇;

R₃ выбирают из водорода и галогена;

 R_4 выбирают из -SF₅ и -Y₂-CF₂-Y₃;

 R_6 в каждом случае независимо выбирают из водорода, гидрокси, метила, метокси, циано, трифторметила, гидроксиметила, галогена, амино, фторэтила, этила и циклопропила;

 R_7 выбирают из гидрокси, метила, галогена, метокси, гидроксиметила, амино, метиламино, аминометила, трифторметила, 2-гидроксипропан-2-ила, метилкарбониламино, диметиламино, 2-амино-3-метилбутаноил)окси, карбокси, метоксикарбонила, фосфоноокси, циано и аминокарбонила;

Y выбирают из CH и N;

Y₁ выбирают из СН и N;

 Y_2 выбирают из CF_2 , O и $S(O)_{0-2}$ и

Уз выбирают из водорода, хлора, фтора, метила, дифторметила и трифторметила.

Во втором аспекте настоящее изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, которая содержит соединение формулы (I) или его N-оксидное производное, индивидуальные изомеры и смесь изомеров, или его фармацевтически приемлемую соль в смеси с одним или несколькими подходящими эксципиентами.

В третьем аспекте настоящее изобретение обеспечивает способ лечения заболевания у животного, где модуляция BCR-ABL1 активности может предотвращать, ингибировать или облегчать патологию и/или симптоматологию заболеваний, при этом способ включает введение животному терапевтически эффективного количества соединения формулы (I) или его N-оксидного производного, индивидуальных изомеров и смеси изомеров или его фармацевтически приемлемой соли.

В четвертом аспекте настоящее изобретение обеспечивает применение соединения формулы (I) для получения лекарственного средства для лечения заболевания у животного, в котором BCR-ABL1 активность способствует патологии и/или симптоматологии заболевания.

В пятом аспекте настоящее изобретение обеспечивает соединение формулы (I) для применения в терапии для животного, в котором BCR-ABL1 активность способствует патологии и/или симптоматологии заболевания.

В шестом аспекте настоящее изобретение обеспечивает способ получения соединений формулы (I) и их N-оксидных производных, пролекарственных производных, защищенных производных, индивидуальных изомеров и смеси изомеров и их фармацевтически приемлемых солей.

Краткое описание чертежей

- Фиг. 1 порошковая рентгеновская дифрактограмма (с использованием медного источника (лям-бда=1,54A) для измерения) для аморфной твердодисперсной композиции примера 9 (см. пример 41), с 25% нагрузкой соединения примера 9 с PVP VA64 (37,5%) и Pharmacoat 603 (37,5%).
- Фиг. 2 животные с подкожными KCL-22 ксенотрансплантатами, которые получали ежедневное лечение соединением примера 9. Продемонстрирована дозозависимая противоопухолевая активность.
- Фиг. 3 КСL-22 клетки выращивали в качестве подкожных ксенотрансплантатов, и четыре животных получали дозу 75 мг/кг Нилотиниба ВІD (два раза в день). Когда у опухолей развивалась резистентность к лечению Нилотинибом, дозировку изменяли до 30 мг/кг соединения примера 9 два раза в день. Лечение нилотинибрезистентных опухолей соединением примера 9 привело к регрессии опухолей. Каждая линия представляет отдельное животное.
- Фиг. 4 животным с подкожными КСL-22 ксенотрансплантатами вводили дозу в комбинации 30 мг/кг соединения примера 9 два раза в день и 75 мг/кг Нилотиниба два раза в день. Каждая линия представляет отдельное животное. Полную регрессию опухоли наблюдали у всех животных и поддерживали до конца исследования.

Определения.

Общие термины, используемые выше и ниже в настоящей заявке, предпочтительно имеют в контексте настоящего раскрытия следующие значения, если не указано иное, при этом более общие термины, где бы они ни использовались, независимо друг от друга, могут быть заменены более конкретными определениями или сохраняться, таким образом определяя более подробные варианты воплощения на-

стоящего изобретения.

"Алкил" относится к разветвленным или неразветвленным углеводородным группам, содержащим от 1 до 7 атомов углерода (C_{1-7} алкил) или от 1 до 4 атомов углерода (C_{1-4} алкил). Репрезентативные примеры алкила включают, но не ограничиваются этим, метил, этил, н-пропил, изо-пропил, н-бутил, вторбутил, изо-бутил, трет-бутил, н-пентил, изопентил, неопентил, н-гексил, 3-метилгексил, 2,2-диметилпентил, 2,3-диметилпентил, н-гептил, н-октил, н-нонил, н-децил и подобные. Замещенный алкил представляет собой алкильную группу, содержащую один или несколько, например один, два или три, заместителей, выбранных из галогена, гидрокси или алкоксигрупп. Галогензамещенный алкил и галогензамещенный алкокси может быть либо линейным, либо разветвленным и включает метокси, этокси, дифторметил, трифторметил, пентафторэтил, дифторметокси, трифторметокси и подобные.

"Арил" означает моноциклическую или конденсированную бициклическую ароматическую кольцевую структуру, содержащую от шести до десяти кольцевых атомов углерода. Например, арил может представлять собой фенил или нафтил, предпочтительно фенил. "Арилен" означает двухвалентный радикал, образованный из арильной группы.

"BCR-ABL1" относится к гибридному белку, образованному из N-концевых экзонов гена, включающего область с кластером точечных разрывов (BCR), и основной С-концевой части (экзоны 2-11) Abelson(ABL1) гена. Наиболее распространенные гибридные транскрипты кодируют 210-кДа белок (р210BCR-ABL1), хотя более редкие транскрипты кодируют 190-кДа белок (р190BCR-ABL1) и 230-кДа белок (р230BCR-ABL1). ABL1 последовательности этих белков содержат ABL1 тирозинкиназный домен, который является жестко регулируемым в белке дикого типа, но конститутивно активированным в BCR-ABL1 гибридных белках. Эта тирозинкиназа с нарушенной регуляцией взаимодействует с несколькими клеточными сигнальными путями, приводя к трансформации и нарушенной регуляции пролиферации клеток.

"BCR-ABL1 мутанты" относятся к многочисленным моносайтовым мутациям в BCR-ABL1, включающим Glu255 \rightarrow лизин, Glu255 \rightarrow валин, Thr315 \rightarrow изолейцин, Met244 \rightarrow Val, Phe317 \rightarrow Leu, Leu24 8 \rightarrow Val, Met343 \rightarrow Thr, Gly250 \rightarrow Ala, Met351 \rightarrow Thr, Gly250 \rightarrow Glu, Glu355 \rightarrow Gly, Gln252 \rightarrow His, Phe358 \rightarrow Ala, Gln252 \rightarrow Arg, Phe359 \rightarrow Val, Tyr253 \rightarrow His, Val379 \rightarrow Ile, Tyr253 \rightarrow Phe, Phe382 \rightarrow Leu, Glu255 \rightarrow Lys, Leu387 \rightarrow M \rightarrow et, Glu255 \rightarrow Val, His396-Pro, Phe311-Ile, His396 \rightarrow Arg, Phe311 \rightarrow Leu, Ser417 \rightarrow Tyr, Thr315 \rightarrow Ile, Glu459 \rightarrow Lys и Phe486 \rightarrow Ser.

Соединения по настоящему изобретению являются чувствительными к замещению на R_3/R_4 замещенном кольце в положении, которое представляет собой орто относительно точки присоединения NHC(O) группы. Для сравнения предоставлены, например, следующие соединения формулы (I). Значение IK_{50} примера 2 составляет 1 нМ в сравнении с хлор- или метилзамещением, где значение IK_{50} составляет 1,6 и 1,8 мкМ соответственно:

"Гетероарил" имеет значение, определенное для арила выше, где один или несколько из кольцевых членов представляет собой гетероатом. Например, 5-8-членный гетероарил содержит минимум 5 членов кольца, выбранных из углерода, азота, кислорода и серы. Следовательно, 5-8-членный гетероарил включает пиридил, индолил, индазолил, хиноксалинил, хинолинил, бензофуранил, бензопиранил, бензопиопиранил, бензогиопиранил, бензо[1,3]диоксол, имидазолил, бензоимидазолил, пиримидинил, фуранил, оксазолил, изоксазолил, триазолил, тетразолил, пиразолил, тиенил и т.д.

"Циклоалкил" означает насыщенную, моноциклическую, бициклическую или связанную мостиковой связью полициклическую кольцевую структуру, содержащую указанное количество кольцевых атомов. Например, $C_{3^{-10}}$ циклоалкил включает циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил и т.д. Частично ненасыщенный циклоалкил означает циклоалкил, как определено выше, по меньшей мере с одной двойной связью.

"Гетероциклоалкил" означает циклоалкил, как он определен в настоящей заявке, при условии, что один или несколько из указанных кольцевых атомов углерода замещены группой, выбранной из -O-, -N=, -NR-, -C (O)-, -S-, -S(O)- или -S(O)2-, где R представляет собой водород, C_{1-4} алкил или азот-защитную группу (например, карбобензилокси, пара-метоксибензилкарбонил, трет-бутилоксикарбонил, ацетил, бензоил, бензил, пара-метокси-бензил, пара-метокси-фенил, 3,4-диметоксибензил и подобные). Например, 3-8-членный гетероциклоалкил включает морфолино, пирролидинил, пирролидинил-2-он, пиперазинил, пиперидинил, пиперидинилон, 1,4-диокса-8-аза-спиро[4,5]дец-8-ил, тиоморфолино, сульфаноморфолино, сульфономорфолино и т.д.

"Галоген" (или гало) предпочтительно представляет собой хлор или фтор, но также может быть бромом или йодом.

GLEEVEC® (иматиниб мезилаты) показан для лечения пациентов с КІТ (CD117)-положительными неоперабельными и/или метастатическими злокачественными гастроинтестинальными стромальными опухолями (GIST). Он также показан для лечения взрослых пациентов после полной макроскопической резекции KIT (CD117)-положительных GIST. Он также показан для лечения впервые диагносцированных взрослых пациентов и пациентов детского возраста с филадельфийская хромосома-положительным хроническим миелоцитарным лейкозом с (Ph+ CML) в хронической фазе и пациентов с Ph+ CML в бластном кризе (ВС), фазе акселерации (АР) или в хронической фазе (СР) после неудачи применения интерферональфа терапии. Он может также быть использован в качестве прицельно действующего лекарственного средства для лечения следующих редких заболеваний с ограниченными возможностями лечения: рецидивного или резистентного филадельфийская хромосома-положительного острого лимфобластного лейкоза (Ph+ ALL); миелодиспластических/миелопролиферативных заболеваний (MDS/MPD), связанных с перегруппировкой генов рецепторов тромбоцитарного фактора роста (PDGFR); агрессивного системного мастоцитоза (ASM) без D816V с-КІТ мутации или с неизвестным мутационным статусом с-КІТ; гиперэозинофильного синдрома/хронического эозинофильного лейкоза (HES/CEL) с FIP1L1-PDGFR с гибридной киназой (мутационный анализ или FISH демонстрация делеции CHIC2 аллеля) и для пациентов с HES и/или CEL, которые являются FIP1L1-PDGFR и гибридная киназа-отрицательными или это неизвестно; и неоперабельных, рецидивирующих и/или метастатических выбухающих дерматофибросарком (DFSP).

TASIGNA® (нилотиниб) показан для лечения взрослых пациентов с впервые диагностированным филадельфийская хромосома-положительным хроническим миелоцитарным лейкозом (Ph+CML) в хронической фазе. Он может быть использован для лечения взрослых пациентов, которые больше не полу-

чают положительного результата или не переносят другие терапии, включая иматиниб ($GLEEVEC^{\otimes}$), или получали другие терапии, включая иматиниб (GLEEVEC), но не могут переносить их.

SPRYCEL® (дазатиниб) представляет собой рецептурное лекарственное средство для лечения взрослых пациентов с впервые диагностированным филадельфийская хромосома-положительным (Ph+) хроническим миелоцитарным лейкозом (CML) в хронической фазе и для лечения взрослых пациентов, которые больше не получают положительного результата или не переносят другие терапии, а также для пациентов с ALL.

BOSULIF® (босутиниб) представляет собой рецептурное лекарственное средство для лечения взрослых пациентов с впервые диагностированным филадельфийская хромосома-положительным (Ph+) хроническим миелоцитарным лейкозом (CML) в хронической фазе и для лечения взрослых пациентов, которые больше не получают положительного результата или не переносят другие терапии, а также для пациентов с ALL.

Соединения формулы (I) могут иметь различные изомерные формы. Например, любой асимметричный атом углерода может присутствовать в (R)-, (S)- или (R,S)-конфигурации, предпочтительно в (R)- или (S)-конфигурации. Заместители на двойной связи или особенно на кольце могут присутствовать в цис-(-Z-) или транс-(=E-) форме. Соединения, таким образом, могут присутствовать в виде смесей изомеров или предпочтительно в виде чистых изомеров, предпочтительно в виде чистых диастереомеров или чистых энантиомеров. Следующие соединения формулы (I) могут существовать в таутомерной форме

$$R_4$$
 R_3
 R_4
 R_5
 R_6
 R_6
 R_6

Для иллюстрации таутомерии со следующими конкретными примерами (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид (правая структура, ниже) представляет собой таутомер (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-3-ил)никотинамида (левая структура, ниже), и наоборот:

Когда используется форма множественного числа (например, соединения, соли), она включает и единственное число (например, одно соединение, одна соль). "Соединение" не исключает, что присутствует (например, в фармацевтической композиции) более чем одно соединение формулы (I) (или его соль), артикль "а" просто представляет неопределенный артикль. "А", таким образом, предпочтительно следует понимать как "один или несколько", менее предпочтительно, альтернативно, как "один".

Термин "и/или его N-оксид, его таутомер и/или его (предпочтительно фармацевтически приемлемая) соль", главным образом, означает, что соединение формулы (I) может присутствовать как таковое или в смеси с его N-оксидом, в виде таутомера (например, в результате кето-енольной, лактамлактимной, амид-имидокислотной или енамин-иминовой таутомерии), или в виде (например, вызванной эквивалентной реакцией) смеси с его таутомером, или в виде соли соединения формулы (I) и/или любой из этих форм или смесей двух или более таких форм.

Любые формулы, представленные в настоящей заявке, предназначены также для представления немеченых форм, а также изотопно меченых форм соединений. Изотопно меченые соединения имеют структуры, отображенные формулами, приведенными в настоящей заявке, за исключением того, что один или несколько атомов заменены атомом, имеющим выбранную атомную массу или массовое число. Примеры изотопов, которые могут быть включены в соединения по настоящему изобретению, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фосфора, фтора и хлора, такие как ²H, ³H, ¹¹C, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁸F, ³¹P, ³²P, ³⁵S, ³⁶Cl, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I соответственно. Изобретение включает различные изотопно меченные соединения, как определено в настоящей заявке, например, те, в которых радиоактивные изотопы, такие как ³H и ¹⁴C, или те, в которых нерадиоактивные изотопы, такие как ²H и ¹³C присутствуют. Такие изотопномеченые соединения полезны в метаболических исследованиях (с ¹⁴C), в исследованиях кинетики реакций (с, например, ²H или ³H), методах детекции или визуализации, таких как позитронно-

эмиссионная томография (PET) или однофотонная эмиссионная компьютерная томография (SPECT), включая анализы распределения лекарственных средств или тканей субстрата или в радиоактивной терапии пациентов. В частности, ¹⁸F или меченое соединение могут быть особенно желательными для PET или SPECT исследований. Изотопно меченые соединения по настоящему изобретению, как правило, могут быть получены обычными способами, известными специалистам в данной области техники, или способами, аналогичными тем, которые описаны в прилагаемых Примерах, с использованием подходящих изотопно меченых реагентов.

Кроме того, замещение более тяжелыми изотопами, особенно дейтерием (т.е. ²H или D), может давать определенные терапевтические преимущества в результате более высокой метаболической стабильности, например больший период полужизни in vivo или снижение уровня необходимых доз или улучшение терапевтического индекса. Понятно, что дейтерий в этом контексте рассматривается в качестве заместителя соединения по настоящему изобретению. Концентрация такого тяжелого изотопа, особенно дейтерия, может быть определена при помощи изотопного коэффициента обогащения. Термин "изотопный коэффициент обогащения", используемый в настоящей заявке, означает соотношение между распространенностью изотопа и природной распространенностью конкретного изотопа. Если заместитель в соединении по данному изобретению обозначен как дейтерий, такое соединение имеет изотопный коэффициент обогащения для каждого указанного атома дейтерия по меньшей мере 3500 (52,5% включения дейтерия), по меньшей мере 4000 (60% включения дейтерия), по меньшей мере 5000 (75% включения дейтерия), по меньшей мере 5500 (82,5% включения дейтерия), по меньшей мере 6000 (90% включения дейтерия), по меньшей мере 6333,3 (95% включения дейтерия), по меньшей мере 6466,7 (97% включения дейтерия), по меньшей мере 6633,3 (99,5% включения дейтерия), по меньшей мере 6633,3 (99,5% включения дейтерия), по меньшей мере 6633,3 (99,5% включения дейтерия) или по меньшей мере 6633,3 (99,5% включения дейтерия).

Например, соединение формулы (Ib), представленное в настоящей заявке, где R_3 представляет собой водород и Y представляет собой CH, может включать дейтерий на пирролидинильном кольце, как показано:

Эта дейтерированная форма менее склонна к метаболической трансформации (слева выше) по сравнению с недейтерированной формой (справа выше).

Описание предпочтительных вариантов воплощения

Настоящее изобретение относится к соединениям, способным к ингибированию активности BCR-ABL1 или мутантов BCR-ABL1 через аллостерический миристоилсвязывающий сайт.

В одном варианте воплощения, относящемся к соединениям по настоящему изобретению, представлены соединения формулы (Ib)

$$R_4$$
 R_3
 N
 N
 R_6
 N
 R_6
 N
 R_7
 N
 R_6
 N
 R_7

где R_3 выбирают из водорода и галогена; R_4 выбирают из -SF $_5$ и -Y $_2$ -CF $_2$ -Y $_3$; R_6 , когда связан с азотом пиразолильного кольца, выбирают из водорода, метила, гидроксиэтила, фторэтила, этила и циклопропила и R_6 , когда связан с атомом углерода пиразолильного кольца, выбирают из водорода, гидрокси, метила, метокси, циано, трифторметила, гидроксиметила, галогена, амино, фторэтила, этила и циклопропила; R_7 выбирают из гидрокси, метила, галогена, метокси, гидроксиметила, амино, метиламино, аминометила, трифторметила, 2-гидроксипропан-2-ила, метилкарбониламино, диметиламино, 2-амино-3-метилбутаноил)окси, карбокси, метоксикарбонила, фосфоноокси, циано и аминокарбонила; Y_1 выбирают из CH и N; Y_2 выбирают из CF $_2$, O и S(O) $_0$ -2; Y_3 выбирают из водорода, фтора, хлора, метила, дифторметила и трифторметила; или их фармацевтически приемлемые соли.

В следующем варианте воплощения представлены соединения формулы (Іс)

где R_3 выбирают из водорода и галогена; R_4 выбирают из -SF $_5$ и -Y $_2$ -CF $_2$ -Y $_3$; R_6 , когда связан с азотом пиразолильного кольца, выбирают из водорода, метила, гидроксиэтила, фторэтила, этила и циклопропила и R_6 , когда связан с атомом углерода пиразолильного кольца, выбирают из водорода, гидрокси, метила, метокси, циано, трифторметила, гидроксиметила, галогена, амино, фторэтила, этила и циклопропила; R_7 выбирают из гидрокси, метила, галогена, метокси, гидроксиметила, амино, метиламино, аминометила, трифторметила, 2-гидроксипропан-2-ила, метилкарбониламино, диметиламино, 2-амино-3-метилбутаноил)окси, карбокси, метоксикарбонила, фосфоноокси, циано и аминокарбонила; Y_1 выбирают из CH и N; Y_2 выбирают из CF $_2$, O и $S(O)_{0-2}$; Y_3 выбирают из водорода, фтора, хлора, метила, дифторметила и трифторметила; или их фармацевтически приемлемые соли.

В другом варианте воплощения представлены соединения формулы (I) или их фармацевтически приемлемые соли, где R_1 представляет собой пиразолил; где указанный пиразолил является незамещенным или замещен от 1 до 2 групп R_6 .

В следующем варианте воплощения R_1 представляет собой незамещенный пиразолил.

В следующем варианте воплощения R_1 представляет собой пиразолил, замещенный одной группой R_6 .

В следующем варианте воплощения R_1 представляет собой пиразолил, замещенный двумя группами R_6 .

В другом варианте воплощения R_2 представляет собой пирролидин-1-ил, замещенный одной группой R_7 .

В другом варианте воплощения Y выбирают из CH и N.

В следующем варианте воплощения У представляет собой N.

В следующем варианте воплощения У представляет собой СН.

В другом варианте воплощения Y₁ выбирают из СН и N.

В следующем варианте воплощения Y₁ представляет собой N.

В следующем варианте воплощения Y₁ представляет собой СН.

Следующие дополнительные варианты относятся к соединениям любой одной из формул (I), (Ib) или (Ic) или их фармацевтически приемлемым солям.

В другом варианте воплощения R_3 выбирают из водорода и галогена.

В другом варианте воплощения R_4 выбирают из -SF₅ и -Y₂-CF₂-Y₃.

В следующем варианте воплощения R_4 представляет собой хлордифторметокси.

В следующем варианте воплощения R₄ представляет собой трифторметокси.

В другом варианте воплощения R_6 в каждом случае независимо выбирают из водорода, гидрокси, метила, метокси, циано, трифторметила, гидроксиметила, галогена, амино, фторэтила, этила и циклопропила.

В следующем варианте воплощения R_6 , когда связан с азотом пиразолильного кольца, выбирают из водорода, метила, гидроксиэтила, фторэтила, этила и циклопропила.

В следующем варианте воплощения R_6 , когда связан с атомом углерода пиразолильного кольца, выбирают из водорода, гидрокси, метила, метокси, циано, трифторметила, гидроксиметила, галогена, амино, фторэтила, этила и циклопропила.

В другом варианте воплощения R_7 выбирают из гидрокси, метила, галогена, метокси, гидроксиметила, амино, метиламино, амино-метила, трифторметила, 2-гидроксипропан-2-ила, метилкарбониламино, диметиламино, 2-амино-3-метилбутаноил)окси, карбокси, метоксикарбонила, фосфоноокси, циано и аминокарбонила.

В другом варианте воплощения Y_2 выбирают из CF_2 , O и $S(O)_{0-2}$.

В следующем варианте воплощения Y₂ представляет собой О.

В следующем варианте воплощения Y₂ представляет собой CF₂.

В следующем варианте воплощения Y_2 представляет собой $S(O)_{0-2}$.

В другом варианте воплощения Y_3 выбирают из водорода, хлора, фтора, метила, дифторметила и трифторметила.

В следующем варианте воплощения Y_3 представляет собой хлор.

В следующем варианте воплощения У представляет собой фтор.

В следующем варианте воплощения представлены соединения или их фармацевтически приемлемые соли, выбранные из

CI X P N N NOH	FT O HN-N
C: Xo The North North	CI XO HN-N

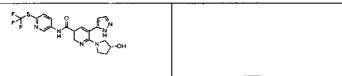
В другом варианте воплощения представлены соединения или их фармацевтически приемлемые соли, выбранные из

	p * * * * **** * * * * * * * * * * * *
Ci X P N N N N N N N N N N N N N N N N N N	F C C C C C C C C C C C C C C C C C C C
CI PLANT NOH	F F O N N N N N N N N N N N N N N N N N
CI X D D D D D D D D D D D D D D D D D D	CI X O HN-N
CI X D DH	FF S HN-N
F F F N N N N N N N N N N N N N N N N N	FY'S NAME OF THE PROPERTY OF T
F T S HN-N	EL EL MINITAL OH
F. S. F. P.	F F N N NOH
F F F O N N N NOH	CI YS N N N N N N N N N N N N N N N N N N
FF DN NN NOH	F F O DE NOTE OF THE PROPERTY
FY° CHUNNO	F ^L O _O OH NN-N OH

В другом варианте воплощения представлены соединения или их фармацевтически приемлемые соли, выбранные из

CI YOU NOW NOW NOW	FTO INN-N NOH
CI YOUNGHI	F P O D D D D D D D D D D D D D D D D D D
E TO NO	F TO NH HN-N N N N N N N N N N N N N N N N N
CI F F N N N N N N N N N N N N N N N N N	F F O NH HN-N F F F N N-10H
CI XO H N N NOH	FF N N N NOH
CI YOUNG NON	2 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2

В другом варианте воплощения представлено соединение или его фармацевтически приемлемая соль, которое представляет собой



В другом варианте воплощения представлены соединения, выбранные из

CIXO I NON	"X" Cylina
E NOW	N 1/2 OH

Фармакология и полезность.

На основании исследований ингибирования, описанных в разделе "Анализ" ниже, соединение формулы (I) в соответствии с настоящим изобретением демонстрирует терапевтическую эффективность, особенно против расстройств, зависимых от BCR-ABL1 активности. В частности, соединения по настоящему изобретению ингибируют аллостерический или миристоилсвязывающий сайт BCR-ABL1 (включая BCR-ABL1 дикого типа и/или его мутации).

Объединение АТР-конкурентного ингибитора BCR-ABL1 с аллостерическим ингибитором BCR-ABL1 замедляет приобретенную резистентность в BCR-ABL1+KCL-22 клетках in vitro. К удивлению, BCR-ABL1+KCL-22 клетки, которые обрабатывали через каждые 3-4 дня соединением по настоящему изобретению, показали приобретенную резистентность после приблизительно 28 дней, тогда как те же самые клетки, которые обрабатывали через каждые 3-4 дня нилотинибом или дасатинибом, показали приобретенную резистентность уже через 18-21 день. Еще более удивительно, когда BCR-ABL1+KCL-22 клетки обрабатывали через каждые 3-4 дня комбинацией соединения по настоящему изобретению с либо нилотинибом, либо дасатинибом, не наблюдали никакую приобретенную резистентность, по меньшей мере, в течение первых 60 дней. Поэтому соединения по настоящему изобретению, связывающиеся с миристоилсвязывающим сайтом, в комбинаци с ингибиторами BCR-ABL1, которые связываются с сайтом связывания ATP, имеют особенно важное значение для лечения пролиферативных заболеваний, в которых имеет место положительная регуляция ABL1 киназной активности, как в случае с BCR-ABL1 гибридными белками в CML и подвидах других гематологических злокачественных заболеваний, таких как ALL и AML.

Клетки карциномы используют invapodia для разрушения внеклеточного матрикса в процессе инвазии и метастазирования опухоли. ABL киназная активность необходима для SRC-индуцированного образования invapodia, регуляции отдельных стадий сборки и функции invapodia. Поэтому соединения по настоящему изобретению, в качестве ингибиторов ABL, имеют потенциал для использования в качестве терапевтических средств для лечения метастатических инвазивных карцином.

Аллостерический ингибитор ABL1 киназы можно использовать для лечения рака головного мозга: включая глиобластому, которая является наиболее распространенной и наиболее агрессивной злокачественной первичной опухолью головного мозга, в которой экспрессия ABL1 иммуногистохимически определяется в субпопуляции пациентов (Haberler C., Gelpi E., Marosi C., Rossler K., Birner P., Budka H., Hainfellner J.A. Immunohistochemical analysis of platelet-derived growth factor receptor-alpha, beta, c-KIT, ABL1 и ABL2 proteins in glioblastoma: possible implications for patient selection for imatinib mesylate therapy. J. Neurooncol. 2006 Jan; 76 (2):105-9). Однако клинические испытания с использованием Gleevec® не были успешными у пациентов с глиобластомой (Reardon D.A., Dresemann G., Taillibert S., Campone M., van den Bent M., Clement P., Blomquist E., Gordower L., Schultz H., Raizer J., Hau P., Easaw J., Gil M., Tonn J., Gijtenbeek A., Schlegel U., Bergstrom P., Green S., Weir A., Nikolova Z. Multicentre phase II studies evaluating imatinib plus hydroxyurea in patients with progressive glioblastoma. Br J. Cancer. 2009 Dec 15; 101 (12):1995-2004; Razis E., Selviaridis P., Labropoulos S., Norris J.L., Zhu M.J., Song D.D., Kalebic T., Torrens M., Kalogera-Fountzila A., Karkavelas G., Karanastasi S., Fletcher J.A., Fountzilas G. Phase II study of neoadjuvant imatinib in glioblastoma: evaluation of clinical and molecular effects of the treatment. Clin Cancer Res. 2009 Oct 1; 15(19):6258-66; Dresemann G. Imatinib and hydroxyurea in pretreated progressive glioblastoma multiforme: a patient series. Ann Oncol. 2005 Oct; 16(10): 1702-8), возможно по причине плохого внутриопухолевого воздействия лекарственного средства в головном мозге и в отсутствие нарушенного гематоэнцефалического барьера (Holdhoff et al., J. Neurooncol. 2010; 97(2):241-5). Действительно, в предклинических исследованиях было показано, что транспорт Gleevec® через гемато-энцефалический барьер ограничивается активным транспортом вытекающих веществ, таких как Р-гликопротеин. Это также относится и к дазатинибу (Chen Y., Agarwal S., Shaik N.M., Chen C., Yang Z., Elmquist W.F. P-glycoprotein and breast cancer resistance protein influence brain distribution of dasatinib. J. Pharmacol. Exp Ther. 2009 Sep; 330 (3): 956-63). Известно, что облучение усиливает открытие гемато-энцефалического барьера. В мышиных моделях, ответ мультиформной глиобластомы на Gleevec® соотносился с увеличением задержки опухолевого роста и повышением выживания, когда Gleevec® вводили в сочетании с ежедневным облучением (Geng L., Shinohara E.T., Kim D., Tan J., Osusky K., Shyr Y., Hallahan DE. STI571 (Gleevec) improves tumor growth delay and survival in irradiated mouse models of glioblastoma. Int J. Radiat Oncol Biol Phys. 2006 Jan 1; 64(1):263-71). Поэтому новый ингибитор ABL1 с высокой экспозицией в головном мозге представляет собой серьезный терапевтический подход для лечения глиобластомы и других опухолей головного мозга.

ЦНС-СМL: сообщалось о ЦНС бласткризисе и неблагоприятном исходе у некоторых СМL пациентов, которых лечили препаратом Gleevec[®], и это можно объяснить низкой экспозицией Gleevec[®] в головном мозге. (Kim H.J., Jung C.W., Kim K., Ann J.S., Kim W.S., Park K., Ko Y.H., Kang W.K., Park K. Isolated blast crisis in CNS in a patient with chronic myelogenous leukemia maintaining major cytogenetic response after imatinib. J. Clin. Oncol. 2006 Aug 20; 24(24): 4028-9; Radhika N., Minakshi M., Rajesh M., Manas B.R., Deepak Kumar M. Central nervous system blast crisis in chronic myeloid leukemia on imatinib mesylate therapy: report of two cases. Indian J. Hematol. Blood Transfus. 2011 Mar; 27(1):51-4). Действительно, у СМL пациентов концентрация Gleevec[®] на самом деле намного ниже (в ∼100 раз) в ЦНС, чем в плазме (Leis J.F., Stepan D.E., Curtin P.T., Ford J.M., Peng B., Schubach S., Druker B.J., Maziarz R.T. Central nervous system failure in patients with chronic myelogenous leukemia lymphoid blast crisis and Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia treated with imatinib (STI-571). Leuk Lymphoma. 2004 Apr; 45(4):695-8). Поэтому ингибиторы ABL1 по настоящему изобретению, которые демонстрируют высокую экспозицию в головном мозге, представляют собой эффективный подход для разработки терапевтических средств против СМL, включая ЦНС-СМL.

Соединения по настоящему изобретению могут быть полезными в лечении вирусных инфекций. Например, вирусные инфекции могут быть опосредованы ABL1 киназной активностью, как в случае покс-вирусов и вируса Эбола. Было показано, что Gleevec® и Tasigna® останавливают высвобождение частиц вируса Эбола из инфицированных клеток, in vitro (Kalman, Daniel; Bornmann, William Gerard, Methods of use of non-ATP competitive tyrosine kinase inhibitors to treat pathogenic infection, PCT Int. Appl. 2007, WO 2007002441; Garcia Mayra; Cooper Arik; Shi Wei; Bornmann William; Carrion Ricardo; Kalman Daniel; Nabel Gary J. Productive Replication of Ebola Virus Is Regulated by the ABL1 Тутоѕіпе Кіпаѕе. Science translational medicine 2012; 4:123га24). Поэтому можно ожидать, что соединения по настоящему изобретению, которые ингибируют ABL1 киназу, будут снижать способность патогена к репликации.

Соединения по настоящему изобретению также могут быть полезными в лечении нервной дегенерации. Хотя нативная ABL1 тирозиновая киназа остается в относительном состоянии покоя в головном мозге здорового взрослого человека, она может активироваться в головном мозге пациентов с ЦНС заболеваниями, включая нейродегенеративные заболевания, такие как болезнь Альцгеймера (AD), болезнь Паркинсона (AD), фронтотемпоральная деменция (FTD), болезнь Пика, болезнь Ниманна-Пика С типа (NPC) и другие дегенеративные, воспалительные и аутоиммунные заболевания и старение.

Болезнь Паркинсона является вторым наиболее распространенным хроническим нейродегенеративным заболеванием, при этом наиболее распространенная наследственная аутосомально-рецессивная форма вызвана мутациями в Е3 убихитинлигазе, parkin. Последние исследования показали, что активированный ABL1/ABL2 был обнаружен в полосатом теле у пациентов с спорадической болезнью Паркинсона. Одновременно с этим, parkin был тирозин-фосфорилированным, вызывая потерю его убихитинлигазы и цитозащитных действий, на что указывала аккумуляция parkin субстратов (Ко H.S., Lee Y., Shin J.H., Karuppagounder S.S., Gadad B.S., Koleske A.J., Pletnikova O., Troncoso J.C., Dawson V.L., Dawson T.M. Phosphorylation by the c-Abl protein tyrosine kinase inhibits parkin's ubiquitination and protective function. Proc Natl Acad Sci USA. 2010 Sep 21; 107(38):16691-6; Imam S.Z., Zhou Q., Yamamoto A., Valente A.J., Ali S.F., Bains M., Roberts J.L., Kahle P.J., Clark R.A., Li S. Novel regulation of parkin function through c-Ablmediated tyrosine phosphorylation: implications for Parkinson's disease. J. Neurosci. 2011 Jan 5; 31(1):157-63). Эти два исследования также показали, что в клетке или животных моделях болезни Паркинсона фармакологическое ингибирование ABL1 киназы или генетический ABL1 "нокдаун" препятствовали фосфорилированию тирозина белка parkin и восстанавливали активность его E3 лигазы и цитозащитную функцию как in vitro, так и in vivo. Эти результаты показывают, что ABL1-зависимое фосфорилирование тирозина белка parkin представляет собой основную посттрансляционную модификацию, которая приводит к потере функции parkin и прогрессированию заболевания в спорадической PD. Поэтому способность соединений по настоящему изобретению ингибировать миристатсвязывающий сайт ABL1, как можно ожидать, откроет новые терапевтические возможности для блокирования развития болезни Паркинсона.

Болезнь Альцгеймера характеризуется двумя основными особенностями: внеклеточные отложения нейротоксичного амилоида-β, что приводит к развитию амилоидных бляшек и внутриклеточной аккумуляции гиперфосфорилированного tau, что способствует развитию нейрофибриллярных сплетений (NFT).

Уровень амилоида-β снижается после интратекального введения Gleevec® в головном мозге морских свинок дикого типа и в клеточных моделях (Netzer W.J., Dou F., Cai D., Veach D., Jean S., Li Y., Bornmann W.G., Clarkson B., Xu H., Greengard P. Gleevec inhibits beta-amyloid production but not Notch cleavage. Proc Natl Acad Sci USA. 2003 Oct 14; 100 (21): 12444-9). Этой же группой было сделано предположение, что Gleevec® достигает амилоид-β-снижающего эффекта через новый механизм, препятствующий GSAP взаимодействию с гамма-секретазным субстратом, APP-CTF (He G., Luo W., Li P., Remitters

С., Netzer W.J., Hendrick J., Bettayeb K., Flajolet M., Gorelick F., Wennogle L.P., Greengard P. Gamma-secretase activating protein is a therapeutic target for Alzheimer's disease. Nature. 2010 Sep 2; 467(7311):95-8). В этом исследовании эффект Gleevec®, такой как ингибирование GSAP/APP-CTF, наблюдали только при микромолярных концентрациях. Другая группа показала, что фосфорилирование тирозина внутриклеточного домена APP (т.е. Туг682) регулирует процессинг амилоидогенного APP, ускоряя образование амилоида-P in vivo (Barbagallo A.P., Weldon R., Tamayev R., Zhou D., Giliberto L., Foreman O., D'Adamio L. Туг(682) in the intracellular domain of APP regulates amyloidogenic APP processing in vivo. PLoS One. 2010 Nov 16; 5 (11):e15503). Другие исследования показали, что APP является тирозин-фосфорилированным в клетках, экспрессирующих конститутивно активную форму ABL1 онкогена (Zambrano N., Bruni P., Minopoli G., Mosca R., Molino D., Russo C., Schettini G., Sudol M., Russo T. The beta-amyloid precursor protein APP is tyrosine-phosphorylated in cells expressing a constitutively active form of the Abl protoncogene. J. Biol. Chem. 2001 Jun 8; 276(23):19787-92). Эти данные, взятые вместе, предполагают ABL1-зависимый процессинг амилоидогенного APP для образования токсичного амилоид-β пептида и последующих амилоидных бляшек. Поэтому можно ожидать, что ингибитор ABL1 будет снижать образование амилоидных бляшек у пациентов с болезнью Альцгеймера.

Было показано, что Tau фосфорилируется ABL1 киназой по тирозинам 18, 197, 310 и 394 в клеточных моделях, и было показано, что tau pY394 присутствует в поражениях NFT в головном мозге AD пациентов.

АВL1 активирован в головном мозге пациентов с спорадической болезнью Альцгеймера, как показано по его фосфорилированию либо по Y412, индикатору активации, который ко-локализует грануловаскулярную дегенерацию, либо по T735, который ко-локализован с типичными поражениями, амилоидными бляшками, нейрофибриллярными сплетениями (NFT), в дополнение к GVD. Амилоид-β и окислительный стресс активируют ABL1 киназу в культурах нервных клеток, и интрацеребральная инъекция фибриллярного амилоидного пептида приводит к повышенной экспрессии ABL1 и далее на этом пути эффектора р73. Трансгенные мыши (APP/Swe мышиная модель AD) показали повышенные уровни ABL1 в головном мозге, и, когда этих мышей обрабатывали ингибитором ABL1 Gleevec®, tau фосфорилирование снижалось в головном мозге животных. Трансгенная мышиная модель, экспрессирующая конститутивно активный ABL1 в нейронах переднего мозга, демонстрировала потерю нейронов, тяжелое нейровоспаление и тирозин-фосфорилированный tau в головном мозге (см. обзор в Schlatterer S.D., Acker C.M., Davies P. c-Abl in neurodegenerative disease. J. Mol. Neurosci. 2011 Nov; 45(3):445-52).

На основании всех этих результатов существует доказательство роли ABL1 киназы в патогенезе болезни Альцгеймера для развития обоих поражений - амилоидных бляшек и нейрофибриллярных сплетений

Кроме того, активированный ABL1 также присутствует в других таупатиях, помимо спорадической болезни Альцгеймера, в том числе в головном мозге пациентов с фронтотемпоральной деменцией с N279K и P301L мутациями, болезнью Пика и Гуам Паркинсон-деменцией (Schlatterer S.D., Acker C.M., Davies P. c-Abl in neurodegenerative disease. J. Mol. Neurosci. 2011 Nov; 45(3):445-52).

Поэтому соединения по настоящему изобретению, ингибирующие ABL1 в ЦНС, представляют собой эффективный подход для разработки терапевтических средств против болезни Альцгеймера, а также других β-амилоидозов, таких как сосудистая деменция и другие таупатии, такие как фронтотемпоральная деменция и болезнь Пика.

Болезнь Ниманна-Пика С типа (NPC) представляет собой фатальное аутосомальное рецессивное расстройство, характеризующееся аккумуляцией свободного холестерина и гликосфинголипидов в эндосомальной-лизосомальной системе и прогрессирующей гибелью нейронов, особенно мозжечковых нервных клеток Пуркинье. В мышиной модели NPC проапоптический ABL1, находящаяся далее по ходу транскрипции мишень, а также р73 гены-мишени экспрессируются в мозжечке. Ингибирование ABL1 при помощи Gleevec® предотвращало потерю нервных клеток Пуркинье, улучшало неврологические симптомы и повышало выживаемость. Этот эффект провыживания Gleevec® соотносился с пониженными уровнями мРНК р73 проапоптических генов-мишеней (Alvarez A.R., Klein A., Castro J., Cancino G.I., Amigo J., Mosqueira M., Vargas L.M., Yevenes L.F., Bronfman F.C., Zanlungo S. Imatinib therapy blocks cerebellar apoptosis and improves neurological symptoms in a mouse model of Niemann-Pick type C disease. FASEB J. 2008 Oct; 22(10):3617-27). Поэтому соединения по настоящему изобретению, ингибирующие ABL1 киназу, представляют собой эффективный подход для разработки терапевтических средств против заболеваний, вызванных проапоптическим путем ABL1/р73, таких как NPC.

В моделях прионовых заболеваний Gleevec® показал благоприятные эффекты: он замедлял прионовую нейроинвазию путем ингибирования распространения приона с периферии в ЦНС (Yun S.W., Ertmer A., Flechsig E., Gilch S., Riederer P., Gerlach M., Schatzl H.M., Klein M.A. The tyrosine kinase inhibitor imatinib mesylate delays prion neuroinvasion by inhibiting prion propagation in the periphery. J. Neurovirol. 2007 Aug; 13 (4):328-37). Gleevec® и дефицит ABL1 индуцировали клеточный клиренс PrPSc в прион-инфицированных клетках (Ertmer A., Gilch S., Yun S.W., Flechsig E., Klebl B., Stein-Gerlach M., Klein M.A., Schatzl H.M. The tyrosine kinase inhibitor STI571 induces cellular clearance of PrPSc in prion-infected

cells. J. Biol. Chem. 2004 Oct 1; 279 (40):41918-27). Поэтому, новые ингибиторы ABL1 по настоящему изобретению также представляют собой эффективный терапевтический подход для лечения прионовых заболеваний, таких как болезнь Крейцфельда-Якоба.

Причиной X-связанной рецессивной мышечной дистрофии Эмери-Дрейфуса являются мутации эмерина, ядерно-мембранного белка, играющего роль в ядерной архитектуре, генной регуляции и передаче сигналов. Недавно проведенное исследование показало, что эмерин тирозин-фосфорилируется непосредственно при помощи ABL1 в клеточных моделях и что статус фосфорилирования эмерина изменяет связывание эмерина с другими белками, такими как BAF. Это, в свою очередь, может объяснить мислокализацию мутантного эмерина из ядерного в цитозольные компартменты и соответствующие изменения в расположенном далее на этом пути эффекторе и сигнальном интеграторе для сигнального пути (путей) на ядерной оболочке (Tifft K.E., Bradbury K.A., Wilson K.L. Tyrosine phosphorylation of nuclear-membrane protein emerin by SRC, ABL1 and other kinases. J. Cell Sci. 2009 Oct 15; 122 (Pt 20):3780-90). Изменения в эмерин-ламин взаимодействиях как в фазе митоза, так и в интерфазе являются важными для патологии мышечной дистрофии. Кроме того, результаты другого исследования показывают, что Gleevec® ослабляет скелетно-мышечную дистрофию у mdx мышей (Huang P., Zhao X.S., Fields M., Ransohoff R.M., Zhou L. Imatinib attenuates skeletal muscle dystrophy in mdx mice. FASEB J. 2009 Aug; 23(8):2539-48).

Поэтому новые ингибиторы ABL1 по настоящему изобретению также представляют собой терапевтические подходы для лечения скелетных и мышечных дистрофий.

Кроме того, ABL1 киназа играет роль в воспалении и окислительном стрессе, двух механизмах, которые вовлечены в различные заболевания человека, от острых заболеваний ЦНС, таких как удар и травматические поражения головного мозга или спинного мозга, хронических заболеваний ЦНС, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Гентингтона и заболевания двигательных нейронов, до не связанных с ЦНС воспалительных и аутоиммунных заболеваний, таких как диабет, фиброз легких.

Например, Gleevec® предотвращает фиброз в различных предклинических моделях системного склероза и индуцирует регрессию установившегося фиброза (Akhmetshina A., Venalis P., Dees C., Busch N., Zwerina J., Schett G., Distler O., Distler J.H. Treatment with imatinib prevents fibrosis in different preclinical models of systemic sclerosis and induces regression of established fibrosis. Arthritis Rheum. 2009 Jan; 60(1):219-24), и он демонстрирует антифибротические эффекты в блеомицин-индуцированном фиброзе легких у мышей (Aono Y., Nishioka Y., Inayama M., Ugai M., Kishi J., Uehara H, Izumi K., Sone S. Imatinib as a novel antifibrotic agent in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. Am J. Respir. Crit Care Med. 2005 Jun 1; 171 (11):1279-85). Другое исследование показало, что как иматиниб, так и нилотиниб уменьшали блеомицин-индуцированное острое легочное поражение и фиброз легких у мышей (Rhee C.K., Lee S.H., Yoon H.K., Kim S.C., Lee S.Y., Kwon S.S., Kim Y.K., Kim K.H., Kim T.J., Kim J.W. Effect of nilotinib on bleomycin-induced acute lung injury and pulmonary fibrosis in mice. Respiration. 2011; 82(3):273-87). Хотя в этих исследованиях авторы были сфокусированы на участии механизма, связанного с PDGFR, который представлял интерес, в исследовании Rhee et al. (Respiration. 2011; 82(3):273-87) нилотиниб, который является значительно более сильным ингибитором с-АВL, чем иматиниб, показал более высокие терапевтические антифибротические эффекты, таким образом подтверждая терапевтическую применимость ингибиторов с-ABL для лечения заболеваний человека с легочным воспалением. В другом исследовании гипероксия, вызываемая у мышей, повышала активацию ABL1, которая необходима для фосфорилирования динамина 2 и продукции реактивных видов кислорода и легочного просачивания (Singleton P.A., Pendyala S., Gorshkova I.A., Mambetsariev N., Moitra J., Garcia J.G, Natarajan V. Dynamin 2 and c-Abl are novel regulators of hyperoxia-mediated NADPH oxidase activation and reactive oxygen species production in caveolin-enriched microdomains of the endothelium. J. Biol. Chem. 2009 Dec 11; 284 (50):34964-75).

Поэтому эти данные показывают, что новые ингибиторы c-ABL по настоящему изобретению имеют терапевтическую применимость для лечения заболеваний человека с легочным воспалением.

Активация ABL1 инсулином, через модификацию FAK ответа, может играть важную роль в направлении митогенного против метаболического сигнала инсулинового рецептора (Genua M., Pandini G., Cassarino M.F., Messina R.L., Frasca F. c-Abl and insulin receptor signalling. Vitam Horm. 2009; 80:77-105). Было показано, что ингибиторы c-Abl, такие как Gleevec®, обеспечивают регрессию диабета 1 типа у не страдающих ожирением диабетических мышей (Louvet C., Szot G.L., Lang J., Lee M.R., Martinier N., Bollag G., Zhu S., Weiss A., Bluestone J.A. Tyrosine kinase inhibitors reverse type 1 diabetes in nonobese diabetic mice. Proc Natl Acad Sci USA. 2008 Dec 2; 105 (48):18895-900). Облегчение тяжести диабета при помощи Gleevec® имитировали путем siPHK-опосредованного "нокдауна" ABL1 мРНК (Hagerkvist R., Sandier S., Mokhtari D., Welsh N. Amelioration of diabetes by imatinib mesylate (Gleevec): role of beta-cell NF-kappaB activation and anti-apoptotic preconditioning. FASEB J. 2007 Feb; 21 (2):618-28).

Поэтому новые ингибиторы ABL1 по настоящему изобретению имеют терапевтическую применимость для лечения диабета у человека.

Ингибитор ABL1 по настоящему изобретению можно использовать в комбинации с одним или несколькими из существующих лечений указанных выше заболеваний, например ингибитор ABL1 по настоящему изобретению можно использовать в комбинации с Levodopa или другими L-DOPAсодержащими лекарственными средствами или допаминовым агонистом для лечения болезни Паркинсона, или в комбинации с ингибитором холинэстеразы, таким как Exelon капсула или чрескожный пластырь, для лечения болезни Альцгеймера.

В хроническом миелогенном лейкозе (СМL), реципрокная сбалансированная хромосомная транслокация в гематопоэтических стволовых клетках (HSC) образует BCR-ABL1 гибридный ген. Этот ген кодирует онкогенный BCR-ABL1 гибридный белок. Тогда как ABL1 кодирует жестко регулируемую тирозиновую протеинкиназу, которая играет фундаментальную роль в регуляции клеточной пролиферации, адгезии и апоптоза, BCR-ABL1 гибридный ген кодирует как конститутивно активированная киназа. Эта активированная киназа трансформирует НЅС с образованием фенотипа, демонстрирующего нарушенную регуляцию клональной пролиферации, пониженную способность к адгезии к строме костного мозга и пониженный апоптический ответ на мутагенные стимулы, приводя к прогрессивно более злокачественным трансформациям. Полученные в результате гранулоциты не могут развиваться в зрелые лимфоциты и высвобождаются в кровоток, приводя к дефициту зрелых клеток и повышенной восприимчивости к инфекции. Было показано, что ATP-конкурентные ингибиторы BCR-ABL1 препятствуют киназной активации митогенного и антиапоптического путей (например, РІ-3 киназа и STAT5), приводя к гибели клеток с BCR-ABL1 фенотипом и, таким образом, обеспечивая эффективную терапию против СМL. КСL-22 клеточная линия (полученная от DSMZ, Ltibniz Institute, Germany) выделена из плевральной эффузии 32летней женщины при помощи аппарата хромосомно-позитивного CML Philadelphia в бластном кризе в 1981 г. и описана для содержания t(9; 22), приводящего к гибридному гену BCR-ABL1 и мутации р53. KCL-22 клеточная линия может быть использована в модели Xenograft для демонстрации in vivo эффективности соединений изобретения (см. Assay section, infra). Соединения по настоящему изобретению, в качестве ингибиторов BCR-ABL1, включая его мутанты, являются, таким образом, особенно подходящими для лечения заболеваний, связанных с его чрезмерной экспрессией, таких как ALL или CML лейкозы.

Также было показано, что соединения по настоящему изобретению обладают противоопухолевой активностью in vitro: in vitro противоопухолевую активность испытывают, например, с использованием лейкозных клеточных линий, таких как Ba/F3-BCR-ABL1, KCL-22, K-562, MEG-01, KYO-1, LAMA-84, KU812, EM-2, CML-T1, BV-173 или ALL-SIL.

Настоящее изобретение включает способ лечения рака, включающий введение субъекту, наждующемуся в таком лечении, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или фармацевтической композиции.

Следующий вариант воплощения включает введение субъекту дополнительного терапевтического средства.

В следующем варианте воплощения дополнительное терапевтическое средство представляет собой другой ингибитор BCR-ABL1, выбранный из иматиниба, нилотиниба, дасатиниба, досутиниба, радотиниба, понатиниба и бафетиниба.

В другом варианте воплощения представлен способ лечения состояния, опосредованного BCR-ABL1, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества соединения по настоящему изобретению или фармацевтической композиции.

BCR-ABL1 содержит одну или несколько мутаций. Примеры таких мутаций включают V299L, T315I, F317L, Y253F, Y253H, E255K, E255V, F359C и F359V (UJane F. Apperley. Part 1: Mechanism of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. Lancet Oncology 2007; 8:1018).

В следующем варианте воплощения представлен способ лечения состояния, опосредованного BCR-ABL1, где BCR-ABL1 содержит одну или несколько мутаций, выбранных из V299L, T315I, F317I, F317L, Y253F, Y253H, E255K, E255V, F359C и F359V.

В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение относится к указанному выше способу, где указанное соединение вводят парентерально.

В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение относится к указанному выше способу, где указанное соединение вводят внутримышечно, внутривенно, подкожно, перорально, внутрилегочно, интратекально, местно или интраназально.

В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение относится к указанному выше способу, где указанное соединение вводят системно.

В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение относится к указанному выше способу, где указанный пациент представляет собой млекопитающее.

В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение относится к указанному выше способу, где указанный пациент представляет собой примата.

В некоторых вариантах воплощения настоящее изобретение относится к указанному выше способу, где указанный пациент представляет собой человека.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения ABL1/BCR-ABL1опосредованного расстройства, включающему следующую стадию: введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества химиотерапевтического средства в комбинации с терапевтически эффективным количеством соединения формулы (I).

В другом аспекте представлено соединение формулы (I) или любые конкретные варианты его воплощения, описанные выше, для использования при лечении рака.

В еще одном аспекте рак представляет собой лейкоз, выбранный из хронического миелолейкоза (CML) и острого лимфобластного лейкоза (ALL).

В другом аспекте представлено соединение формулы (I) или любые конкретные варианты его воплощения для использования при лечении рака в комбинации с дополнительным соединением, выбранным из иматиниба, нилотиниба, дазатиниба, босутиниба, понатиниба и бафетиниба.

В еще одном аспекте соединение формулы (I) представляет собой (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид.

В еще одном аспекте соединение формулы (I) представляет собой фармацевтически приемлемую соль (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамида.

В еще одном аспекте дополнительное соединение вводят последовательно.

В еще одном аспекте дополнительное соединение вводят одновременно.

В еще одном аспекте дополнительное соединение представляет собой нилотиниб.

В еще одном аспекте дополнительное соединение представляет собой иматиниб.

В еще одном аспекте дополнительное соединение представляет собой дазатиниб.

В еще одном аспекте дополнительное соединение представляет собой босутиниб.

В еще одном аспекте дополнительное соединение представляет собой понатиниб.

В еще одном аспекте дополнительное соединение представляет собой бафетиниб.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения ABL1/BCR-ABL1опосредованного расстройства, включающему следующую стадию: введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества химиотерапевтического средства в комбинации с терапевтически эффективным количеством соединения формулы (I).

Фармацевтические композиции.

В другом аспекте настоящее изобретение обеспечивает фармацевтически приемлемые композиции, которые включают терапевтически эффективное количество одного или нескольких соединений, описанных выше, сформулированных вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями (добавками) и/или разбавителями. Как описано подробно ниже, фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут быть специально сформулированы для введения в твердой или жидкой форме, включая композиции, предназначенные для следующего: (1) перорального введения, например смачивающие препараты (водные или неводные растворы или суспензии), таблетки, например, предназначенные для буккального, сублингвального введения и системной абсорбции, болюсы, порошки, гранулы, пасты для нанесения на язык; (2) парентерального введения, например, при помощи подкожной, внутримышечной, внутривенной или эпидуральной инъекции, например, в виде стерильного раствора или суспензии или композиции замедленного высвобождения; (3) местного нанесения, например, в виде крема, мази или пластыря с контролируемым высвобождением или спрея, наносимого на кожу; (4) интравагинального или интраректального введения, например, в виде пессария, крема или пены; (5) сублингвального введения; (6) глазного введения; (7) чрескожного введения; (8) назального введения; (9) внутрилегочного введения или (10) интратекального введения.

Фраза "терапевтически эффективное количество", как это используется в настоящей заявке, означает такое количество соединения, вещества или композиции, включающей соединение по настоящему изобретению, которое является эффективным для получения некоторого желаемого терапевтического эффекта в, по меньшей мере, субпопуляции клеток у животного при разумном соотношении польза/риск в применении к любому медицинскому лечению.

Фраза "фармацевтически приемлемый", как это используется в настоящей заявке, относится к тем соединениям, веществам, композициям и/или лекарственным формам, которые, согласно взвешенной медицинской оценке, являются подходящими для использования в контакте с тканями человека и животных, без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергических реакций или других проблем или осложнений, соответствуя разумному соотношению польза/риск.

Фраза "фармацевтически приемлемый носитель", как это используется в настоящей заявке, означает фармацевтически приемлемое вещество, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, эксципиент, технологическая добавка (например, смазывающее вещество, тальк, стеарат магния, кальция или цинка или стеариновая кислота) или растворяемое инкапсулирующее вещество, участвующее в переносе или транспортировании соединения по настоящему изобретению из одного органа или части тела к другому органу или части тела. Каждый носитель должен быть "приемлемым", в том смысле, что он должен быть совместимым с другими ингредиентами композиции и не быть вредным для пациента. Некоторые примеры веществ, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемых носителей, включают (1) сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; (2) крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; (3) целлюлозу и ее производные, такие как натрий карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; (4) порошкообразный трагакант; (5)

солод; (6) желатин; (7) тальк; (8) эксципиенты, такие как масло какао и воски для суппозиториев; (9) масло, такое как арахисовое масло, масло семян хлопчатника, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; (10) гликоли, такие как пропиленгликоль; (11) полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; (12) сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; (13) агар; (14) буферные вещества, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; (15) альгиновую кислоту; (16) апирогенную воду; (17) изотонический солевой раствор; (18) раствор Рингера; (19) этиловый спирт; (20) рН буферные растворы; (21) сложные полиэфиры, поликарбонаты и/или полиангидриды и (22) другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических композициях.

Как описано выше, некоторые варианты воплощения соединений по настоящему изобретению могут содержать щелочную функциональную группу, такую как амино или алкиламино, и, таким образом, могут образовывать фармацевтически приемлемые соли с фармацевтически приемлемыми кислотами. Термин "фармацевтически приемлемые соли", в этом отношении, относится к относительно нетоксичным неорганическим и органическим кислотно-аддитивным солям соединений по настоящему изобретению. Эти соли можно получить in situ в процессе получения носителя для введения или лекарственной формы, или путем отдельного взаимодействия очищенного соединения по настоящему изобретению в форме свободного основания с подходящей органической или неорганической кислотой и выделения образованной таким образом соли в процессе последующей очистки. Репрезентативные соли включают гидробромид, гидрохлорид, сульфат, бисульфат, фосфат, нитрат, ацетат, валерат, олеат, пальмитат, стеарат, лаурат, бензоат, лактат, фосфат, тозилат, цитрат, малеат, фумарат, сукцинат, тартрат, наптилат, мезилат, глюкогептаноат, лактобионат и лаурилсульфонат и подобные (см., например, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19).

Фармацевтически приемлемые соли соединений по настоящему изобретению включают традиционные нетоксичные соли или четвертичные аммониевые соли соединений, например, образованные из нетоксичных органических или неорганических кислот. Например, такие традиционные нетоксичные соли включают соли, образованные из неорганических кислот, таких как хлористо-водородная, бромисто-водородная, сульфаминовая, фосфорная, азотная и подобные; и соли, образованные из органических кислот, таких как уксусная, пропионовая, янтарная, гликолевая, стеариновая, молочная, яблочная, винная, лимонная, аскорбиновая, пальмитиновая, малеиновая, гидроксималеиновая, фенилуксусная, глутаминовая, бензойная, салициловая, сульфаниловая, 2-ацетоксибензойная, фумаровая, толуолсульфоновая, метансульфоновая, этандисульфоновая, щавелевая, изотионовая и подобные.

В других случаях соединения по настоящему изобретению могут содержать одну или несколько кислотных функциональных групп и, таким образом, могут образовывать фармацевтически приемлемые соли с фармацевтически приемлемыми основаниями. Термин "фармацевтически приемлемые соли" в этих случаях относится к относительно нетоксичным неорганическим и органическим основноаддитивным солям соединений по настоящему изобретению. Эти соли также можно получить in situ в процессе получения носителя для введения или лекарственной формы или путем отдельного взаимодействия очищенного соединения по настоящему изобретению в форме свободной кислоты с подходящим основанием, таким как гидроксид, карбонат или бикарбонат фармацевтически приемлемого металлического катиона, с аммиаком или с фармацевтически приемлемым органическим первичным, вторичным или третичным амином. Репрезентативные соли щелочных или щелочно-земельных металлов включают соли лития, натрия, калия, кальция, магния и алюминия и подобные. Репрезентативные органические амины, полезные для образования основно-аддитивных солей, включают этиламин, диэтиламин, этилендиамин, этаноламин, диэтаноламин, пиперазин и подобные (см., например, Berge et al., supra).

Смачивающие вещества, эмульгаторы и смазывающие вещества, такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния, а также красители, агенты высвобождения, вещества покрытий, подсластители, отдушки и ароматизаторы, консерванты и антиоксиданты также могут присутствовать в композициях.

Примеры фармацевтически приемлемых антиоксидантов включают: (1) водорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, цистеин гидрохлорид, бисульфат натрия, метабисульфит натрия, сульфит натрия и подобные; (2) маслорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбилпальмитат, бутилированный гидроксианизол (ВНА), бутилированный гидрокситолуол (ВНТ), лецитин, пропилгаллат, альфа-токоферол и подобные; и (3) металло-хелатные вещества, такие как лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота (ЕDTA), сорбит, винная кислота, фосфорная кислота и подобные.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению включают композиции, подходящие для перорального, назального введения, местного (включая буккальное и сублингвальное), ректального, вагинального и/или парентерального введения. Композиции удобным образом могут быть представлены в стандартной лекарственной форме и могут быть получены любыми способами, хорошо известными в фармацевтике. Количество активного ингредиента, которое может быть объединено с веществомносителем для получения одной лекарственной дозы, варьируется в зависимости от хозяина, который принимает лечение, конкретного способа введения. Количество активного ингредиента, которое может быть объединено с веществом-носителем для получения одной лекарственной дозы, как правило, составляет такое количество соединения, которое обеспечивает терапевтический эффект. Как правило, исходя

из 100%, это количество будет находиться в пределах от около 0,1 до около 99% активного ингредиента, предпочтительно от около 5 до около 70%, наиболее предпочтительно от около 10 до около 30%.

В некоторых вариантах воплощения композиция по настоящему изобретению включает эксципиент, выбранный из группы, включающей циклодекстрины, целлюлозы, липосомы, мицеллообразующие вещества, например желчные кислоты, и полимерные носители, например сложные полиэфиры и полиангидриды; и соединение по настоящему изобретению. В некоторых вариантах воплощения указанная выше композиция делает соединение по настоящему изобретению перорально биодоступным.

Способы получения этих составов или композиций включают стадию приведения соединения по настоящему изобретению в ассоциацию с носителем и, необязательно, одним или несколькими вспомогательными ингредиентами. Как правило, композиции получают путем однородного и гомогенного смешивания для приведения в ассоциацию соединения по настоящему изобретению с жидкими носителями или тонкоизмельченными твердыми носителями, или и теми и другими, и затем, если это необходимо, формования продукта.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению, подходящие для перорального введения, могут быть в форме капсул, саше, пилюль, таблеток, лепешек (с использованием содержащей отдушки основы, обычно такой как сахароза и аравийская камедь или трагакант), порошков, гранул или в виде раствора, суспензии или твердой дисперсии в водной или неводной жидкости, или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде или вода-в-масле, или в виде эликсира или сиропа, или в виде пастилок (с использованием инертной основы, такой как желатин и глицерин или сахароза и аравийская камедь), и/или в виде полосканий для рта и т.п., при этом каждая такая форма содержит предварительно определенное количество соединения по настоящему изобретению в качестве активного ингредиента. Соединение по настоящему изобретению также можно вводить в виде болюса, электуария или пасты.

Фармацевтическая композиция в виде твердой дисперсии по настоящему изобретению включает, например, аморфную дисперсию соединения по настоящему изобретению, эксципиент (сополимеры, такие как поливинилпирролидинон (PVP) VA64 (Kollidon® VA64 или Copovidone) и подобные). Твердая дисперсия может быть дополнительно усилена при помощи гидроксилпропилметилцеллюлоз (НРМС) с низкой вязкостью (таких как Pharmacoat 603, Methocel E3 или подобные); см. пример 41 ниже для получения более детальной информации для получения фармацевтической композиции в виде твердой дисперсии по настоящему изобретению.

В одном варианте воплощения настоящего изобретения представлена фармацевтическая композиция, включающая аморфную дисперсию (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамида (пример 9) и от 1 до 2 эксципиентов; где эксципиент выбирают из HPMC AS, Pharmacoat 603, Eudragit L100, PVP K30, PVP VA64 и Eudragit EPO.

В следующем варианте воплощения эксципиенты представляют собой PVP VA64 и Pharmacoat 603.

В следующем варианте воплощения процентное содержание Pharmacoat 603 находится в диапазоне от 30 до 45%, процентное содержание PVP VA64 находится в диапазоне от 30 до 45%, и процентное содержание

(R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамида (пример 9) находится в диапазоне от 20 до 30%.

В следующем варианте воплощения процентное содержание Pharmacoat 603 составляет 37,5%, процентное содержание PVP VA64 составляет 37,5%, и процентное содержание (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамида (пример 9) составляет 25%.

В твердых лекарственных формах по настоящему изобретению для перорального введения (капсулы, таблетки, пилюли, драже, порошки, гранулы, лепешки и подобное) активный ингредиент смешан с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями, такими как цитрат натрия или дикальций фосфат, и/или любым из следующих: (1) наполнители или создающие объем вещества, такие как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и/или кремневая кислота; (2) связующие, такие как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и/или аравийская камедь; (3) увлажнители, такие как глицерин; (4) разрыхлители, такие как агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые силикаты и карбонат натрия; (5) замедляющие растворение вещества, такие как парафин; (6) ускорители абсорбциии, такие как четвертичные аммониевые соединения, и поверхностно-активные вещества, такие как полоксамер и лаурилсульфат натрия; (7) смачивающие вещества, такие как, например, цетиловый спирт, глицеринмоностеарат и неионные поверхностно-активные вещества; (8) абсорбенты, такие как каолин и бентонитовая глина; (9) смазывающие вещества, такие как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия, стеарат цинка, стеарат натрия, стеариновая кислота и их смеси; (10) красители; и (11) контролирующие высвобождение вещества, такие как кросповидон или этилцеллюлоза. В случае капсул, таблеток и пилюль, фармацевтические композиции также могут включать буферные вещества. Твердые композиции подобного типа также можно использовать в качестве наполнителей в мягких и твердых желатиновых капсулах с использованием таких эксципиентов, как лактоза или молочные сахара, а также высокомолекулярных полиэтиленгликолей и подобных.

Таблетку можно получить путем прессования или формования, необязательно с использованием

одного или нескольких вспомогательных ингредиентов. Прессованные таблетки можно получить с использованием связующего (например, желатин или гидроксипропилметилцеллюлоза), смазывающего вещества, инертного разбавителя, консерванта, разрыхлителя (например, натрий крахмалгликолят или сшитая натрий карбоксиметилцеллюлоза), поверхностно-активного или диспергирующего вещества.

Формованные таблетки можно получить путем формования в подходящей машине смеси порошкообразного соединения, смоченного инертным жидким разбавителем.

Таблетки и другие твердые лекарственные формы фармацевтических композиций по настоящему изобретению, такие как драже, капсулы, пилюли и гранулы, необязательно могут иметь насечку или могут быть получены с покрытиями и оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия и другие покрытия, хорошо известные в области фармацевтического формулирования. Они также могут быть сформулированы таким образом, чтобы обеспечивать медленное или контролируемое высвобождение активного ингредиента, содержащегося в них, с использованием, например, гидроксипропилметилцеллюлозы в разных пропорциях для обеспечения желаемого профиля высвобождения, других полимерных матриц, липосом и/или микросфер. Они могут быть сформулированы для быстрого высвобождения, например, с использованием сушки замораживанием. Они могут быть стерилизованы, например, путем фильтрования через удерживающий бактерии фильтр или путем включения стерилизующих средств в форме стерильных твердых композиций, которые можно растворить в стерильной воде или какой-либо другой стерильной среде для инъекций непосредственно перед использованием. Эти композиции также могут, но необязательно, содержать вещества, делающие композицию непрозрачной, и могут иметь такую композицию, которая обеспечивает высвобождение активного ингредиента (ингредиентов) только или преимущественно в определенной части желудочно-кишечного тракта, необязательно замедленным образом. Примеры композиций, предназначенных для включения в них лекарственного средства, которые можно использовать, включают полимерные вещества и воски. Активный ингредиент также может быть в микроинкапсулированной форме, если это является подходящим, с одним или несколькими описанными выше экспипиентами.

Жидкие лекарственные формы для перорального введения соединений по настоящему изобретению включают фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Помимо активного ингредиента жидкие лекарственные формы могут содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области техники, такие как, например, вода или другие растворители, солюбилизирующие вещества и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензиловного према, кукурузное маслоуниленгликоль, масла (в частности, масло семян хлопчатника, масло земляного ореха, кукурузное масло, масло из проростков семян, оливковое, касторовое и кунжутное масло), глицерин, тетрагидрофуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот сорбитана и их смеси.

Помимо инертных разбавителей пероральные композиции также могут включать адъюванты, такие как смачивающие вещества, эмульгаторы и суспендирующие вещества, подсластители, отдушки, красители, ароматизаторы и консерванты.

Суспензии, помимо активных соединений, могут содержать суспендирующие вещества, например этоксилированные изостеариловые спирты, полиоксиэтиленсорбит и сложные эфиры сорбитана, микрокристаллическую целлюлозу, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант и их смеси.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению для ректального или вагинального введения могут быть представлены в виде суппозитория, который можно получить путем смешивания одного или нескольких соединений по настоящему изобретению с одним или несколькими подходящими нераздражающими эксципиентами или носителями, включая, например, масло какао, полиэтиленгликоль, воск для суппозиториев или салицилат, и который является твердым при комнатной температуре, но жидким при температуре тела и поэтому будет плавиться в прямой кишке или вагинальной полости и высвобождать активное соединение.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению, которые являются подходящими для вагинального введения, также включают пессарии, тампоны, кремы, гели, пасты, пены или композиции спреев, содержащие такие носители, которые известны из уровня техники как подходящие.

Лекарственные формы для местного или чрескожного введения соединения по настоящему изобретению включают порошки, спреи, мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, растворы, пластыри и препараты для ингаляций. Активное соединение может быть смешано в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и с любыми консервантами, буферами или пропеллентами, которые могут потребоваться.

Мази, пасты, кремы и гели могут содержать, помимо активного соединения по настоящему изобретению, эксципиенты, такие как животные и растительные жиры, масла, воски, парафины, крахмал, трага-кант, производные целлюлозы, полиэтиленгликоли, силиконы, бентониты, кремневая кислота, тальк и оксид цинка или их смеси.

Порошки и спреи могут содержать, помимо соединения по настоящему изобретению, эксципиенты, такие как лактоза, тальк, кремневая кислота, гидроксид алюминия, силикаты кальция и полиамидный порошок или смеси таких веществ. Спреи дополнительно могут содержать традиционные пропелленты,

такие как хлорфторуглеводороды и летучие незамещенные углеводороды, такие как бутан и пропан.

Чрескожные пластыри имеют дополнительное преимущество, обеспечивая контролируемую доставку соединения по настоящему изобретению в организм. Такие лекарственные формы можно получить путем растворения или диспергирования соединения в подходящей среде. Усилители абсорбции также можно использовать для увеличения потока соединения через кожу. Скорость такого потока можно контролировать либо путем обеспечения контролирующей скорость мембраны, либо путем диспергирования соединения в полимерной матрице или геле.

Офтальмические композиции, глазные мази, порошки, растворы и т.п. также предусматриваются как охватываемые объемом настоящего изобретения.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению, подходящие для парентерального введения, включают одно или несколько соединений по настоящему изобретению в объединении с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми стерильными изотоническими водными или неводными растворами, дисперсиями, суспензиями или эмульсиями или стерильными порошками, которые могут быть реструктурированы с получением стерильных растворов или дисперсий для инъекций непосредственно перед использованием, которые могут содержать сахара, спирты, антиоксиданты, буферы, бактериостатические вещества, растворенные вещества, которые делают композицию изотонической с кровью предполагаемого реципиента, или суспендирующие вещества или загустители.

Примеры подходящих водных и неводных носителей, которые можно использовать в фармацевтических композициях по настоящему изобретению, включают воду, этанол, полиолы (такие как глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль и подобные) и подходящие смеси таких веществ, растительные масла, такие как оливковое масло, и органические сложные эфиры для инъекций, такие как этилолеат. Подходящую текучесть можно поддерживать, например, с использованием веществ для покрытия, таких как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсий и путем использования поверхностно-активных веществ.

Эти композиции также могут содержать адъюванты, такие как консерванты, смачивающие вещества, эмульгаторы и диспергирующие вещества. Предотвращение действия микроорганизмов на соединения по настоящему изобретению можно обеспечить путем включения различных антибактериальных и противогрибковых средств, например парабена, хлорбутанола, фенолсорбиновой кислоты и подобных. Также может быть желательным включение в композиции изотонических веществ, таких как сахара, хлорид натрия и подобные. Кроме того, пролонгированную абсорбцию фармацевтической формы для инъекций можно получить путем включения веществ, которые замедляют абсорбцию, таких как моностеарат алюминия и желатин.

В некоторых случаях для пролонгирования действия лекарственного средства желательно замедлить абсорбцию лекарственного средства из подкожной или внутримышечной инъекции. Это можно осуществить с использованием жидкой суспензии кристаллического или аморфного вещества, имеющего плохую водорастворимость. Скорость абсорбции лекарственного средства в этом случае зависит от скорости его растворения, которая, в свою очередь, может зависеть от размера кристалла и кристаллической формы. Альтернативно, замедленную абсорбцию парентерально вводимой лекарственной формы получают путем растворения или суспендирования лекарственного средства в масляном носителе.

Депо формы для инъекций получают путем формирования матрицы для микроинкапсулирования соединений по настоящему изобретению в биоразлагаемых полимерах, таких как полилактид-полигликолид. В зависимости от отношения лекарственного средства к полимеру и природы конкретного используемого полимера скорость высвобождения лекарственного средства можно контролировать. Примеры других биоразлагаемых полимеров включают поли(ортоэфиры) и поли(ангидриды). Депо формы для инъекций также получают путем заключения лекарственного средства в липосомы или микроэмульсии, которые совместимы с тканью организма.

Когда соединения по настоящему изобретению вводят в виде фармацевтических средств человеку и животным, их можно вводить рег se или в виде фармацевтической композиции, содержащей, например, от 0,1 до 99% (более предпочтительно от 10 до 30%) активного ингредиента в комбинации с фармацевтически приемлемым носителем.

Препараты по настоящему изобретению можно вводить перорально, парентерально, местно или ректально. Их, безусловно, вводят в формах, подходящих для каждого пути введения. Например, их вводят в форме таблеток или капсул, путем инъекции, ингаляции, в виде глазного лосьона, мази, суппозитория и т.п., введение осуществляют путем инъекции, инфузии или ингаляции; местным путем с использованием лосьона или мази; и ректальным путем с использованием суппозиториев. Пероральные введения являются предпочтительными.

Фразы "парентеральное введение" и "вводимый парентерально", как это используется в настоящей заявке, означают способы введения, отличные от энтерального и местного введения, обычно путем инъекции, и включают, без ограничения, внутривенную, внутримышечную, интраартериальную, интратекальную, интракапсулярную, интраорбитальную, интракардиальную, внутрикожную, интраперитонеальную, транстрахеальную, подкожную, субкутикулярную, интраартикулярную, субкапсулярную, субарахноидальную, интраспинальную и интрастернальную инъекцию и инфузию.

Фразы "системное введение", "вводимый системно", "периферийное введение" и "вводимый периферийно", как это используется в настоящей заявке, означают введение соединения, лекарственного средства или другого вещества, отличное от введения непосредственно в центральную нервную систему, так, чтобы оно поступало в систему пациента и таким образом подвергалось метаболизму и другим подобным процессам, например подкожное введение.

Эти соединения можно вводить человеку и другим животным для лечения любым подходящим путем введения, в том числе перорально, назально, например в виде спрея, ректально, интравагинально, парентерально, интрацистернально и местно, например в форме порошков, мазей или капель, включая буккальное и сублингвальное введение.

Независимо от выбранного пути введения, соединения по настоящему изобретению, которые можно использовать в подходящей гидратированной форме, и/или фармацевтические композиции по настоящему изобретению формулируют в фармацевтически приемлемые лекарственные формы традиционными способами, известными специалистам в данной области.

Фактические уровни доз активных ингредиентов в фармацевтических композициях по настоящему изобретению могут варьироваться таким образом, чтобы обеспечивать количество активного ингредиента, которое является эффективным для достижения желаемого терапевтического ответа для конкретного пациента, композиции и пути введения, не являясь при этом токсичными для пациента.

Выбранный уровень доз будет зависеть от различных факторов, включая активность конкретного используемого соединения по настоящему изобретению или его сложного эфира, соли или амида, путь введения, время введения, скорость экскреции или метаболизма конкретного используемого соединения, скорость и степень абсорбции, продолжительность лечения, другие лекарственные средства, соединения и/или вещества, используемые в комбинации с конкретным используемым соединением, возраст, пол, массу тела, состояние, общее состояние здоровья и предыдущую медицинскую историю пациента, которого лечат, и подобные факторы, хорошо известные в медицине.

Лечащий врач или ветеринар со средней квалификацией легко сможет определить и прописать эффективное количество фармацевтической композиции, которая требуется. Например, лечащий врач или ветеринар может начать с доз соединений по настоящему изобретению, используемых в фармацевтической композиции, на уровнях ниже тех, которые необходимы для достижения желаемого терапевтического эффекта, и постепенно увеличивать дозу вплоть до достижения желаемого эффекта.

Как правило, подходящая суточная доза соединения по настоящему изобретению будет представлять собой такое количество соединения, которое представляет собой самую низкую дозу, эффективную для обеспечения терапевтического эффекта. Такая эффективная доза, как правило, зависит от факторов, описанных выше. Как правило, пероральные, внутривенные, интрацеребровентрикулярные и подкожные дозы соединений по настоящему изобретению для пациента, когда их используют для показанных анальгетических эффектов, находятся в пределах от около 0,0001 до около 100 мг на 1 кг массы тела в день.

Если желательно, эффективную суточную дозу активного соединения можно вводить в виде двух, трех, четырех, пяти, шести или более дробных доз, вводимых раздельно с подходящими интервалами времени в течение дня, необязательно, в стандартных лекарственных формах.

РК параметры in vivo могут быть использованы для оценки РК параметров человека. С применением различных способов, известных в данной области для прогнозирования РК человека, можно оценить прогнозируемый клиренс человека. Например, (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид (пример 9) по оценкам составляет 3 мл/мин/кг, и объем распределения оценивается как 1 л/кг.

Прогнозируемая эффективная суточная доза для человека для соединения примера 9, поэтому, была определена как находящаяся в пределах от 90 до 130 мг/день.

Хотя соединение по настоящему изобретению можно вводить отдельно, предпочтительным является введение соединения в виде фармацевтического препарата (композиции).

Соединения в соответствии с настоящим изобретением могут быть сформулированы для введения любым удобным путем для применения в лечении человека или в ветеринарии, аналогично другим фармацевтическим средствам.

В другом аспекте настоящее изобретение обеспечивает фармацевтически приемлемые композиции, которые включают терапевтически эффективное количество одного или нескольких соединений по настоящему изобретению, описанных выше, сформулированных вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями (добавками) и/или разбавителями. Как подробно описано ниже, фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут быть специально сформулированы для введения в твердой или жидкой форме, включая предназначенные для следующего: (1) перорального введения, например смачивающие препараты (водные или неводные растворы или суспензии), таблетки, болюсы, порошки, гранулы, пасты для нанесения на язык; (2) парентерального введения, например, при помощи подкожной, внутримышечной или внутривенной инъекции, например, в виде стерильного раствора или суспензии; (3) местного нанесения, например, в виде крема, мази или спрея для нанесения на кожу, легкие или слизистые оболочки; (4) интравагинального или интраректального введения, например, в виде пессария, крема или пены; (5) сублингвального или буккального введения; (6) глазного введения;

(7) чрескожного введения; (8) назального введения.

Термин "лечение" предназначен для охвата также профилактики, терапии и лечения.

Пациент, принимающий такое лечение, представляет собой любое животное, нуждающееся в этом, включая приматов, в частности человека, и других млекопитающих, таких как лошади, крапный рогатый скот, свиньи и овцы; а также домашнюю птицу и домашних животных в целом.

Технология микроэмульгирования может улучшить биодоступность некоторых липофильных (не растворимых в воде) фармацевтических средств. Примеры включают Триметрин (Dordunoo, S.K., et al., Drug Development and Industrial Pharmacy, 17(12), 1685-1713, 1991) и REV 5901 (Sheen, P.C., et al., J. Pharm. Sci 80(7), 712-714, 1991). Помимо прочего, микроэмульгирование обеспечивает повышенную биодоступность путем преимущественного направления абсорбции на лимфатическую систему вместо системы кровотока, которая, таким образом, обходит печень и предотвращает разложение соединений в гепатобилиарном кровообращении.

Хотя предусматриваются все подходящие амфифильные носители, в настоящем изобретении предпочтительными носителями в основном являются такие, которые имеют официальную маркировку "Признан безвредным" (Generally-Recognized-as-Safe (GRAS)) и которые могут как растворять соединение по настоящему изобретению, так и микроэмульгировать его на более поздней стадии, когда раствор приходит в контакт с комплексной водной фазой (такой как в желудочно-кишечном тракте человека). Обычно амфифильные ингредиенты, которые удовлетворяют этим требованиям, имеют HLB (гидрофильно-липофильный баланс) значения 2-20, и их структуры содержат алифатические радикалы с линейной цепью в пределах от C-6 до C-20. Примерами являются полиэтилен-гликолизированные глицериды жирных кислот и полиэтиленгликоли.

Особенно предусматриваются коммерчески доступные амфифильные носители, включая ряд Гелуцировых носителей, Лабрафил, Лабразол или Лаурогликоль (изготовитель и поставщик всех вышеперечисленных Gattefosse Corporation, Saint Priest, France), PEG-моно-олеат, PEG-ди-олеат, PEG-моно-лаурат и ди-лаурат, Лецитин, Полисорбат 80 и т.п. (производятся и поставляются рядом компаний в США и по всему миру).

Гидрофильные полимеры, подходящие для использования в настоящем изобретении, представляют собой такие, которые являются легко водорастворимыми, могут быть ковалентно связаны с везикулообразующим липидом и которые являются переносимыми in vivo без токсических эффектов (т.е. являются биосовместимыми). Подходящие полимеры включают полиэтиленгликоль (PEG), полимолочную кислоту (также называемую полилактидом), полигликолевую кислоту (также называемую полигликолидом), сополимер полимолочной-полигликолевой кислоты и поливиниловый спирт. Предпочтительные полимеры представляют собой такие, которые имеют молекулярную массу от около 100 или 120 Да до около 5000 или 10000 Да и более предпочтительно от около 300 до около 5000 Да. В особенно предпочтительном варианте воплощения полимер представляет собой полиэтиленгликоль, имеющий молекулярную массу от около 300 до около 5000 Да. В особенно предпочтительном варианте воплощения полимер представляет собой полиэтиленгликоль с молекулярной массой 750 Да (РЕG(750)). Полимеры также могут определяться по количеству мономеров в них; в предпочтительном варианте воплощения настоящего изобретения используют полимеры, состоящие по меньшей мере из около трех мономеров, такие РЕG полимеры, состоящие из трех мономеров (приблизительно 150 Да).

Другие гидрофильные полимеры, которые могут быть подходящими для использования в настоящем изобретении, включают поливинилпирролидон, полиметоксазолин, полиэтилоксазолин, полигидроксипропил метакриламид, полиметакриламид, полидиметилакриламид и производные целлюлозы, такие как гидроксиметилцеллюлоза или гидроксиэтилцеллюлоза.

В некоторых вариантах воплощения композиция по настоящему изобретению включает биосовместимый полимер, выбранный из группы, включающей полиамиды, поликарбонаты, полиалкилены, полимеры сложных эфиров акриловой и метакриловой кислот, поливиниловые полимеры, полигликолиды, полисилоксаны, полиуретаны и их сополимеры, целлюлозы, полипропилен, полиэтилены, полистирол, полимеры молочной кислоты и гликолевой кислоты, полиангидриды, поли(орто)эфиры, поли(масляную кислоту), поли(валериановую кислоту), поли(лактид-со-капролактон), полисахариды, белки, полигиалуроновые кислоты, полицианоакрилаты и их композиции, смеси или сополимеры.

Циклодекстрины представляют собой циклические олигосахариды, состоящие из 6, 7 или 8 глюкозных звеньев, которые обозначаются греческими буквами альфа, бета или гамма соответственно. Неизвестно о существовании циклодекстринов, содержащих меньше шести глюкозных звеньев. Глюкозные звенья связаны альфа-1,4-глюкозидными связями. Как следствие конформации кресла сахарных звеньев, все вторичные гидроксильные группы (по С-2, С-3) расположены на одной стороне кольца, тогда как все первичные гидроксильные группы по С-6 расположены на другой стороне. Как результат, внешние стороны являются гидрофильными, делая циклодекстрины водорастворимыми. В отличие от этого, полости циклодекстринов являются гидрофобными, поскольку они выстланы водородом атомов С-3 и С-5 и эфир-подобными кислородами. Эти матрицы делают возможным комплексообразование с различными относительно гидрофобными соединениями, включая, например, стероидные соединения, такие как 17-

бета-эстрадиол (см., например, van Uden et al. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 38:1-3-113 (1994)). Комплексообразование происходит посредством ван-дер-ваальсовых взаимодействий и путем образования водородных связей. Общий обзор химии циклодекстринов см. в Wenz, Agnew. Chem. Int. Ed. Engl., 33:803-822 (1994).

Физико-химические свойства циклодекстриновых производных сильно зависят от типа и степени замещения. Например, их растворимость в воде находится в диапазоне от нерастворимых (например, триацетил-бета-циклодекстрин) до растворимости 147% (мас./об.) (G-2-бета-циклодекстрин). Кроме того, они растворимы во многих органических растворителях. Свойства циклодекстринов позволяют контролировать растворимость различных компонентов композиции путем увеличения или уменьшения их растворимости.

Были описаны различные циклодекстрины и способы их получения. Например, Parmeter (I), et al. (патент США № 3453259) и Gramera, et al. (патент США № 3459731) описывают электронейтральные циклодекстрины. Другие производные включают циклодекстрины с катионнными свойствами [Parmeter (II), патент США № 3453257], нерастворимые сшитые циклодекстрины (Solms, патент США № 3420788) и циклодекстрины с анионными свойствами [Parmeter (III), патент США № 3426011]. Из циклодекстриновых производных с анионными свойствами можно указать такие, где карбоновые кислоты, фосфористые кислоты, фосфиновые кислоты, фосфоновые кислоты, тиофосфоновые кислоты, тиофосфоновые кислоты, тиосульфиновые кислоты и сульфоновые кислоты присоединены к родительскому циклодекстрину [см. Рагмеter (III), supra]. Кроме того, сульфоалкилэфирные производные циклодекстринов описаны Stella, et al. (патент США № 5134127).

Липосомы состоят по меньшей мере из одной липидной бислойной оболочки, заключающей в себе водный внутренний компартмент. Липосомы могут быть охарактеризованы по типу и по размеру оболочки. Небольшие однослойные везикулы (SUV) имеют одну оболочку и типичный диаметр в пределах от 0,02 до 0,05 мкм; крупные однослойные везикулы (LUVS) типично больше, чем 0,05 мкм. Олиголамеллярные крупные везикулы и мультиламеллярные везикулы имеют несколько, обычно концентрических, слоев оболочки, и они типично больше чем 0,1 мкм. Липосомы с несколькими неконцентрическими оболочками, т.е. несколькими более мелкими везикулами, содержащимися в более крупной везикуле, называют мультивезикулярными везикулами.

Один аспект настоящего изобретения относится к композициям, включающим липосомы, содержащие соединение по настоящему изобретению, где оболочка липосомы сформулирована для обеспечения липосомы с повышенной несущей способностью. Альтернативно или в дополнение к этому, соединение по настоящему изобретению может содержаться в, или быть адсорбированным на липосомном бислое липосомы. Соединение по настоящему изобретению может быть агрегировано с липидным поверхностно-активным веществом и может транспортироваться, находясь во внутреннем пространстве липосомы; в этих случаях липосомная оболочка сформулирована так, чтобы быть стойкой к разрушительным эффектам агрегата активное средство-поверхностно-активное вещество.

В соответствии с одним вариантом воплощения настоящего изобретения липидный бислой липосомы содержит липиды, дериватизованные полиэтиленгликолем (PEG) так, чтобы PEG цепи простирались от внутренней поверхности липидного бислоя во внутреннее пространство, инкапсулированное липосомой, и простирались от внешней поверхности липидного бислоя в окружующую среду.

Активные вещества, содержащиеся в липосомах по настоящему изобретению, находятся в солюбилизированной форме. Агрегаты, состоящие из поверхностно-активного вещества и активного вещества (такие как эмульсии или мицеллы, содержащие представляющее интерес активное вещество), могут быть заключены во внутреннем пространстве липосом в соответствии с настоящим изобретением. Поверхностно-активное вещество действует как агент, диспергирующий и солюбилизирующий активное вещество, и может быть выбрано из любого подходящего алифатического, циклоалифатического или ароматического поверхностно-активного вещества, включая, но не ограничиваясь этим, биосовместимые лизофосфатидилхолины (LPC) с разной длиной цепей (например, от около C_{14} до около C_{20}). Полимердериватизированные липиды, такие как РЕG-липиды, также можно использовать для мицеллообразования, поскольку их действие направлено на ингибирование слияния мицелла/оболочка, и поскольку присоединение полимера к молекулам поверхностно-активного вещества снижает СМС поверхностноактивного вещества и способствует мицеллообразованию. Предпочтительными являются поверхностноактивные вещества с СМС в микромолярном диапазоне; поверхностно-активные вещества с более высоким СМС можно использовать для получения мицелл, заключенных в липосомы по настоящему изобретению, однако мицеллярные поверхностно-активные мономеры могут влиять на стабильность липосомного бислоя и могут быть движущей силой в разработке липосом желаемой стабильности.

Липосомы в соответствии с настоящим изобретением можно получить любым из различных способов, которые известны из уровня техники; см., например, патент США № 4235871; опубликованные заявки PCT WO 96/14057; New RRC, Liposomes: A practical approach, IRL Press, Oxford (1990), pages 33-104; Lasic D.D., Liposomes from physics to applications, Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, 1993.

Например, липосомы по настоящему изобретению можно получить путем диффундирования липида, дериватизированного гидрофильным полимером, в предварительно сформированные липосомы, на-

пример, подвергая предварительно сформированные липосомы контактированию с мицеллами, образованными из липидпривитых полимеров, при концентрациях липидов, соответствующих конечному мольному проценту дериватизированного липида, который является желательным, в липосомы, содержащие гидрофильный полимер, также могут быть образованы путем гомогенизации, гидратирования липидной области или методами экструзии, как это известно из уровня техники.

В одном аспекте настоящего изобретения липосомы получают так, чтобы они имели, по существу, гомогенные размеры в выбранном размерном диапазоне. Один эффективный способ классификации по размеру включает экструдирование водной суспензии липосом через ряд поликарбонатных мембран, имеющих выбранный одинаковый размер пор; размер пор мембраны должен примерно соответствовать самым большим размерам липосом, которые получают путем экструзии через такую мембрану; см., например, патент США № 4737323 (12 апреля 1988 г.).

Характеристики высвобождения препарата по настоящему изобретению зависят от инкапсулирующего вещества, концентрации инкапсулированного лекарственного средства и присутствия модификаторов высвобождения. Например, высвобождением можно манипулировать, поскольку оно является рН зависимым, например, с использованием рН-чувствительного покрытия, которое высвобождает только при низком рН, как, например, в желудке, или при более высоком рН, как, например, в кишечнике. Энтеросолюбильное покрытие можно использовать для предотвращения высвобождения до тех пор, пока препарат не пройдет через желудок. Можно использовать несколько покрытий или смеси цианамида, инкапсулированного в различных веществах, для получения начального высвобождения в желудке с последующим более поздним высвобождением в кишечнике. Высвобождением также можно манипулировать путем включения солей или порообразующих веществ, которые могут повышать водопоглощение или высвобождать лекарственное средство посредством диффузии из капсулы. Эксципиенты, которые модифицируют растворимость лекарственного средства, также можно использовать для контролирования скорости высвобождения. Вещества, которые усиливают разрушение матрицы или высвобождают из матрицы, также могут быть включены. Они могут быть добавлены к лекарственному средству, добавлены в виде отдельной фазы (т.е. в виде мелких частиц) или могут быть совместно растворены в полимерной фазе, в зависимости от соединения. Во всех случаях количество должно находиться в пределах от 0,1 до 30% (мас./мас.) полимера. Типы веществ, которые усиливают разрушение, включают неорганические соли, такие как сульфат аммония и хлорид аммония, органические кислоты, такие как лимонная кислота, бензойная кислота и аскорбиновая кислота, неорганические основания, такие как карбонат натрия, карбонат калия, карбонат кальция, карбонат цинка и гидроксид цинка, и органические основания, такие как протаминсульфат, спермин, холин, этаноламин, диэтаноламин и триэтаноламин, и поверхностноактивные вещества, такие как Tween® и Pluronic®. Порообразующие вещества, которые добавляют микроструктуру матрицам (т.е. водорастворимые соединения, такие как неорганические соли и сахара), добавляют в виде твердых частиц. Диапазон должен составлять от 1 до 30% (мас./мас.) полимера.

Поглощением также можно манипулировать путем изменения времени нахождения частиц в кишечнике. Это достигается, например, путем покрытия частиц мукозально-адгезивным полимером или выбора его в качестве инкапсулирующего вещества. Примеры включают большинство полимеров со свободными карбоксильными группами, такие как хитозан, целлюлозы и особенно полиакрилаты (как используется в настоящей заявке, полиакрилаты относятся к полимерам, включающим акрилатные группы и модифицированные акрилатные группы, таким как цианоакрилаты и метакрилаты).

Фармацевтические комбинации.

Изобретение, главным образом, относится к применению соединения формулы (I) (или фармацевтической композиции, включающей соединение формулы (I)) в лечении одного или нескольких заболеваний, указанных в настоящей заявке; где ответ на лечение является благоприятным, как показано, например, путем частичного или полного устранения одного или нескольких симптомов заболевания, вплоть до полного излечения или ремиссии.

Филадельфийская хромосома-положительный (Ph+) ALL составляет 15-30% от ALL взрослых и до 5% от педиатрических ALL (Faderl S., Garcia-MAnero G., Thomas D., et al. Philadelphia Chromosome Positive Acute Lymphoblastic Leukemia- Current Concepts and Future Perspectives. Rev Clin Exp Hematol 2002; 6:142-160). Педиатрический Ph+ ALL характеризуется более старшим возрастом (в среднем 9-10 лет против приблизительно 4 лет для всех ALL пациентов) и более высоким числом WBC при постановке диагноза. Как у взрослых, так и у детей Ph+ ALL характеризуется реципрокальной транслокацией между хромосомами 9 и 22 (t(9; 22) (q34; q11)), приводящей к слиянию BCR гена на хромосоме 22 с ABL генными последовательностями, транслоцированными из хромосомы 9, приводя к экспрессии BCR-ABL1 белка. Существуют 2 основных варианта BCR-ABL1, р190BCR-ABL1, определяемый у приблизительно 85% Ph+ ALL пациентов, и р210 BCR-ABL1, типичный для CML, идентифицированный у приблизительно 15% Ph+ ALL пациентов (Dombret H., Galbert J., Boiron J., et al. Outcome of Treatment in Adults with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia-Results of the prospective multicenter LALA-94 trial. Blood 2002; 100:2357-2366; Faderl S., Garcia-MAnero G., Thomas D., et al. Philadelphia Chromosome Positive Acute Lymphoblastic Leukemia- Current Concepts and Future Perspectives. Rev Clin Exp Hematol 2002; 6:142-160).

Лечение ALL основано на классификации риска для каждого пациента, с повышением интенсивности лечения для пациентов, которые имеют больший риск рецидива; эта стратегия максимизирует скорости ремиссии, при этом ограничивая ненужные токсичности. Прогресс постепенно увеличивался от введения комбинированной химиотерапии и лечения предсимптоматического лейкоза центральной нервной системы до более новых интенсивных схем лечения для пациентов, которые имеют больший риск рецидива (С.Н. Pui and W. E. Evans. Acute Lymphoblastic Leukemia New Engl J. Med 1998; 339:605-615). До разработки иматиниба Ph+ ALL пациентов лечили при помощи интенсивной химиотерапии с последующей трансплантацией гематопоэтических стволовых клеток (HSCT), идеально с подходящим родственным донором, поскольку было показано, что это приводит к улучшенному EFS против любого HSCT с другими донорами или химиотерапии, используемой отдельно. В целом, и в отличие от большинства педиатрических пациентов с ALL, пациенты с Ph+ ALL имели плохие прогнозы с низким процентом выживания без неблагоприятных событий (EFS) (Arico M., Valsecchi M.G., Camitta B., Schrappe M., Chessells J., Baruchel A., Gaynon P., Silverman L., Janka-Schaub G., Kamps W, et al. New Engl J. Med 2000; 342:998-1006).

Существующие терапии (такие как GLEEVEC®, TASIGNA®, SPRYCEL®, BOSULIF®, ICLUSIG $^{\text{TM}}$ и подобные) связываются с ATP-связывающим сайтом киназного домена. В отличие от этого, соединения по настоящему изобретению являются мощными ингибиторами BCR-ABL1, ABL1 и ABL2, которые связываются с сайтом на киназном домене, который отличается от ATP-связывающего сайта.

Поэтому соединения по настоящему изобретению с их новым, аллостерическим механизмом действия могут быть использованы в качестве самостоятельной терапии или могут быть использованы последовательно или в комбинации с существующими терапиям, выбранными из $GLEEVEC^{\circledast}$, $TASIGNA^{\circledast}$, $SPRYCEL^{\circledast}$, $BOSULIF^{\circledast}$ и $ICLUSIG^{TM}$.

В качестве самостоятельной терапии соединения по настоящему изобретению могут быть использованы для лечения BCR-ABL1, ABL1 и ABL2-родственных заболеваний и расстройств. BCR-ABL1 может быть дикого типа или мутантным BCR-ABL1, выбранным из V299L, T315I, F317I/L, Y253F/H, E255K/V и F359C/V. Соединения по настоящему изобретению могут быть использованы для лечения пациентов, которые не реагируют на существующие методы лечения в результате мутаций, возникающих в ATP-связывающем сайте. В качестве комбинированной терапии соединения по настоящему изобретению представляют собой уникальную возможность для лечения пациентов с Ph+ лейкозом с использованием комбинации двух мощных, механистически различных ингибиторов BCR-ABL. Комбинированный подход в клинике может обеспечить пациентов с более глубоким и более устойчивым сокращением опухолевой нагрузки со снижением риска рецидива.

В другом варианте воплощения настоящего изобретения представлен способ лечения теплокровного животного, имеющего лейкоз, выбранный из хронического миелолейкоза (CML) и острого лимфобластного лейкоза (ALL), включающий введение указанному животному терапевтически эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли.

В следующем варианте воплощения теплокровное животное представляет собой человека (пациента).

В следующем варианте воплощения соединение по настоящему изобретению представляет собой (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид (пример 9) или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте воплощения настоящего изобретения представлен способ лечения теплокровного животного, имеющего лейкоз, выбранный из хронического миелолейкоза (CML) и острого лимфобластного лейкоза (ALL), включающий последовательное введение указанному животному терапевтически эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли и терапевтически эффективного количества соединения, выбранного из иматиниба, нилотиниба, дазатиниба, босутиниба, понатиниба и бафетиниба.

В следующем варианте воплощения теплокровное животное представляет собой человека (пациента).

В следующем варианте воплощения соединение по настоящему изобретению представляет собой (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид (пример 9) или его фармацевтически приемлемую соль.

В следующем варианте воплощения доза (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамида (пример 9) составляет 90-130 мг.

В следующем варианте воплощения доза нилотиниба составляет 10-50 мг/кг, иматиниба составляет 50-200 мг/кг, дазатиниба составляет 5-20 мг/кг или понатиниба составляет 2-10 мг/кг.

В следующем варианте воплощения доза босутиниба составляет 500 мг.

В другом варианте воплощения настоящего изобретения представлен способ лечения теплокровного животного, имеющего лейкоз, выбранный из хронического миелолейкоза (CML) и острого лимфобластного лейкоза (ALL), включающий одновременное введение указанному животному терапевтически эффективного количества соединения по настоящему изобретению или его фармацевтически приемле-

мой соли и терапевтически эффективного количества соединения, выбранного из иматиниба, нилотиниба, дазатиниба, босутиниба, понатиниба и бафетиниба.

В следующем варианте воплощения теплокровное животное представляет собой человека (пациента).

В следующем варианте воплощения соединение по настоящему изобретению представляет собой (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид (пример 9) или его фармацевтически приемлемую соль.

В следующем варианте воплощения доза (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамида (пример 9) составляет 90-130 мг.

В следующем варианте воплощения доза нилотиниба составляет 10-50 мг/кг, иматиниба составляет 50-200 мг/кг, дазатиниба составляет 5-20 мг/кг или понатиниба составляет 2-10 мг/кг.

В следующем варианте воплощения доза босутиниба составляет 500 мг.

В другом варианте воплощения настоящего изобретения представлен способ лечения теплокровного животного, имеющего лейкоз, выбранный из хронического миелолейкоза (CML) и острого лимфобластного лейкоза (ALL), включающий одновременное введение указанному животному терапевтически эффективного количества (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1Нпиразол-5-ил)никотинамида (пример 9) или его фармацевтически приемлемой соли и терапевтически эффективного количества нилотиниба.

В другом варианте воплощения настоящего изобретения представлен способ лечения теплокровного животного, имеющего лейкоз, выбранный из хронического миелолейкоза (CML) и острого лимфобластного лейкоза (ALL), включающий одновременное введение указанному животному терапевтически эффективного количества (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1Нпиразол-5-ил)никотинамида (пример 9) или его фармацевтически приемлемой соли и терапевтически эффективного количества нилотиниба.

Соединение формулы (I) также можно использовать в комбинации с другими противоопухолевыми соединениями. Такие соединения включают, но не ограничиваются этим, ингибиторы рибонуклеотидредуктазы, ингибиторы топоизомеразы I; JAK ингибиторы, такие как руксолитиниб; ингибиторы smoothened, такие как LDE225; интерферон; ингибиторы топоизомеразы II; действующие на микротрубочки активные соединения; алкилирующие соединения; ингибиторы гистон деацетилазы; ингибиторы mTOR, такие как RAD001; противоопухолевые антиметаболиты; соединения платины; соединения, прицельно действующие на/снижающие протеин- или липидкиназную активность, ингибиторы метионинаминопептидазы; модификаторы биологического ответа; ингибиторы Ras онкогенных изоформ; ингибиторы теломеразы; ингибиторы протеасомы; соединения, используемые в лечении гематологических злокачественных заболеваний, такие как флударабин; соединения, которые прицельно действуют на, снижают или ингибируют активность РКС, такие как мидостаурин; ингибиторы HSP90, такие как 17-AAG (17аллиламиногелданамицин, NSC330507), 17-DMAG (17-диметиламиноэтиламино-17-деметоксигелданамицин, NSC707545), IPI-504, CNF1010, CNF2024, CNF1010 от компании Conforma Therapeutics, HSP990 и AUY922; темозоломид (ТЕМОДАL®); ингибиторы кинезинового веретенного белка, такие как SB715992 или SB743921 от компании GlaxoSmithKline или пентамидин/хлорпромазин от компании CombinatoRx; ингибиторы PI3K, такие как BEZ235, BKM120 или BYL719; ингибиторы MEK, такие как ARRY142886 от компании Array PioPharma, AZD6244 от компании AstraZeneca, PD181461 от компании Pfizer, лейковорин, EDG связующие, антилейкемические соединения, ингибиторы S-аденозилметионин декарбоксилазы, антипролиферативные антитела или другие химиотерапевтические соединения. Кроме того, альтернативно или в дополнение к этому, их можно использовать в комбинации с ионизирующим облучением. Кроме того, в качестве альтернативы или в дополнение, они могут быть использованы в комбинации с ЈАК ингибиторами, такими как руксолитиниб.

Кроме того, в качестве альтернативы или в дополнение, они могут быть использованы в комбинации с ингибиторами smoothened, такими как LDE225.

Кроме того, в качестве альтернативы или в дополнение они могут быть использованы в комбинации с интерфероном.

Термин "ингибиторы рибонуклеотидредуктазы" относится к пиримидиновым или пуриновым нуклеозидным аналогам, включая, но не ограничиваясь этим, флударабин и/или цитозин арабинозид (ага-С), 6-тиогуанин, 5-фторурацил, кладрибин, 6-меркаптопурин (особенно в комбинации с ага-С против ALL), клофарабин, неларабин (пролекарство 9-β-арабинофуранозилгуанин, ага-G), пентостатин, гидроксимочевину или 2-гидрокси-1H-изоиндол-1,3-дионовые производные (Nandy et al., Acta Oncologica 1994; 33:953-961).

Термин "ингибитор топоизомеразы I", как это используется в настоящей заявке, включает, но не ограничивается этим, топотекан, гиматекан, иринотекан, камптотециан и его аналоги, 9-нитрокамптотецин и макромолекулярный камптотециновый конъюгат PNU-166148 (соединение A1 в WO99/17804). Иринотекан можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например, под торговой маркой CAMPTOSAR. Топотекан можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например,

под торговой маркой HYCAMTIN.

Термин "ингибитор топоизомеразы II", как это используется в настоящей заявке, включает, но не ограничивается этим, антрациклины, такие как доксорубицин (включая липосомный препарат, например, CAELYX), даунорубицин, эпирубицин, идарубицин и неморубицин, антрахиноны митоксантрон и лосоксантрон и подофиллотоксины этопозид и тенипозид. Этопозид можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например, под торговой маркой ETOPOPHOS. Тенипозид можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например, под торговой маркой VM 26-BRISTOL. Доксорубицин можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например, под торговой маркой ADRIBLASTIN или ADRIAMYCIN. Эпирубицин можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, под торговой маркой FARMORUBICIN. Идарубицин можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например, под торговой маркой ZAVEDOS. Митоксантрон можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например, под торговой маркой NOVAN-TRON.

Термин "действующее на микротрубочки активное соединение" относится к стабилизирующим микротрубочки, дестабилизирующим микротрубочки соединениям и ингибиторам полимеризации микротубулина, включающим, но не ограничиваясь этим, таксаны, например паклитаксел и доцетаксел, алкалоиды барвинка, например винбластин, особенно винбластин сульфат, винкристин, особенно винкристин сульфат, и винорелбин, дискодермолиды, кохицин и эпотилоны и их производные, например эпотилон В или D или их производные. Паклитаксел можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например ТАХОL. Доцетаксел можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например, под торговой маркой ТАХОТЕRE. Винбластин сульфат можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например, под торговой маркой VINBLASTIN R.P. Винкристин сульфат можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например, под торговой маркой FARMISTIN. Дискодермолид можно получить, например, как раскрыто в патенте США № 5010099. Также включены производные эпотилона, которые раскрыты в WO 98/10121, US 6194181, WO 98/25929, WO 98/08849, WO 99/43653, WO 98/22461 и WO 00/31247. Особенно предпочтительными являются Эпотилон А и/или В.

Термин "алкилирующее соединение", как это используется в настоящей заявке, включает, но не ограничивается этим, циклофосфамид, ифосфамид, мелфалан или нитрозомочевину (BCNU или Gliadel). Циклофосфамид можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например, под торговой маркой CYCLOSTIN. Ифосфамид можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например, под торговой маркой HOLOXAN.

Термин "ингибиторы гистон деацетилазы" или "ингибиторы HDAC" относится к соединениям, которые ингибируют гистон деацетилазу и которые обладают антипролиферативной активностью. Он включает соединения, такие как LDH589, раскрытый в WO 02/22577, особенно N-гидрокси-3-[4-[[(2-гидроксиэтил)[2-(1Н-индол-3-ил)этил]-амино]метил]фенил]-2Е-2-пропенамид, N-гидрокси-3-[4-[[[2-(2-метил-1Н-индол-3-ил)-этил]-амино]метил]фенил]-2Е-2-пропенамид и его фармацевтически приемлемые соли. Кроме того, этот термин особым образом включает субероиланилид гидроксамовую кислоту (SA-HA).

Термин "противоопухолевый антиметаболит" включает, но не ограничивается этим, 5-фторурацил или 5-FU, капецитабин, гемицитабин, ДНК деметилирующие соединения, такие как 5-азацитидин и децитабин, метотрексат и эдатрексат, и антагонисты фолиевой кислоты, такие как преметрексед. Капецитабин можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например, под торговой маркой XELODA. Гемицитабин можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, под торговой маркой GEMZAR.

Термин "соединение платины", как это используется в настоящей заявке, включает, но не ограничивается этим, карбоплатин, цис-платин, цисплатину и оксалиплатин. Карбоплатин можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например, под торговой маркой CARBOPLAT. Оксалиплатин можно вводить, например, в форме, как он поставляется на рынок, например, под торговой маркой ELOXATIN.

Термин "соединения, прицельно действующие на/снижающие протеин- или липидкиназную активность"; или "протеин- или липидфосфатазную активность", как это используется в настоящей заявке, включает, но не ограничивается этим, ингибиторы тирозиновой, и/или сериновой, и/или треониновой протеинкиназы или ингибиторы липидкиназы, например:

- а) соединения, прицельно действующие на, снижающие или ингибирующие активность членов ABL1 семейства, продукты слияния их генов (например, BCR-ABL1 киназа) и мутанты, такие как соединения, которые прицельно действуют на, снижают или ингибируют активность членов ABL1 семейства и продукты слияния их генов, например иматиниб, нилотиниб, дасатиниб, босутиниб, понатиниб, бафетиниб, PD180970, AG957, NSC 680410 и PD173955;
- b) соединения, прицельно действующие на, снижающие или ингибирующие активность членов протеинкиназы С (РКС) и Raf семейства сериновых/треониновых киназ, членов МЕК, SRC, JAK, FAK, PDK1, PKB/Akt и Ras/MAPK семейства и/или членов семейства циклинзависимых киназ (CDK), и осо-

бенно те стауроспориновые производные, которые раскрыты в патенте США № 5093330, например мидостаурин; примеры других соединений включают, например UCN-01, сафингол, ВАУ 43-9006, Бриостатин 1, Перифосин; Илмофосин; RO 318220 и RO 320432; GO 697 6; Изис 3521; LY333531/LY379196; изохинолиновые соединения, такие как соединения, раскрытые в WO 00/09495; FTIs; BEZ235 (ингибитор P13K) или AT7 519 (ингибитор CDK).

Термин "ингибиторы mTOR" относится к соединениям, которые ингибируют мишень рапамицина у млекопитающих (mTOR) и которые обладают антипролиферативной активностью, такие как сиролимус (Rapamune[®]), эверолимус (Certican $^{\text{TM}}$), CCI-779 и ABT578.

Термин "модификатор биологического ответа", как это используется в настоящей заявке, относится к лимфокину или интерферонам, например интерферону γ .

Термин "ингибитор онкогенных изоформ Ras", например H-Ras, K-Ras или N-Ras, как это используется в настоящей заявке, относится к соединениям, которые прицельно действуют на, снижают или ингибируют онкогенную активность Ras, например "ингибитор фарнезилтрансферазы", например L-744832. DK8G557 или R115777 (Zarnestra).

Термин "ингибитор теломеразы", как это используется в настоящей заявке, относится к соединениям, которые прицельно действуют на, снижают или ингибируют активность теломеразы. Соединения, которые прицельно действуют на, снижают или ингибируют активность теломеразы, главным образом, представляют собой соединения, которые ингибируют рецептор теломеразы, например теломестатин.

Термин "ингибитор метионинаминопептидазы", как это используется в настоящей заявке, относится к соединениям, которые прицельно действуют на, снижают или ингибируют активность метионинаминопептидазы. Соединения, которые прицельно действуют на, снижают или ингибируют активность метионинаминопептидазы, представляют собой, например, бенгамид или его производное.

Термин "ингибитор протеасомы", как это используется в настоящей заявке, относится к соединениям, которые прицельно действуют на, снижают или ингибируют активность протеасомы. Соединения, которые прицельно действуют на, снижают или ингибируют активность протеасомы, включают, например, Бортезомид (VelcadeTM) и MLN 341.

Термин "ингибиторы HSP90", как это используется в настоящей заявке, включает, но не ограничивается этим, соединения, которые прицельно действуют на, снижают или ингибируют собственную АТ-Разную активность HSP90; разрушают, прицельно действуют на, снижают или ингибируют HSP90-зависимые белки через убихитинпротеасомный путь. Соединения, которые прицельно действуют на, снижают или ингибируют собственную АТРазную активность HSP90, главным образом, представляют собой соединения, белки или антитела, которые ингибируют АТРазную активность HSP90, например 17-аллиламино,17-деметоксигелданамицин (17AAG), гелданамициновое производное; другие гелданамицин-родственные соединения; радицикол и ингибиторы HDAC. Примеры ингибиторов HSP90 включают HSP90 и AUY922.

Для лечения острого миелогенного лейкоза (AML) соединения формулы (I) можно использовать в комбинации со стандартными терапиями лейкоза, особенно в комбинации с терапиями, используемыми для лечения AML. В частности, соединения формулы (I) можно вводить в комбинации с, например, ингибиторами фарнезилтрансферазы и/или другими лекарственными средствами, полезными для лечения AML, такими как Даунорубицин, Адриамицин, Ara-C, VP-16, Тенипозид, Митоксантрон, Идарубицин, Карбоплатинум и PKC412.

Соединения, которые прицельно действуют на, снижают или ингибируют активность гистондеацетилазы (HDAC), такие как бутират натрия и субероиланилид гидроксамовая кислота (SAHA), ингибируют активность ферментов, известных как гистондеацетилазы. Конкретные ингибиторы HDAC включают MS275, SAHA, FK228 (прежнее название FR901228), Трихостатин А и соединения, раскрытые в патенте США № 6552065, в частности N-гидрокси-3-[4-[[[2-(2-метил-1Н-индол-3-ил)этил]амино]метил]фенил]-2Е-2-пропенамид или его фармацевтически приемлемую соль и N-гидрокси-3-[4-[(2-гидроксиэтил){2-(1Н-индол-3-ил)этил]амино]метил]фенил]-2Е-2-пропенамид или его фармацевтически приемлемую соль, особенно лактатную соль.

Подходы повреждения опухолевых клеток относятся к подходам, таким как ионизирующее излучение. Термин "ионизирующее излучение", используемый выше и далее, означает ионизирующее излучение, которое возникает в виде либо электромагнитных лучей (таких как X-лучи и гамма-лучи), либо частиц (таких как альфа и бета частицы). Ионизирующее излучение обеспечивается в, но не ограничиваясь этим, лучевой терапии и известно из уровня техники; см. Hellman, Principles of Radiation Therapy, Cancer, in Principles and Practice of Oncology, Devita et al., Eds., 4th Edition, Vol. 1, p. 248-275 (1993).

Термин "ингибиторы S-аденозилметиониндекарбоксилазы", как это используется в настоящей заявке, включает, но не ограничивается этим, соединения, раскрытые в патенте США № 5461076.

"Другие химиотерапевтические соединения" включают, но не ограничиваются этим, растительные алкалоиды, гормональные соединения и антагонисты; модификаторы биологического ответа, предпочтительно лимфокины или интерфероны; антисмысловые олигонуклеотиды или олигонуклеотидные производные; sh-PHK или si-PHK; или различные другие соединения или соединения с другим или неизвест-

ным механизмом действия.

Структура активных соединений, определяемых кодовыми номерами, родовыми или торговыми названиями, может быть взята из действующей редакции стандартного справочника "The Merck Index" или из баз данных, например Patents International (например, IMS World Publications).

Никакое цитирование ссылочных документов, которое можно найти в настоящем раскрытии, не должно рассматриваться как допущение, что эти цитируемые ссылочные документы являются известным уровнем техники, который мог бы негативно повлиять на патентоспособность настоящего изобретения.

Способы получения соединений по настоящему изобретению.

Настоящее изобретение также включает способы получения соединений по настоящему изобретению. В описанных реакциях может быть необходимо защитить реакционноспособные функциональные группы, например гидрокси, амино, имино, тио или карбоксигруппы, где эти группы являются желательными в конечном продукте, для избежания их нежелательного участия в реакциях. Обычные защитные группы можно использовать в соответствии со стандартной практикой, например, см. Т.W. Greene и P.G.M. Wuts in "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley и Sons, 1991.

К значениям температур, указанным ранее или далее в заявке, должно быть добавлено "около" как незначительные отклонения от приведенных числовых значений, например отклонения $\pm 10\%$ являются допустимыми. Все реакции могут осуществляться в присутствии одного или нескольких разбавителей и/или растворителей. Исходные материалы можно использовать в эквимолярных количествах; с другой стороны, соединение можно использовать в избытке, например, для функционирования в качестве растворителя или для смещения равновесия в целом или, в большинстве слечаев, для ускорения скорости реакции. Реакционные реагенты, такие как кислоты, щелочи или катализаторы, можно добавлять в подходящих количествах, как известно в данной области, требуемых для реакции, и в соответствии с общеизвестными процедурами.

Соединения формулы (I) можно получить аналогично представленному в следующей схеме реакций I.

в которой Y, Y_1 , R_1 , R_2 , R_3 и R_4 являются такими, как определено для формулы (I) в "Кратком описании изобретения", и X_1 и X_2 представляют собой атомы галогена, X_1 может быть выбран из хлора, брома или йода, и X_2 может быть выбран из хлора или фтора.

Стадия а. Соединение формулы (4) можно получить путем взаимодействия хлорангидрида кислоты соединения формулы (2) с соединением формулы (3) в присутствии подходящего растворителя (например, тетрагидрофурана или подобного) и органического основания (например, диизопропилэтиламина или подобного). Реакция протекает при температуре от около 0°C до примерно комнатной температуры и может протекать примерно до 2 ч до полного завершения.

Хлорангидрид кислоты соединения формулы (2) можно получить с использованием хлорирующего агента (например, тионилхлорида или оксалилхлорида или подобного) в присутствии катализатора (например, диметилформамида или подобного) и подходящего растворителя (например, толуола или подобного). Реакция протекает при температуре от комнатной или при нагревании до около 85°C и может протекать примерно до 2 ч до полного завершения.

Стадия b. Соединение формулы (5) можно получить путем взаимодействия соединения формулы (4) с R_2 -H, где R_2 такой, как определено в "Кратком описании изобретения", в присутствии подходящего растворителя (например, 2-пропанола или диметилсульфоксида или подобного) и подходящего органического основания (например, диизопропилэтиламина или триэтиламина или подобного). Реакция протекает при температуре от около 90 до около 140° С и может занять от около 30 мин до около 72 ч до завершения.

Стадия с. Соединение формулы (6) можно получить путем взаимодействия соединения формулы (4), где X_1 предпочтительно представляет собой бром или йод, с R_1 - Z_1 , где R_1 такой, как определено в

настоящей заявке, Z_1 предпочтительно представляет собой бороновую кислоту или сложный эфир (реакция Сузуки), в присутствии подходящего растворителя (например, диметоксиэтана или смеси диметоксиэтана и воды или подобного), подходящего неорганического основания (например, карбоната натрия или подобного) и палладиевого катализатора (например, бис-(трифенилфосфин)палладий(II) дихлорида или комплекса 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен-палладий(II)дихлорида с дихлорметаном или тетракис(трифенилфосфин)палладий(0) или подобного) и, необязательно, сорастворителя (например, этанола или подобного). Реакция протекает при температуре от примерно 80 до около 130° С и может занять от 20 мин до около 18 ч до завершения.

В качестве альтернативы стадию с можно осуществить путем взаимодействия соединения формулы (4), где X_1 предпочтительно представляет собой бром или йод, с R_1 - Z_2 , где R_1 такой, как определено в настоящей заявке, Z_2 предпочтительно представляет собой реагент на основе триалкилолова (реакция Стилла), в присутствии подходящего растворителя (например, диметилсульфоксида или подобного) и палладиевого катализатора (например, тетракис(трифенилфосфин)палладий(0)). Реакция протекает при температуре от около 140° С и может занять в целом до около 18 ч.

Стадия d. Соединение формулы (I) можно получить путем взаимодействия соединения формулы (5), где X_1 предпочтительно представляет собой бром или йод, с R_1 - Z_1 , где R_1 такой, как определено в настоящей заявке, Z_1 предпочтительно представляет собой бороновую кислоту или сложный эфир (реакция Сузуки), в присутствии подходящего растворителя (например, диметоксиэтана или смеси диметоксиэтана и воды или подобного), неорганического основания (например, карбоната натрия или подобного) и палладиевого катализатора (например, бис-(трифенилфосфин)палладий(II) дихлорида или комплекса 1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен-палладий(II)дихлорида с дихлорметаном или тетракис(трифенилфосфин)палладий(0) или подобного) и, необязательно, сорастворителя (например, этанола или подобного). Реакция протекает при температуре от около 80-130°С и может занять от около 20 мин до 2 ч до завершения.

Стадия е. Соединение формулы (I) можно получить путем взаимодействия соединения формулы (6) с R_2 -H, где R_2 такой, как определено в настоящей заявке, в присутствии подходящего растворителя (например, 2-пропанола или диметилсульфоксида или подобного), органического основания (например, диизопропилэтиламина или триэтиламина или подобного). Реакция протекает при температуре от около $90\text{-}140^{\circ}\text{C}$ и может занять от около 30 мин до 72 ч до завершения.

Соединения формулы (I) можно получить аналогично тому, как описано в следующей схеме реакций II.

Схема реакций II Alk (7) Y_1 X_2 стадия f(8) Y_1 R_2 R_3 R_4 R_4 R_3 R_4 R_4 R_4 R_4 R_5 R_5 R_5 R_4 R_5 R_5

в которой $Y,\,Y_1,\,R_1,\,R_2,\,R_3$ и R_4 являются такими, как определено для формулы (I) в "Кратком описании изобретения", и X_1 и X_2 представляют собой атомы галогена, X_1 , в частности хлор, бром или йод, X_2 , в частности хлор или фтор, и Alk представляет собой цепь низшего алкила, в частности метил.

Стадия f. Соединение формулы (8) можно получить путем взаимодействия соединения формулы (7) с R_2 -H, где R_2 такой, как определено в настоящей заявке, по аналогии со стадией b.

Стадия g. Соединение формулы (9) можно получить путем взаимодействия соединения формулы (8), где X_1 предпочтительно представляет собой бром или йод, с R_1 - Z_1 , где R_1 такой, как определено в настоящей заявке, Z_1 предпочтительно представляет собой бороновую кислоту или сложный эфир (реакция Сузуки), по аналогии со стадией d.

Стадия h. Соединение формулы (10) можно получить путем гидролиза сложного эфира соединения формулы (9) в присутствии подходящего растворителя (например, воды или подобного), неорганического основания (например, гидроксида натрия или подобного). Реакция протекает при комнатной температуре и может занять в целом до около 2 ч.

Стадия і. Соединение формулы (I) можно получить путем взаимодействия соединения формулы (10) с соединением формулы (3) в присутствии связующего реагента (такого как 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимидгидрохлорид и гидроксибензотриазол или подобного), подходящего основания (такого как N-метилморфолин, диизопропилэтиламин или подобного) и подходящего растворителя (такого как дихлорметан, диметилформамид или подобного). Реакция протекает при комнатной температуре и может занять приблизительно 12 ч до завершения.

Соединения формулы (I) можно получить аналогично тому, как описано в следующей схеме реакций III.

Схема реакций III

в которой $Y,\,Y_1,\,R_1,\,R_2,\,R_3$ и R_4 являются такими, как определено для формулы (I) в "Кратком описании изобретения", и X_1 и X_2 представляют собой атомы галогена, X_1 , в частности хлор, бром или йод, X_2 , в частности хлор или фтор, Prot представляет собой защитную группу, в частности тетрагидро-2H-пиран-2-ил (THP) или 2-(триметилсилил)этокси]метил (SEM), когда R_1 представляет собой пиразол со свободным NH.

Стадия I. Соединение формулы (12) можно получить путем взаимодействия соединения формулы (4) с $Prot-R_1-Z_1$, где R_1 такой, как определено в настоящей заявке, Z_1 предпочтительно представляет собой бороновую кислоту или сложный эфир (реакция Сузуки), Prot представляет собой, Prot или Prot или Prot или Prot или Prot по аналогии со стадией Prot с.

Стадия m. Соединение формулы (13) можно получить путем взаимодействия соединения формулы (12) с R₂-H, где R₂ такой, как определено в настоящей заявке, по аналогии со стадией е.

Стадия п. Соединение формулы (13) можно получить путем взаимодействия соединения формулы (5) с $Prot-R_1-Z_1$, где R_1 такой, как определено в настоящей заявке, Z_1 предпочтительно представляет собой бороновую кислоту или сложный эфир (реакция Сузуки), Prot представляет собой, Prot или SEM., по аналогии со стадией Prot d.

Стадия о. Соединение формулы (I) можно получить путем взаимодействия соединения формулы (13) с агентом снятия защиты (например, тетра-н-бутиламмонийфторидом или трифторуксусной кислотой или хлористо-водородной кислотой или подобным) в присутствии подходящего растворителя (например, тетрагидрофурана или дихлорметана или подобного). Реакция протекает при комнатной температуре или температуре до около 80°C и может занять от около 2 до 24 ч до завершения.

Соединения формулы (I), где R_1 представляет собой пиразол, замещенный группой R_6 , можно получить аналогично тому, как описано в следующей схеме реакций IV.

Схема реакций IV

$$R_3$$
 R_4 R_5 R_4 R_5 R_4 R_5 R_6 R_6 R_6 R_6 R_6 R_6 R_7 R_8 R_8

в которой $Y,\,Y_1,\,R_2,\,R_3,\,R_4$ и R_6 являются такими, как определено для формулы (I) в "Кратком описании изобретения", и X_1 представляет собой атом галогена, в частности бром или йод, и R_6 представляет собой низший алкил, в частности метил.

Стадия р. Соединение формулы (14) можно получить путем взаимодействия соединения формулы (5) с алкилвинилкетоном (например, метилвинилкетоном или подобным) в присутствии подходящего растворителя (например, диметилформамида или подобного), органического основания (например, триэтиламина или подобного) и палладиевого катализатора (например, три-орто-толилфосфин-палладийдиацетата или подобного). Реакция протекает при температуре от около 130°С и может занять до 16 ч до завершения.

Стадия q. Соединение формулы (Id) можно получить путем взаимодействия соединения формулы (14) с защищенным гидразидом (например, гидразидом толуол-4-сульфоновой кислоты или подобным) в присутствии подходящего растворителя (например, этанола или подобного). Реакция протекает при температуре от около 80°C и может занять до 2 ч до завершения. Затем защитную группу удаляют in situ с использованием алкоголята (например, метоксида натрия или подобного). Снятие защиты происходит при температуре около 80°C и может занять до 48 ч до завершения.

Соединения формулы (I) можно получить аналогично тому, как описано в следующей схеме реакций V_{\cdot}

Схема реакций V

в которой $Y,\,Y_1,\,R_1,\,R_2,\,R_3$ и R_4 являются такими, как определено для формулы (I) в Кратком описании изобретения, X_1 и X_2 представляют собой атомы галогена, X_1 , в частности хлор, бром или йод, X_2 , в частности хлор или фтор, и Alk представляет собой цепь низшего алкила, в частности метил, Prot представляет собой защитную группу, в частности тетрагидро-2H-пиран-2-ил (THP), когда R_1 представляет собой пиразол с свободным NH.

Стадия г. Соединение формулы (15) можно получить путем взаимодействия соединения формулы (8), где X_1 предпочтительно представляет собой бром или йод, с Prot- R_1 - Z_1 , где R_1 такой, как определено в настоящей заявке, Prot представляет собой, в частности, тетрагидро-2H-пиран-2-ил (ТНР), когда R_1 представляет собой пиразол со свободным NH, Z_1 предпочтительно представляет собой бороновую кислоту или сложный эфир (реакция Сузуки), по аналогии со стадией d.

Стадия s. Соединение формулы (16) можно получить путем гидролиза сложного эфира соединения формулы (15) в присутствии подходящего растворителя (например, воды и метанола или подобного), неорганического основания (например, гидроксида натрия или подобного). Реакция протекает при комнатной температуре и может занять приблизительно 14 ч до завершения.

Стадия t. Соединение формулы (17) можно получить путем взаимодействия соединения (16) с соединением формулы (3) в присутствии связующего реагента (такого как 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид гидрохлорид и гидроксибензотриазол или подобного), подходящего основания (такого как N-метилморфолин или подобного) и подходящего растворителя (такого как тетрагидрофуран или подобного). Реакция протекает при температуре от около 25-65°С и может занять до около 2 дней до завершения.

Стадия и. Соединение формулы (I) можно получить путем взаимодействия соединения формулы (17) с агентом снятия защиты (например, хлористо-водородной кислотой или подобным) в присутствии подходящего растворителя (например, тетрагидрофурана и метанола или подобного). Реакция протекает при комнатной температуре около 2 ч до завершения.

Подробные примеры синтеза соединений формулы (I) можно найти в разделе примеры ниже.

Дополнительные способы получения соединений по настоящему изобретению

Соединение по настоящему изобретению можно получить в виде фармацевтически приемлемой кислотно-аддитивной соли путем взаимодействия формы свободного основания соединения с фармацевтически приемлемой неорганической или органической кислотой. В качестве альтернативы, фармацевтически приемлемую основно-аддитивную соль соединения по настоящему изобретению можно получить путем взаимодействия формы свободной кислоты соединения с фармацевтически приемлемым неорганическим или органическим основанием.

Соединения формулы (I) также можно модифицировать путем добавления соответствующих функциональных групп для усиления селективных биологических свойств. Модификации подобного рода известны в данной области техники и включают те, которые увеличивают проникновение в данную биологическую систему (например, кровь, лимфатическую систему, центральную нервную систему, семенники), увеличивают биодоступность, повышают растворимость для возможности произвести парентеральное введение (например, инъекцию, инфузию), изменяют метаболизм и/или изменяют скорость секреции. Примеры этого типа модификаций включают, но не ограничиваются этим, этерификацию, например, с полиэтиленгликолями, дериватизацию с заместителями пивалоилокси или жирными кислотами, преобразование в карбаматы, гидроксилирование ароматических колец и гетероатомное замещение в ароматических кольцах. Везде, где упоминаются соединения формулы (I) и/или N-оксиды, таутомеры и/или (предпочтительно фармацевтически приемлемые) соли, это включает такие модифицированные формулы, хотя предпочтительно подразумеваются молекулы формулы (I), их N-оксиды, их таутомеры и/или их соли.

В качестве альтернативы, формы солей соединений по настоящему изобретению можно получить с использованием солей исходных веществ или промежуточных соединений. Ввиду тесной взаимосвязи между новыми соединениями формулы (I) в свободной форме и соединениями в форме их солей, вклю-

чая те соли, которые могут быть использованы в качестве промежуточных соединений, например в очистке или идентификации новых соединений, любую ссылку на соединения или соединение формулы (I) выше и далее в настоящей заявке следует понимать как ссылку на соединение в свободной форме и/или также на одну или несколько его солей, как это является подходящим и целесообразным, а также на один или несколько сольватов, например гидратов.

Соли получают, например, в виде кислотно-аддитивных солей, предпочтительно с органическими или неорганическими кислотами, из соединений формулы (I) с основным атомом азота, особенно в виде фармацевтически приемлемых солей. Подходящие неорганические кислоты представляют собой, например, галогеновые кислоты, такие как хлористо-водородная кислота, серная кислота или фосфорная кислота. Подходящие органические кислоты представляют собой, например, карбоновые, фосфоновые, сульфоновые или сульфаминовые кислоты, например уксусную кислоту, пропионовую кислоту, октановую кислоту, декановую кислоту, додекановую кислоту, гликолевую кислоту, молочную кислоту, фумаровую кислоту, янтарную кислоту, малоновую кислоту, адипиновую кислоту, пимелиновую кислоту, субериновую кислоту, азелаиновую кислоту, яблочную кислоту, винную кислоту, лимонную кислоту, аминокислоты, такие как глутаминовая кислота или аспарагиновая кислота, малеиновую кислоту, гидроксималеиновую кислоту, метилмалеиновую кислоту, циклогексанкарбоновую кислоту, адамантанкарбоновую кислоту, бензойную кислоту, салициловую кислоту, 4-аминосалициловую кислоту, фталевую кислоту, фенилуксусную кислоту, миндальную кислоту, коричную кислоту, метан- или этансульфоновую кислоту, 2-гидроксиэтансульфоновую кислоту, этан-1,2-дисульфоновую кислоту, бензолсульфоновую кислоту, 4-толуолсульфоновую кислоту, 2-нафталинсульфоновую кислоту, 1,5-нафталин-дисульфоновую кислоту, 2- или 3-метилбензолсульфоновую кислоту, метилсерную кислоту, этилсерную кислоту, додецилсерную кислоту, N-циклогексилсульфаминовую кислоту, N-метил-, N-этил- или N-пропилсульфаминовую кислоту или другую органическую протонную кислоту, такую как аскорбиновая кислота. Соли обычно могут быть преобразованы в свободные соединения, например, путем обработки подходящими основными соединениями, например карбонатами щелочных металлов, гидрокарбонатами щелочных металлов или гидроксидами щелочных металлов, обычно карбонатом калия или гидроксидом

Для целей выделения или очистки также является возможным использование фармацевтически неприемлемых солей, например пикратов или перхлоратов. Для терапевтического применения применяют только фармацевтически приемлемые соли или свободные соединения (где это применимо в форме фармацевтических препаратов), и, вследствие этого, они являются предпочтительными.

Формы свободной кислоты или свободного основания соединений по настоящему изобретению можно получить из соответствующей соли присоединения основания или кислотно-аддитивной соли соответственно. Например, соединение по настоящему изобретению в форме кислотно-аддитивной соли может быть преобразовано в соответствующее свободное основание путем обработки подходящим основанием (например, раствором гидроксида аммония, гидроксида натрия и т.п.). Соединение по настоящему изобретению в форме соли присоединения основания может быть преобразовано в соответствующую свободную кислоту путем обработки подходящей кислотой (например, хлористо-водородной кислотой и т.д.).

Соединения по настоящему изобретению в неокисленной форме можно получить из N-оксидов соединений по настоящему изобретению путем обработки восстанавливающим агентом (например, серой, диоксидом серы, трифенилфосфином, боргидридом лития, боргидридом натрия, трихлоридом фосфора, трибромидом или подобным) в подходящем инертном органическом растворителе (например, ацетонитриле, этаноле, водном растворе диоксана или подобном) при температуре от 0 до 80°C.

Пролекарственные производные соединений по настоящему изобретению можно получить способами, известными специалистам в данной области техники (например, подробнее см. Saulnier M.G., Langley D.R., Kadow J.F., Senter P.D., Knipe J.O., Tun M.M., Vyas D.M. и Doyle T.W. (1994) Synthesis of etoposide phosphate, BMY-4048 1: a watersoluble clinically active prodrug of etoposide. Bioorg Med Chem Lett 4:2567-2572; и Rautio J., Kumpulainen H., Heimbach T., Oliyai R., Oh D., Jarvinen T. и Savolainen J. (2008); Prodrugs: design and clinical applications. Nat Rev Drug Discov. 7:255-70). Например, соединение по настоящему изобретению может образовывать фосфатный сложный эфир гидроксильной группы. Более конкретно, соединение по настоящему изобретению может образовывать пролекарство, как показано:

Кроме того, соединение по настоящему изобретению может быть пролекарством другого соединения по настоящему изобретению. Для иллюстрации, соединение примера 36 представляет собой пролекарство соединения примера 37, и соединение примера 37 представляет собой потенциальный метаболит соединения примера 36.

Защищенные производные соединений по настоящему изобретению можно получить способами, известными специалистам в данной области техники. Если одна или несколько других функциональных групп, например карбокси, гидрокси, амино, сульфгидрил или подобные, являются защищенными или их необходимо защитить в исходном веществе, описанном в настоящей заявке, или в любом другом предшественнике, потому что они не должны принимать участие в реакции или мешают реакции, это такие группы, которые обычно используют в синтезе пептидных соединений и также цефалоспоринов и пенициллинов, а также производных нуклеиновой кислоты и сахаров. Защитные группы представляют собой такие группы, которые не присутствуют в конечных соединениях, как только их удаляют, в то время как группы, которые остаются в качестве заместителей, не являются защитными группами в том смысле, который используют в настоящей заявке, они представляют собой группы, которые добавляют на стадии исходного вещества или промежуточного соединения и удаляют с получением конечного соединения. Также в случае преобразований соединений формулы (I) в другое соединение формулы (I) защитные группы могут быть введены и удалены, если это необходимо или полезно. Защитные группы уже могут присутствовать в предшественниках и должны защищать указанные функциональные группы от нежелательных побочных реакций, таких как реакции ацилирования, этерификации, эстерификации, окисления, сольволиза и подобные реакции. Характеристикой защитных групп является то, что они легко поддаются, т.е. без нежелательных побочных реакций, удалению, как правило, при помощи реакции ацетолиза, протонолиза, сольволиза, восстановления, фотолиза или также в результате ферментативной активности, например, в условиях, аналогичных физиологическим условиям, и что они не присутствуют в конечных продуктах. Специалист знает или может легко установить, какие защитные группы являются подходящими в реакциях, указанных выше и ниже.

Защита таких функциональных групп при помощи таких защитных групп, сами защитные группы и реакции их удаления описаны, например, в стандартных справочниках, таких как J.F.W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London and New York 1973, в T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999, в "The Peptides"; Volume 3 (editors: E. Gross and J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981, в "Methoden der organischen Chemie" (Methods of organic chemistry), Houben Weyl, 4th edition, Volume 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, в H.-D. Jakubke and H. Jescheit, "Aminosauren, Peptide, Proteine" (Amino acids, peptides, proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach and Basel 1982, и в Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Chemistry of carbohydrates: monosaccharides and derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974.

Соединения по настоящему изобретению могут быть легко получены или образованы в процессе осуществления способа по настоящему изобретению в виде сольватов (например, гидратов). Гидраты соединений по настоящему изобретению можно получить путем перекристаллизации из смеси вода/органический растворитель с использованием органических растворителей, таких как диоксин, тетрагидрофуран или метанол.

Соединения по настоящему изобретению можно получить в виде их индивидуальных стереоизомеров путем взаимодействия рацемической смеси соединения с оптически активным разделяющим агентом с образованием пары диастереоизомерных соединений, разделения диастереомеров и выделения оптически чистых энантиомеров. В то время как растворение энантиомеров может быть осуществлено с использованием ковалентных диастереомерных производных соединений по настоящему изобретению, предпочтительными являются диссоциирующие комплексы (например, кристаллические диастереомерные соли). Диастереомеры имеют различные физические свойства (например, температуру плавления, температуру кипения, растворимость, реактивность и т.д.) и могут быть легко разделены благодаря этим различиям. Смеси диастереомеров, например, можно разделить на их индивидуальные диастереомеры при помощи фракционной кристаллизации, хроматографии, распределения растворителя и аналогичных процедур. Это разделение может происходить либо на уровне исходного соединения, либо в самом соединении формулы (I). Энантиомеры можно разделить путем образования диастереомерных солей, например путем образования соли с энантиомерно-чистой хиральной кислотой, или при помощи хроматографии, например, при помощи ВЭЖХ, с использованием хроматографических субстратов с хиральными лигандами. Оптически чистый энантиомер затем выделяют, вместе с разделяющим агентом, при помощи любых практических средств, которые не будут приводить к рацемизации. Более подробное описание методов, которые можно использовать для разделения стереоизомеров соединений из их рацемической смеси, можно найти в Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981.

Обобщая вышесказанное, соединения формулы (I) можно получить способом, который включает:

- (а) способы, показанные на схемах реакций I-V; и
- (b) необязательно преобразование соединения по настоящему изобретению в фармацевтически при-

емлемую соль;

- (с) необязательно преобразование формы соли соединения по настоящему изобретению в несолевую форму;
- (d) необязательно преобразование неокисленной формы соединения по настоящему изобретению в фармацевтически приемлемый N-оксид;
- (е) необязательно преобразование N-оксидной формы соединения по настоящему изобретению в его неокисленную форму;
- (f) необязательно выделение отдельного изомера соединения по настоящему изобретению из смеси изомеров;
- (g) необязательно преобразование недериватизированного соединения по настоящему изобретению в фармацевтически приемлемое пролекарственное производное; и
- (h) необязательно преобразование пролекарственного производного соединения по настоящему изобретению в его недериватизированную форму.

Поскольку получение исходных веществ практически не описано, такие соединения являются известными, или их можно получить аналогично способам, известным в данной области техники, или как описано далее в разделе примеры.

Специалисту в данной области техники будет понятно, что приведенные выше преобразования представляют собой только репрезентативные способы получения соединений по настоящему изобретению и что другие хорошо известные способы могут быть использованы аналогичным образом.

Примеры

Следующие примеры иллюстрируют изобретение, не ограничивая его объем. В представленных примерах температуры даны в градусах Цельсия. Если не указано иное, реакции протекают при комнатной температуре. Кроме того, если не указано иное, условия аналитической ВЭЖХ являются следующими

Условие 1: CBЭЖХ-MC, колонка Acquity BEH C18, 1,7 мкм, $2,1\times50$ мм, температура печи 40° С, элюенты: A = вода + 0,1% муравьиной кислоты и B = MeCN + 0,1% муравьиной кислоты, градиент от 20 до 100% B в течение 4,3 мин, скорость потока 0,7 мл/мин, детекция УФ/VIS (DAD), ESI (+/-).

Условие 2: LC-MC, колонка Ascentis® Express C18, 2,7 мкм, $2,1\times30$ мм, 50°C, элюенты: A = вода + 0,05% муравьиной кислоты + 3,75 мМ ацетата аммония и B = MeCN + 0,04% муравьиной кислоты, градиент от 5 до 95% В в течение 3,7 мин, скорость потока от 1,2 мл/мин до 1,4 мл/мин в течение 3,7 мин, детекция УФ/VIS (DAD), ESI (+ /-).

Условие 3: CBЭЖХ-MC, колонка Acquity HSS T3, 1,8 мкм, 2.1×50 мм, температура печи 50° С, элюенты: A = вода + 0,05% муравьиной кислоты + 3,75 мМ ацетата аммония и B = MeCN + 0,04% муравьиной кислоты, градиент от 2 до 98% B в течение 1,40 мин, затем 98% B в течение 0,75 мин, скорость потока 1,2 мл/мин, детекция УФ/VIS (DAD), ESI (+/-).

Условие 4: ВЭЖХ, колонка Chromolith® Performance, RP-18e, 100×4 ,6 мм + предколонка 5×4 ,6 мм при комнатной температуре, элюенты: A = вода + 0,1% муравьиной кислоты и B = MeCN + 0,1% муравьиной кислоты, градиент от 2 до 100% В в течение 8 мин, затем 100% В в течение 2 мин, скорость потока 2,0 мл/мин, детекция $Y\Phi/VIS$ (DAD).

Условие 5: ВЭЖХ, колонка CC125/4 Nucleosil® 100-3 C18HD, 4.0×125 мм, элюенты: A = вода + 0.1% TFA, и B = MeCN + 0.1% TFA, градиент от 2 до 100% B в течение 7 мин, затем 100% B в течение 2 мин и в конце от 100% до 2% B в течение 1 мин, скорость потока 1.0 мл/мин, детекция УФ 215 нм.

Условие 6: условие, аналогичное условию 3, температура печи 60°C вместо 50°C.

Условие 7: ВЭЖХ, колонка Eclipse XDB C18, 5 мкм, $4,6\times150$ мм, температура печи 25°C, элюенты: $A = вода + 0,1\% H_3PO_4$ и B = MeCN, градиент от 10% до 95% B в течение 17 мин, скорость потока 1,0 мл/мин, детекция УФ/VIS (DAD) 210 нм.

Условие 8: LC-MC, колонка Poroshell® 120 SB-C18, 3.0×50 мм, 2.7 мкм, элюенты: A = вода + 0.1% TFA и B = MeCN + 0.1% TFA, градиент от 5% B в течение 0.5 мин, от 5 до 95% B в течение 6.5 мин, 95% B в течение 3 мин, от 95 до 95% B в течение 9.5 мин, 95% В в течение 9.5 мин

Далее, если не указано иное, условия препаративной ВЭЖХ являются следующими.

Условие 9: препаративная ВЭЖХ, колонка: XBridge C18 30×100 мм, 5 мкм; скорость потока 30 мл/мин; подвижная фаза: A = вода + 0.1% муравьиной кислоты; B = MeCN; переменный градиент, от начального % В до конечного % В, и время выполнения, как определено в примерах.

Условие 10: препаративная ВЭЖХ системы Gilson, колонка SunFire™ prep C18 OBD, 5 мкм, 30×100 мм, элюенты: A = вода + 0.1% TFA и B = MeCN, градиент 5% B в течение 2 мин, затем от 5 до 100% B в течение 20 мин и в завершение 100% B в течение 3 мин, скорость потока 30 мл/мин, детекция УФ/VIS.

Препаративную ахиральную SFC осуществляют с использованием следующей системы: Waters SFC THAR100; скорость потока 100 мл/мин; подвижная фаза: A = сверхкритический CO_2 ; B = MeOH; переменный градиент, от начального % B до конечного % B, время выполнения и колонки, как определено в примерах. Детали для колонок:

колонка DEAP: колонка диэтиламино (250×30 мм, 5 мкм, 60 Å), Princeton; колонка Diol: колонка диол (250×30 мм, 5 мкм, 60 Å), Princeton.

Спектры ¹Н-ЯМР записывали на 300 МГц или 400 МГц ЯМР-спектрометре, как указано. Значимые пики представлены в следующем порядке: мультиплетность (с - синглет; д - дублет; т - триплет; кв - квартет; м - мультиплет; уш. С - уширенный синглет) и число протонов.

В следующих примерах используют сокращения, приведенные ниже: водн. (водный); DAD (детектор на диодной матрице); DCM (дихлорметан); DIPEA (диизопропил-этиламин); DMF (N,Nдиметилформамид); **DME** (диметоксиэтан); DMCO (диметилсульфоксид); dppf (дифенилфосфино)ферроцен); экв. (эквиваленты); ESI (ионизация электрораспылением); EtOAc (этилацетат); EtOH (этанол); Et₂O (диэтиловый эфир); ч (час); ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография); НV (высокий вакуум); іРгОН (изопропанол); іРг₂О (диизопропиловый эфир); LC (жидкостная хроматография); M (молярный); MeCN (ацетонитрил); MeOH (метанол): метилтетрагидрофуран); мин (минуты); мл (миллилитры); МР (макропористый); МРLС (жидкостная хроматография среднего давления); МС (масс-спектрометрия); МW (микроволновый нагрев); н-BuLi (нбутиллитий); NMM (N-метилморфолин); NMP (N-метилпирролидинон); NMR (ядерный магнитный резонанс); РL (полистирол); РРh₃ (трифенилфосфин); РТFE (политетрафторэтилен); RM (реакционная смесь); RT (комнатная температура); нас. (насыщенный); с (секунды); SFC (сверхкритическая жидкостная хроматография); Si-Thiol (3-силикагель, модифицированый меркаптопропилом); SPE (твердофазная экстракция); ТВАГ (тетра-н-бутиламмонийфторид); ТВМЕ (метил трет-бутиловый эфир); ТГА (трифторуксусная кислота); ТНF (тетрагидрофуран); t_R (время удерживания); СВЭЖХ (сверхвысокоэффективная жидкостная хроматография) и UV (ультрафиолет).

Пример 1. (R)-4-(3-Гидроксипирролидин-1-ил)-3-(1H-пиразол-5-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)бензамид

(R)-4-(3-Гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)-3-(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-5-ил)бензамид (стадия 1.1, 149 мг, 0,2 ммоль) добавляли в микроволновый сосуд, который плотно закрывали и продували аргоном. Затем добавляли 1 М раствор ТВАГ в ТНГ (2,98 мл, 2,98 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 80°С в течение 3 дней. Реакционную смесь разбавляли при помощи EtOAc (40 мл), промывали насыщенным раствором NaHCO₃ и насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали при помощи препаративной SFC (колонка DEAP, от 25 до 30% в течение 6 мин) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества. СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,98 мин, m/z=433,3 [M+H]⁺, m/z=431,3 [M-H]⁻; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,75 (уш. с, 1H), 1,86 (уш. с, 1H), 2,70-2,79 (м, 1H), 3,03-3,19 (м, 2H), 3,19-3,28 (м, 1H), 4,20 (уш. с, 1H), 4,73-4,92 (м, 1H), 6,34 (д, J=11,00 Гц, 1H), 6,73-6,94 (м, 1H), 7,32 (д, J=8,80 Гц, 2H), 7,65 (д, J=104,42 Гц, 1H), 7,81-7,96 (м, 4H), 10,10 (с,1H), 12,88 (д, J=81,67 Гц, 1H).

Стадия 1.1. (R)-4-(3-Гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)-3-(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-5-ил)бензамид

Суспензию (R)-3-бром-4-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)бензамида (стадия 1.2, 100 мг, 0,225 ммоль), 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1Н-пиразола (146 мг, 0,45 ммоль), Pd(PPh₃) $_2$ Cl $_2$ (17,34 мг, 0,025 ммоль) и Na $_2$ CO $_3$ (119 мг, 1,123 ммоль) в смеси воды (272 мкл), DME (953 мкл) и EtOH (136 мкл) подвергали микроволновому облучению при 125°C в течение 20 мин. Реакционную смесь разбавляли при помощи THF (3 мл), обрабатывали при помощи Si-Thiol (Silicycle, 1,44 ммоль/г, 94 мг, 0,135 ммоль), фильтровали и фильтрат упаривали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep $^{\text{®}}$, 4 г, циклогексан/EtOAc от 40 до 100% EtOAc) с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого масла. СВЭЖХ-МС (условие 1) $_{\text{R}}$ =3,28 мин, m/z=563,2 [M+H] $^{\text{+}}$, m/z=561,2 [M-H] $^{\text{-}}$.

Стадия 1.2. (R)-3-Бром-4-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)бензамид

Смесь 3-бром-4-фтор-N-(4-(трифторметокси)фенил)бензамида (стадия 1.3, 100 мг, 0,264 ммоль), (R)-пирролидин-3-ола (46,1 мг, 0,529 ммоль) и ТЕА (147 мкл, 1,058 ммоль) в DMCO (199 мкл) перемешивали при 90°С в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли при помощи TBME/EtOAc (1:1) (30 мл), промывали 0,5 M раствором HCl (3×5 мл) и насыщенным солевым раствором (5 мл) и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep®, 4 г, циклогексан/EtOAc-EtOH + 0,1% NH₄OH (8:2), от 30 до 80% EtOAc-EtOH + 0,1% NH₄OH (8:2)) с получением указанного в заголовке соединения в виде не совсем белого твердого вещества. CBЭЖХ-МС (условие 1) t_R =2,83 мин, m/z=444,9/446,9 [M+H]⁺, m/z=443,0/445,0 [M-H]-; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,80-1,92 (м, 1H), 1,92-2,04 (м, 1H), 3,24-3,30 (м, 1H), 3,36-3,46 (м, 1H), 3,60-3,72 (м, 1H), 3,81 (дд, J=10,51, 4,65 Гц, 1H), 4,36 (д, J=2,69 Гц, 1H), 4,97 (д, J=3, 42 Гц, 1H), 6,93 (д, J=8,80 Гц, 1H), 7,34 (д, J=8,56 Гц, 2H), 7,80-7,90 (м, 3H), 8,14 (д, J=1,96 Гц, 1H), 10,19 (с, 1H).

Стадия 1.3. 3-Бром-4-фтор-N-(4-(трифторметокси)фенил)бензамид

SOCl₂ (2,92 мл, 40,0 ммоль) и DMF (0,5 мл) добавляли по каплям к суспензии 3-бром-4-фторбензойной кислоты (1,752 г, 8 ммоль) в толуоле (20 мл) и реакционную смесь перемешивали при 80° С в течение 1 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток разбавляли при помощи THF (15 мл). Добавляли DIPEA (2,79 мл, 16,00 ммоль) и смесь охлаждали до 0° С, обрабатывали раствором 4-трифторметоксианилина (1,181 мл, 8,80 ммоль) в THF (5 мл) и перемешивали в течение 1 ч. Реакционную смесь обрабатывали водным 1 М раствором HCl (50 мл) и экстрагировали при помощи TBME. Объединенные экстракты промывали водным 1 М раствором HCl, водным 1 М раствором NaOH и насыщенным солевым раствором, сушили над MgSO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, кристаллизовали из смеси н-гептан/DCM с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества. CBЭЖX-MC (условие 1) t_R =3,18 мин, m/z=377, 9/379, 9 [M+H]⁺, m/z=375,9/377,9 [M-H]⁻; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆), δ млн.д. 7,38 (д, J=8, 6 Гц, 2 H), 7,56 (т, J=8,7 Гц, 1H), 7,87 (д, J=9,0 Гц, 2H), 8,00-8,06 (м, 1H), 8,32 (дд, J=6,6, 2,2 Гц, 1H), 10,50 (с, 1H).

Пример 2. (R)-6-(3-Гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-3-ил)-N-(4-(трифторметок-си)фенил)никотинамид

Смесь DME (570 мкл), воды (163 мкл) и ЕtOH (81 мкл) добавляли к смеси (R)-5-бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 2.2, 60 мг, 0,134 ммоль), (1H-пиразол-3-ил)бороновой кислоты (45,1 мг, 0,403 ммоль), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (9,44 мг, 0,013 ммоль), Na₂CO₃ (42,8 мг, 0,403 ммоль) в микроволновом сосуде. Сосуд плотно закрывали, откачивали воздух/продували 3 раза аргоном и реакционную смесь подвергали микроволновому облучению при 120°C в течение 10 мин. Добавляли дополнительное количество (1H-пиразол-3-ил)бороновой кислоты (45,1 мг, 0,403 ммоль) и реакционную смесь подвергали микроволновому облучению при 120°C в течение 30 мин, разбавляли при помощи ТНF (1 мл) и обрабатывали при помощи Si-Thiol (Silicycle 1,27 ммоль/г, 52,9 мг, 0,067 ммоль), фильтровали и фильтрат упаривали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали при помощи препаративной ВЭЖХ (условие 9, 15% в течение 0,2 мин, затем от 15 до 45% в течение 14 мин) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества.

В качестве альтернативы соединение примера 2 получали путем обработки суспензии 6-((R)-3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)ни-котинамида (стадия 2.1, 68,3 г, 132 ммоль) в DCM (1 л) при помощи TFA (305 мл, 3959 ммоль) при комнатной температуре в течение 5,5 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток растворяли в EtOAc (2 л), промывали насыщенным раствором NaHCO₃ (3×500 мл) и насыщенным солевым раствором (2×500 мл) и сушили над Na₂SO₄. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток суспендировали в DCM (300 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Кристаллическое вещество фильтровали, промывали при помощи DCM (200 мл), сушили при пониженном давлении, растворяли в MeOH (500 мл) и обрабатывали при помощи Si-Thiol (Biotage, 10,0 г, 13 ммоль) в течение 15 ч при 30°C. Смесь фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (силикагель, 2 кг, DCM/MeOH 95:5) и кристаллизовали из MeCN с получением указанного в заголовке соединения в виде белого кристаллического твердого вещества.

Аналитические данные для примера 2: ВЭЖХ (условие 5) t_R =5,37 мин, хиральная ВЭЖХ (CHIRAL-PAK® AD-H, 250×4,6 мм, элюент: EtOH/MeCN (98:2), 0,5 мл/мин, UV 210 нм) t_R =9,62 мин, СВЭЖХ-МС

(условие 1) t_R =1,79 мин, m/z=434,1/435,1 [M+H]+, m/z=432,1/433,1 [M-H]⁻; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) 8 млн.д. 1,65-1,76 (м, 1H), 1,76-1,87 (м, 1H), 2,97 (д, J=11,37 Гц, 1H), 3,19-3,29 (м, 2H), 3,34-3,48 (м, 1H), 4,10-4,23 (м, 1H), 4,89 (уш. c, 1H), 6,40 (c, 1H), 7,33 (д, J=8,70 Гц, 2H), 7,58/7,82 (уш. c, 1H), 7,89 (д, J=8,70 Гц, 2H), 8,06 (c, 1H), 8,77 (c, 1H), 10,21 (c, 1H), 12,88/13,07 (уш. c, 1H).

Стадия 2.1. 6-((R)-3-Гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамид

Пинаколовый сложный эфир 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-бороновой кислоты (59,9 г, 214,4 ммоль), K_3PO_4 (105,7 г, 4 98,1 ммоль) и $Pd(PPh_3)_4$ (9,6 г, 8,30 ммоль) добавляли к суспензии (R)-5-бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 2.2, 74 г, 165,8 ммоль) в толуоле (740 мл) и перемешивали при 110° C в течение 2,5 ч в атмосфере аргона. Смесь затем разбавляли при помощи EtOAc (2 л), промывали водой (2×1 л) и сушили над Na_2SO_4 .

Растворитель выпаривали при пониженном давлении и неочищенный остаток очищали при помощи флэш-хроматографии (силикагель, 2 кг, DCM/MeOH 95:5). Полученное вещество растворяли в смеси MeOH (500 мл) и THF (800 мл) и обрабатывали при помощи Si-Thiol (Biotage, 15 г, 19,5 ммоль) при комнатной температуре в течение 17 ч. Смесь фильтровали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который кристаллизовали из MeOH, с получением указанного в заголовке соединения в виде белого кристаллического твердого вещества. ВЭЖХ (условие 5) t_R =5,99 мин, СВЭЖХ-МС (условие 6) m/z=518,2 [M+H]⁺; 1 H-ЯМР (400 МГг, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,42 (уш. с, 3H), 1,63-1,98 (м, 4H), 2,20-2,37 (м, 1H), 2,71-2,94 (м, 1H), 3,21 (д, J=6,65 Гц, 3H), 3,32-3,51 (м, 1H), 3,69-3,92 (м, 1H), 4,08-4,24 (м, 1H), 4,75-4,88 (м, 1H), 4,89-5,17 (м, 1H), 6,29-6,49 (м, 1H), 7,32 (д, J=8,99 Гц, 2H), 7,59 (с, 1H), 7,78-8,10 (м, 3H), 8,80 (т, J=2,54 Гц, 1H), 10,05-10,28 (м, 1H).

Стадия 2.2. (R)-5-Бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамид

(R)-Пирролидин-3-ол (17,1 мл, 211,2 ммоль) и DIPEA (67,6 мл, 387,6 ммоль) добавляли к суспензии 5-бром-6-хлор-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 2.3, 69,6 г, 175,9 ммоль) в iPrOH (120 мл) и перемешивали при 140° С в течение 1 ч. Смесь разбавляли при помощи EtOAc (1 л), промывали при помощи 1 N HCl (2×200 мл), насыщенным раствором NaHCO₃ (200 мл) и насыщенным солевым раствором (2×200 мл) и сушили над Na₂SO₄. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и продукт кристаллизовали из смеси EtOAc/iPr₂O с получением указанного в заголовке соединения в виде белого кристаллического твердого вещества. ВЭЖХ (условие 5) t_R =6,58 мин, СВЭЖХ-МС (условие 6) m/z=446, 0/448, 0 [M+H]⁺; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,78-2,01 (м, 2 H), 3,55 (д, J=11,34 Гц, 1H), 3,64-3,76 (м, 1H), 3,79-3,91 (м, 2H), 4,33 (уш. с, 1H), 4,97 (д, J=3, 13 Гц, 1H), 7,33 (д, J=9,38 Гц, 2H), 7,83 (д, J=8,99 Гц, 2H), 8,30-8,36 (м, 1H), 8,66 (д, J=2,35 Гц, 1H), 10,20 (с, 1H).

Стадия 2.3. 5-Бром-6-хлор-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамид

Перемешиваемый раствор 5-бром-6-хлорникотиновой кислоты (375 г, 1,586 моль) и DMF (37 мл) в толуоле (3,1 л) обрабатывали по каплям при помощи $SOCl_2$ (347 мл, 4,758 моль) при комнатной температуре и затем перемешивали при 85° С в течение 2,5 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток растворяли в THF (3,1 л), охлаждали до -25°С, обрабатывали сначала при помощи DIPEA (543 мл, 3,172 моль) и затем добавлением по каплям раствора 4-(трифторметокси)анилина (295 г, 1,665 моль) в THF (3,1 л). Через 30 мин при 10° С растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток растворяли в TBME (4 л), промывали при помощи 1 N HCl (2×1 л), насыщенным раствором NaHCO₃ (1 л) и насыщенным солевым раствором (2×200 мл) и сушили над Na_2SO_4 . Растворитель выпаривали при пониженном давлении и продукт кристаллизовали из смеси EtOAc/H-гептан с получением указанного в заголовке соединения в виде бежевого кристаллического твердого вещества. CBЭЖX-MC (условие 3) t_R =1,25 мин, m/z=393/395/397 [M-H]⁻; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 7,40 (д, J=8,60 Гц, 2H), 7,86 (д, J=8,60 Гц, 2H), 8,73 (д, J=2,20 Гц, 1H), 8,92 (д, J=2,20 Гц, 1H), 10,69 (с, 1H).

Пример 3. (R)-6-(3-Гидроксипирролидин-1-ил)-5-(3-метил-1H-пиразол-5-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамид

(R,E)-6-(3-Гидроксипирролидин-1-ил)-5-(3-оксобут-1-ен-1-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамид (стадия 3.1, 50 мг, 0,091 ммоль) и гидразид толуол-4-сульфоновой кислоты (34,5 мг, 0,181 ммоль) и ЕtOH (302 мкл) добавляли в микроволновый сосуд, который плотно закрывали и перемешивали при 80° С в течение 1,5 ч. Смесь охлаждали до комнатной температуры, добавляли NaOMe (17,15 мг, 0,318 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 80° С в течение 48 ч. Реакционную смесь подкисляли водным раствором муравьиной кислоты, фильтровали через 0,2 мкм PTFE мембранный фильтр и очищали при помощи препаративной ВЭЖХ (условие 9, от 20 до 50% в тчение 18 мин) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества. СВЭЖХ-МС (условие 1) t_R =2,08 мин, m/z=44 8,0 [M+H]⁺, m/z=446,0 [M-H]⁻; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,68-1,79 (м, 1H), 1,78-1,90 (м, 1H), 2,29 (уш. c, 3H), 2,98 (д, J=11,74 Гц, 1H), 3,25-3,37 (м, 2 H), 3,40-3,53 (м, 1H), 4,21 (уш. c, 1H), 4,83 (уш. c, 1H), 6,13 (c, 1H), 7,33 (д, J=8,31 Гц, 2H), 7,86 (д, 2H), 8,01 (уш. c, 1H), 8,71 (уш. c, 1H), 10,15 (c, 1H), 12,57 (уш. c, 1H).

Стадия 3.1. (R,E)-6- $(3-\Gamma$ идроксипирролидин-1-ил)-5-(3-оксобут-1-ен-1-ил)-N-(4-(трифторметок-си)фенил)никотинамид

(R)-5-Бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамид (стадия 2.2, 250 мг, 0,560 ммоль), Pd(OAc)₂ (3,77 мг, 0,017 ммоль), три-о-толилфосфин (20,46 мг, 0,067 ммоль), бут-3ен-2-он (55,1 мкл, 0,672 ммоль) и ТЕА (102 мкл, 0,728 ммоль) добавляли в микроволновый сосуд, который плотно закрывали и продували аргоном. Добавляли DMF (1,87 мл) и реакционную смесь перемешивали при 130°С в течение 6 ч. Затем добавляли дополнительное количество бут-3-ен-2-она (22.96 мкл. 0,280 ммоль) и смесь перемешивали при 130°C в течение 16 ч. Реакционную смесь выливали в воду (25 мл) и экстрагировали при помощи DCM (3×20 мл). Объединенные экстракты сушили над MgSO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep®, 12 г, циклогексан/EtOAc- $EtOH + 0.1\% NH_4OH (9:1)$ от 40 до 75% $EtOAc-EtOH + 0.1\% NH_4OH (9:1)$). Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который подвергали азеотропной перегонке с ксилолом и растирали в порошок с циклогексаном, с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества. СВЭЖХ-МС (условие 1) t_R =2,39 мин, m/z=436,0 [M+H]⁺, m/z=434,0 [M-H]⁻; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,82-1,91 (м, 1Н), 1,91-2,00 (м, 1Н), 2,35 (с, 3Н), 3,43 (д, Ј=11,25 Гц, 1Н), 3,59-3,67 (м, 1Н), 3,78-3,88 (м, 2Н), 4,34 (уш. с, 1Н), 4,99 (д, Ј=3,18 Гц, 1Н), 6,61 (д, Ј=15,89 Гц, 1Н), 7,36 (д, Ј=8,31 Гц, 2Н), 7,81-7,93 (м, Ј=16,14, 9,29 Γ ц, 3H), 8,29 (д, J=2,20 Γ ц, 1H), 8,71 (д, J=2,45 Γ ц, 1H), 10,21 (с, 1H).

Пример 4. (R)-6-(3-Гидроксипирролидин-1-ил)-5-(4-метил-1H-пиразол-5-ил)-N-(4-(трифторметок-си)фенил)никотинамид

DIPEA (43,9 мкл, 0,252 ммоль) добавляли в раствор 6-хлор-5-(4-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 4.1, 55 мг, 0,114 ммоль) и (R)-пирролидин-3-ола (11,96 мг, 0,137 ммоль) в iPrOH (114 мкл) в сосуде, который плотно закрывали, и нагревали при 140°С в течение 18 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь растворяли в EtOAc, промывали насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении и неочищенный продукт очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep®, EtOAc/MeOH 98:2) с получением 6-((R)-3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(4-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамида в виде не совсем белой пены. Это промежуточное соединение (39 мг, 0,073 ммоль) растворяли в DCM (0,8 мл), обрабатывали при помощи TFA (0,262 мл, 3,4 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь выливали в 25 мл Na₂CO₃ 10% и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении, и неочищенный продукт очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep®, DCM/MeOH от 2 до 10% MeOH) с получением указанного в заголовке соединения в виде не совсем белого порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R=4,46 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3)

 t_R =0,92 мин, m/z=448,4 [M+H]⁺; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,64-1,81 (м, 2H), 1,86 (с, 3H), 2,78-2,97 (м, 1H), 3,07-3,41 (м, 3H), 4,18 (уш. с, 1H), 4,81 (уш. с, 1H), 7,32 (д, J=8,60 Гц, 2H), 7,58 (уш. с, 1H), 7,85 (д, J=9,38 Гц, 2H), 7,93 (уш. с, 1H), 8,73 (уш. с, 1H), 10,14 (с, 1H), 12,63 (уш. с, 1H).

Стадия 4.1. 6-Хлор-5-(4-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамид

K₃PO₄ (127)МΓ, 0,6 ммоль) добавляли В раствор 6-хлор-5-йод-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 4.2, 89 мг, 0,2 ммоль) и 4-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразола (58,4 мг, 0,2 ммоль) в диоксане (1 мл) в сосуде, который продували аргоном, нагревали до 110°C и затем добавляли PdCl₂(dppf) (7,32 мг, 0,01 ммоль). Сосуд плотно закрывали и реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона при 110°C в течение 18 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, растворяли в ЕtOAc и промывали насыщенным солевым раствором. Органическую фазу сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep[®], н-гептан/EtOAc от 50 до 100% EtOAc) с получением указанного в заголовке соединения в виде белой пены. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,24 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,22 мин, m/z=481,2 $[M+H]^+$.

Стадия 4.2. 6-Хлор-5-йод-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамид

DMF (0,13 мл) и SOCl₂ (0,734 мл, 10,05 ммоль) добавляли к смеси 6-хлор-5-йодникотиновой кислоты (1,00 г, 3,35 ммоль) и 4-(трифторметокси)анилина (0,623 мг, 3,52 ммоль) в толуоле (7 мл) и реакционную смесь перемешивали при 80° С в течение 1 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и в атмосфере аргона остаток растворяли в THF (7,00 мл) и DIPEA (1,17 мл, 6,7 ммоль), охлаждали до - 15° С, обрабатывали по каплям раствором 4-(трифторметокси)анилина (0,476 мл, 3,52 ммоль) в THF (7,00 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток обрабатывали водным 1 N раствором HCl (30 мл) и экстрагировали при помощи ТВМЕ (100 мл). Объединенные экстракты промывали насыщенным водным раствором Na_2CO_3 (30 мл) и насыщенным солевым раствором (30 мл), сушили над Na_2SO_4 и растворитель выпаривали при пониженном давлении, пока не начиналась кристаллизация. Продукт растирали в порошок с н-гептаном, фильтровали и сушили с получением указанного в заголовке соединения в виде не совсем белого твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,36 мин, CBЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,23 мин, m/z=441,1 [M-H]⁻.

Пример 5. (R)-5-(4-Фтор-1H-пиразол-5-ил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(трифторметок-си)фенил)никотинамид

DIPEA (71,9 мкл, 0,412 ммоль) добавляли в раствор 6-хлор-5-(4-фтор-1H-пиразол-5-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 5.1, 75 мг, 0,187 ммоль) и (R)-пирролидин-3-ола (19,97 мг, 0,225 ммоль) в iPrOH (187 мкл) в сосуде, который плотно закрывали и нагревали при 140°С в течение 1 ч. После охлаждения при комнатной температуре реакционную смесь растворяли в EtOAc и промывали насыщенным солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep®, DCM/MeOH от 2 до 10% MeOH) с получением указанного в заголовке соединения в виде белой пены. ВЭЖХ (условие 4) t_R =4,73 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,93 мин, m/z=452,4 $[M+H]^+$; 1H -HMP (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,64-1,95 (м, 2 H), 3,00 (д, J=11,34 Гц, 1H), 3,18-3,51 (м, 3H), 4,22 (уш. с, 1H), 4,86 (уш. с, 1H), 7,32 (д, J=8,60 Гц, 2H), 7,77-8,11 (м, 4H), 8,76 (уш. с, 1H), 10,17 (с, 1H), 12,90 (уш. с., 1H).

Стадия 5.1. 6-Хлор-5-(4-фтор-1Н-пиразол-5-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамид

 $Pd(Ph_3P)_4$ (17,33 мг, 0,015 ммоль) добавляли в раствор 6-хлор-5-йод-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 4.2, 133 мг, 0,3 ммоль) и 4-фтор-5-(трибутилстаннил)-1H-

пиразола (101 мг, 0,270 ммоль) в DMCO (1 мл) в сосуде в атмосфере аргона. Сосуд плотно закрывали и реакционную смесь нагревали при 100° С в течение 18 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь растворяли в EtOAc, промывали насыщенным солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем $RediSep^{\otimes}$, н-гептан/EtOAc от 10% до 50% EtOAc) с получением указанного в заголовке соединения в виде не совсем белого порошка. BЭЖX (условие 4) t_R =5,5 мин, CBЭЖX-MC (условие 3) t_R =1,05 мин, m/z=399,2 $[M-H]^{-}$.

Пример 6. (R)-6-(3-Гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)-N-(4-(трифторметок-си)фенил)никотинамид

Смесь (R)-5-бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 2.2, 60 мг, 0,134 ммоль), 1-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразола (42 мг, 0,202 ммоль), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (9,44 мг, 0,013 ммоль), Na₂CO₃ (42,8 мг, 0,403 ммоль), DME (570 мкл), воды (163 мкл) и EtOH (81 мкл) в микроволновом сосуде плотно закрывали, откачивали воздух/продували аргоном и подвергали микроволновому облучению при 120° C в течение 10 мин. Реакционную смесь разбавляли при помощи THF (1 мл), обрабатывали при помощи Si-Thiol (Silicycle, 1,44 ммоль/г, 46,7 мг, 0,067 ммоль), фильтровали и фильтрат упаривали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали при помощи препаративной ВЭЖХ (условие 9, 25% в течение 0,2 мин затем от 15 до 45% в течение 14 мин) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества. LC-MC (условие 2) t_R =1,61 мин, m/z=448,2/449,2 [M+H]⁺, m/z=446,1 [M-H]⁻; ¹H-HMP (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,71-1,80 (м, 1H), 1,81-1,91 (м, 1H), 2,98 (д, J=11,25 Гц, 1H), 3,25-3,39 (м, 2H), 3,44-3,53 (м, 1H), 3,89 (с, 3H), 4,22 (с, 1H), 4,84 (с, 1H), 7,34 (д, J=8,56 Гц, 2H), 7,53 (с, 1H), 7,84 (д, J=5,38 Гц, 2 H), 7,86-7,88 (м, 1H), 7,94 (д, J=2,45 Гц, 1H), 8,67 (д, J=2,45 Гц, 1H), 10,14 (с, 1H).

Пример 7. (S)-6-(3-(Гидроксиметил)пирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)-N-(4-(трифторметок-си)фенил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали способом, аналогичным описанному в примере 2, с использованием (S)-5-бром-6-(3-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 7.1) и (1H-пиразол-3-ил)бороновой кислоты с получением твердого вещества белого цвета. СВЭЖХ-МС (условие 1) t_R =1,89 мин, m/z=448,0 [M+H]⁺, m/z=446,1 [M-H]⁻; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,48-1,64 (м, 1H), 1,77-1,90 (м, 1H), 2,15-2,28 (м, 1H), 3,03 (дд, J=11,25, 6,85 Гц, 1H), 3,22 (уш. с, 2H), 3,25-3,31 (м, 2H), 3,34-3,39 (м, 1H), 4,62 (уш. с, 1H), 6,39 (уш. с, 1H), 7,34 (д, J=8,56 Гц, 2H), 7,51-7,84 (м, 1H), 7,83-7,90 (м, 2H), 8,03 (с, 1H), 8,68-8,79 (м, 1H), 10,19 (с, 1H), 12,87-13,12 (м, 1H).

Стадия 7.1. (S)-5-Бром-6-(3-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамид

Смесь 5-бром-6-хлор-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 2.3, 500 мг, 1,264 ммоль), (S)-бета-пролинолгидрохлорида (226 мг, 1,643 ммоль), DIPEA (662 мкл, 3,79 ммоль) и iPrOH (1,945 мл) в плотно закрытом сосуде подвергали микроволновому облучению при 140°C в течение 60 мин. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток обрабатывали водным 0,5 M раствором HCl (20 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты промывали 0,5 M раствором HCl (10 мл) и водой, сушили над MgSO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением продукта, который растирали в порошок с циклогексаном, фильтровали и сушили с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества. СВЭЖХ-МС (условие 1) t_R =2,76 мин, m/z=460,0/462,0 [M+H]⁺, m/z=458,0/460,0 [M-H]⁻; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,59-1,76 (м, 1H), 1,92-2,04 (м, 1H), 2,26-2,44 (м, 1H), 3,37-3,50 (м, 2H), 3,56 (дд, J=11,00, 7,34 Гц, 1H), 3,67-3,85 (м, 3H), 4,71 (уш. c, 1H), 7,35 (д, J=8,56 Гц, 2 H), 7,85 (д, 1H), 8,34 (д, J=1,96 Гц, 1H), 8,68 (д, J=1,96 Гц, 1H), 10,21 (с, 1H).

Пример 8. (S)-N-(4-(Хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид

 K_3PO_4 (41,3 мг, 0,195 ммоль) добавляли в раствор (S)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамида (стадия 8.1, 30 мг, 0,067 ммоль) и 1-(тетрагидро-2H-пиран-2ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразола (36,2 мг, 0,13 ммоль) в толуоле (0,32 мл) в сосуде, который продували аргоном. Добавляли Pd(PPh₃)₄ (3,75 мг, 0,032 ммоль). Сосуд плотно закрывали и нагревали при 110°C в течение 18 ч. После охлаждения при комнатной температуре реакционную смесь растворяли в EtOAc, промывали насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep®, DCM/MeOH от 2 до 5% получением N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-((S)-3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1c (тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамида, часть которого (21 мг, 0,039 ммоль) растворяли в DCM (0,5 мл), обрабатывали при помощи ТFA (0,141 мл, 1,82 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь выливали в 10% водный раствор Na₂CO₃ (10 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты сушили над №3CO4 и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep®, DCM/MeOH от 2 до 5% MeOH) с получением указанного в заголовке соединения. ВЭЖХ (условие 4) t_R=4,49 мин, хиральная ВЭЖХ (СНІRALCEL® ОD-H, 250×4.6 мм, элюент: н-гептан/EtOH/MeOH (85:10:5), 1 мл/мин, UV DAD, t_R=13.32 мин, CBЭЖХ-MC (условие 3) t_R =0,92 мин, m/z=450,3 $[M+H]^+$; 1H -ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,65-1,7 6 (м, 1H), 1,77-1,92 (M, 1H), 2,86-2,97 (M, 1H), 3,18-3,35 (M, 2H), 3,34-3,47 (M, 1H), 4,10-4,24 (M, 1H), 4,66-4,93 (M, 1Н), 6,28-6,42 (м, 1Н), 7,31 (д, Ј=8,99 Гц, 2Н), 7,85 (д, Ј=8,99 Гц, 3Н), 7,96-8,05 (м, 1Н), 8,64-8,81 (м, 1Н), 10,17 (c, 1H), 12, 80-13, 14 (м, 1H).

Стадия 8.1. (S)-5-Бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамид

раствор **DIPEA** (190)1.1 добавляли 5-бром-6-хлор-N-(4мкл, ммоль) В (хлордифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 9.3, 206 мг, 0,5 ммоль) и (S)-пирролидин-3-ола (52,3 мг, 0,6 ммоль) в iPrOH (500 мкл) в сосуде, который плотно закрывали и нагревали при 140°C в течение 1 ч. После охлаждения при комнатной температуре реакционную смесь растворяли в EtOAc, промывали 0,5 М водным раствором HCl и насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep®, н-гептан/EtOAc от 20 до 100% EtOAc) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого кристаллического порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =5,59 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,17 мин, m/z=462,0/464,1 $[M+H]^+$.

Пример 9. (R)-N-(4-(Хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид

Смесь (R)-5-Бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамида (стадия 9.2, 100 мг, 0,216 ммоль) и 5-(4, 4, 5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1Н-пиразола (215 мг, 0,663 ммоль), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (17 мг, 0,024 ммоль), Na₂CO₃ (115 мг, 1,081 ммоль), DME (917 мкл), воды (262 мкл) и EtOH (131 мкл) в микроволновом сосуде плотно закрывали, откачивали воздух/продували 3 раза аргоном и подвергали микроволновому облучению при 125°C в течение 20 мин. Реакционную смесь разбавляли при помощи 2 мл DME, перемешивали с Si-Thiol (Silicycle 1,44 ммоль/г, 90 мг, 0,130 ммоль) в течение 3 ч. Смесь центрифугировали и супернатант фильтровали через 0,45 мкм РТFЕ фильтр, и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep®, 12 г, циклогексан/EtOAc от 40 до 100% EtOAc) с получением защищенного промежуточного соединения в виде бесцветного масла. Затем добавляли этилендиамин (96 мкл, 1,428 ммоль) и ТВАF 1 М в ТНF (1,428 мл, 1,428 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 80-85°C в течение 5 дней. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток растворяли в EtOAc (40 мл), промывали 3 раза насыщенным водным раствором NaHCO₃ и насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и растворитель вы

паривали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали при помощи препаративной SFC (колонка DEAP, от 25 до 30% в течение 6 мин) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества.

В качестве альтернативы соединение примера 9 получали путем добавления ТFA (168 мл, 2182 ммоль) к раствору N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-((R)-3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамида (стадия 9.1, 31,3 г, 54,6 ммоль) в DCM (600 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2,5 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток растворяли в EtOAc (1,5 л), промывали насыщенным раствором NaHCO₃ (3×500 мл) и насыщенным солевым раствором (500 мл), сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который суспендировали в DCM (300 мл), перемещивали при комнатной температуре в течение 15 мин, фильтровали, промывали при помощи DCM (200 мл), сушили и очищали при помощи хроматографии (силикагель, 1 кг, DCM/MeOH 95:5). Остаток растворяли в MeOH (500 мл) и обрабатывали при помощи Si-Thiol (Biotage, 5,0 г, 6,5 ммоль) в течение 16 ч при 25°C. Смолу отфильтровывали, растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток кристаллизовали из MeCN с получением указанного в заголовке соединения в виде белого кристаллического твердого вещества.

В качестве альтернативы, соединение примера 9 получали путем добавления по каплям водного раствора HCl (7,7 мл 6 М) к раствору N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-((R)-3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамида (стадия 9.1, 3,8 г, 7,12 ммоль) в МеОН (20 мл) и ТНГ (10 мл) при охлаждении (ниже 35°С). Смесь перемешивали при 22°С в течение 2 ч и затем добавляли к охлажденному (10°С) 1,2 М раствору NаОН (22 мл). Во время добавления температуру поддерживали ниже 30°С и рН поддерживали в пределах 9-10. Реакционную смесь затем перемешивали в течение 30 мин при 30°С. Растворитель выпаривали при пониженном давлении, пока желаемое соединение не осаждалось. Осадок фильтровали и сушили с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества.

Аналитические данные для примера 9: ВЭЖХ (условие 5) t_R =5,54 мин, хиральная ВЭЖХ (СНІКАL-CEL® OD-H, 250×4,6 мм, элюент: н-гептан/EtOH/MeOH (85:10:5), 1 мл/мин, UV 210 нм) t_R =10,17 мин, CВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,93 мин, m/z=450,3 [M+H] $^+$, m/z=494,1 [M+муравьиная кислота-H] $^-$; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,65-1,76 (м, 1H), 1,76-1,87 (м, 1H), 2,93 (д, J=11,73 Гц, 1H), 3,19-3,29 (м, 2H), 3,35-3,51 (м, 1H), 4,10-4,25 (м, 1H), 4,89 (уш. c, 1H), 6,41 (уш. c, 1H), 7,33 (д, J=8,50 Гц, 2H), 7,57/7,83 (уш. c, 1H), 7,90 (д, J=8,50 Гц, 2H), 8,07 (уш. c, 1H), 8,77 (уш. c, 1H), 10,23 (c, 1H), 12,97/13,15 (уш. c, 1H).

Стадия 9.1. N- $(4-(X_{лордифторметокси})$ фенил)-6-((R)-3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамид

1-(Тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол (29,6 г, $102\,$ ммоль), K_3PO_4 (51,6 г, $236\,$ ммоль) и $Pd(PPh_3)_4$ (4,55 г, $3,93\,$ ммоль) добавляли к суспензии (R)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамида (стадия $9.2, 36,4\,$ г, $79\,$ ммоль) в толуоле ($360\,$ мл) в атмосфере аргона и смесь перемешивали при 110° С в течение $4\,$ ч. Реакционную смесь выливали в насыщенный солевой раствор ($500\,$ мл) и экстрагировали при помощи EtOAc ($2\times1\,$ л). Объединенные экстракты промывали насыщенным солевым раствором ($500\,$ мл), сушили над $Na_2SO_4\,$ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали при помощи хроматографии (колонка с силикагелем, $1,5\,$ кг, DCM/MeOH 95:5) с получением темно-желтой пены, которую растворяли в MeOH/DCM ($1\,$ л смеси 3:1) и обрабатывали при помощи Si-Thiol (Biotage, $35\,$ г, $45,5\,$ ммоль) в течение $17\,$ ч при 30° С. Смолу отфильтровывали и растворитель выпаривали при помиженном давлении, пока желаемое соединение кристаллизовалось. Продукт фильтровали, промывали при помощи MeOH и сушили с получением указанного в заголовке соединения.

В качестве альтернативы, соединение стадии 9.1 получали путем добавления 4- (хлордифторметокси)анилина (16,6 г, 84,9 ммоль), NMM (21,7 г, 212,1 ммоль), гидроксибензотриазолгидрата (НОВt·H₂O, 11,9 г, 77,77 ммоль) и 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимидгидрохлорида (ЕDCI·HCl, 20,9 г, 109,0 ммоль) к раствору 6-((R)-3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)никотиновой кислоты (стадия 9.4, 29,83 г, 70,7 ммоль) в ТНГ (271 мл). Смесь перемешивали в течение 1,5 ч при 25°C и затем при 65°C в течение 16 ч. После охлаждения реакционной смеси до 35°C добавляли EDCI·HCl (13,3 г, 69,4 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 1,5 ч при 35°C, затем снова при 65°C в течение 16 ч. После охлаждения реакционной смеси до 35°C добавляли воду (150 мл), ТНГ удаляли при пониженном давлении, добавляли EtOAc (180 мл) и смесь перемешивали при 35°C в тчение 1 ч. Два слоя разделяли и водную фазу затем экстрагировали при помощи EtOAc (60 мл). Объединенные органические слои промывали водой (90 мл), насыщенным соле-

вым раствором (90 мл). Растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением коричневого твердого вещества, которое очищали при помощи колоночной хроматографии (силикагель, DCM/MeOH от 40:1 до 20:1) с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества.

Аналитические данные для стадии 9.1. ВЭЖХ (условие 5) t_R =6,12 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,06 мин, m/z=533,2 [M+H]⁺; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) 8 млн.д. 1,36-2,02 (м, 7 H), 2,23-2,38 (м, 1H), 3,08-3,29 (м, 2H), 3,32-3,52 (м, 2H), 3,73-3,93 (м, 1H), 4,13-4,25 (м, 1H), 4,80-4,90 (м, 1H), 4,95-5,17 (м, 1H), 6,33-6,50 (м, 1H), 7,33 (д, Ј=8,99 Гц, 2H), 7,61 (д, Ј=1,56 Гц, 1H), 7,86 (д, Ј=8,99 Гц, 2H), 7,97-8,11 (м, 1H), 8,82 (с, 1H), 10,13-10,25 (м, 1H).

Стадия 9.2. (R)-5-Бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамид

(R)-Пирролидин-3-ол (9,55 г, 109,6 ммоль) и DIPEA (35,1 мл, 201,3 ммоль) добавляли к суспензии 5-бром-6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 9.3, 37,7 г, 91,5 ммоль) в iPrOH (65 мл) и перемешивали при 140°C в течение 1 ч. Добавляли EtOAc (700 мл) и раствор промывали 1 N раствором HCl (2×200 мл), насыщенным раствором NaHCO₃ (200 мл) и насыщенным солевым раствором (2×200 мл), сушили над Na₂SO₄ и раствор концентрировали при пониженном давлении, пока не начиналась кристаллизация. Добавляли н-гептан (1 л) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, фильтровали и промывали при помощи iPr₂O (500 мл) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого кристаллического твердого вещества. ВЭЖХ (условие 5) t_R =6,68 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,10 мин, m/z=462,2/464,2 [M+H]⁺; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,78-2,01 (м, 2H), 3,55 (д, J=11,34 Гц, 1H), 3,66-3,75 (м, 1H), 3,79-3,93 (м, 2 H), 4,34 (уш. с, 1H), 4,98 (д, J=3,13 Гц, 1H), 7,32 (д, J=8,99 Гц, 2H), 7,84 (д, J=8,99 Гц, 2 H), 8,33 (д, J=1,96 Гц, 1H), 8,66 (д, J=1,96 Гц, 1H), 10,21 (с, 1H).

Стадия 9.3. 5-Бром-6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)никотинамид

DMF (2,55 мл, 33,0 ммоль) и SOCl₂ (24,08 мл, 330 ммоль) добавляли к суспензии 5-бром-6-хлорникотиновой кислоты (26 г, 110 ммоль) в толуоле (220 мл) и реакционную смесь перемешивали при 80° С в течение 1 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток растворяли в THF (220 мл) и охлаждали до -16°С. Добавляли DIPEA (38,4 мл, 220 ммоль) с последующим добавлением по каплям раствора 4-(хлордифторметокси) анилина (22,35 г, 115 ммоль) в THF (220 мл) в течение 15 мин. Суспензию перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток растворяли в TBME (700 мл), промывали 1 N раствором HCl (2×200 мл), насыщенным раствором NaHCO₃ (200 мл) и насыщенным солевым раствором (2×200 мл), сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением продукта, который кристаллизовали из EtOAc-н-гептан с получением указанного в заголовке соединения в виде белого кристаллического твердого вещества. ВЭЖХ (условие 5) t_R =7,77 мин, CBЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,24 мин, m/z=409,1/411,1/413,1 [M+H]⁺; 1 H-HMP (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 7,38 (д, J=8,99 Гц, 2H), 7,85 (д, J=8,99 Гц, 2 H), 8,72 (уш. с, 1H), 8,92 (уш. с, 1H), 10,68 (с, 1H).

Стадия 9.4. 6-((R)-3-Гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)никотиновая кислота

Водный раствор NaOH (180 мл 2,6 M) добавляли в раствор метил 6-((R)-3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)никотината (стадия 9.5, 111 г, 299 ммоль) в МеОН (270 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 14 ч. МеОН упаривали при пониженном давлении и водный остаток обрабатывали насыщенным солевым раствором (90 мл), экстрагировали при помощи МеТНГ дважды (540 мл + 360 мл) и объединенные органические слои промывали водой (90 мл). Добавляли МеТНГ к объединенным водным слоям, двухфазную смесь охлаждали до 0°С и подкисляли (рН 4-4,5) водным раствором НСІ (18%), и экстрагировали при помощи МеТНГ. Объединенные органические экстракты промывали насыщенным солевым раствором и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который перекристаллизовывали из смеси EtOAc/ТВМЕ (1:1) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого веще-

ства. ВЭЖХ (условие 7) t_R =4,74 мин, LC-MC (условие δ мл 8) t_R =3,37 мин, m/z=359,0 [M+H]⁺; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,44 (уш. c, 2H), 1,51 (д, J=11,54 Гц, 2 H), 1,64-1,86 (м, 4H), 1,90 (уш. c, 1H), 2,31 (д, J=9,29 Гц, 1H), 2,77 (уш. c, 1H), 3,10 (уш. c, 1H), 3,21 (д, J=8,78 Гц, 2H), 3,27-3,51 (м, 4H), 3,87 (д, J=11,54 Гц, 1H), 4,16 (уш. c, 1H), 4,75-4,93 (м, 1H), 5,04 (уш. c, 1H), 6,35 (д, J=17,32 Гц, 1H), 7,51-7,64 (м, 1H), 7,64-7,82 (м, 1H), 8,67 (д, J=2,26 Гц, 1H), 12,58 (уш. c, 1H).

Стадия 9.5. Метил 6-((R)-3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)никотинат

Смесь (R)-метил 5-бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотината (стадия 9.6, 90 г, 299 ммоль), пинаколинового эфира 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-бороновой кислоты (103,9 г, 373,6 ммоль), K_3PO_4 (126,9 г, 597,7 ммоль), $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (6,29 г, 8,97 ммоль) в толуоле (900 мл) перемешивали при 92°С и в течение 16 ч. После охлаждения смеси до комнатной температуры раствор промывали водой (450 мл), 5% раствором $NaHCO_3$ (4 30 мл) и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который использовали без дальнейшей очистки на следующей стадии. ВЭЖХ (условие 7) t_R =6,929 мин, LC-MC (условие 8) t_R =4,30 мин, m/z=373,0 $[M+H]^+$; 1H -ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) 3 млн.д. 1,19-1,28 (м, 1H), 1,35-1,63 (м, 4H), 1,63-1,86 (м, 3H), 1,89 (уш. c, 1H), 2,12-2,39 (м, 1H), 3,11 (уш. c, 1H), 3,18-3,48 (м, 4H), 3,78 (с, 4 H), 3,88 (д, 3 =11,54 3 =1,25 3 =1,11, 7,78 (уш. c, 1H), 4,86 (дд, 3 =18,20, 2,89 3 =1,11,502 (д, 3 =8,28 3 =1,11,639 (уш. c, 1H), 7,58 (д, 3 =1,25 3 =1,11, 7,78 (уш. c, 1H), 8,69 (т, 3 =2,01 3 =1,11,11.

Стадия 9.6. (R)-Метил 5-бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинат

DIPEA (105,3 г, 142,2 мл, 814,4 ммоль) добавляли в раствор метил-5-бром-6-хлорникотината (85 г, 339,5 ммоль) и (R)-пирролидин-3-ола (54,2 г, 441,2 ммоль) в изопропилацетате и реакционную смесь перемешивали при 70°С в течение 14 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который растворяли в толуоле (850 мл), промывали водой (127 мл) и насыщенным солевым раствором (127 мл) и концентрировали при пониженном давлении пока не начиналось осаждение. В перемешиваемую смесь, которую затем охлаждали до 0°С, медленно добавляли н-гептан (340 мл) при 22°С и продукт фильтровали, промывали смесью толуол/н-гептан (1:1,5) и сушили с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого твердого вещества. ВЭЖХ (условие 7) t_R =8,54 мин, LC-MC (условие 8) t_R =4,62 мин, m/z=300, 9/302, 9 [M+H]⁺; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,77-1,99 (м, 2H), 3,57 (д, J=11,54 Гц, 1H), 3,72 (ддд, J=11,11, 7,97, 3,26 Гц, 1H), 3,78 (с, 3H), 3,81-3,90 (м, 2H), 4,26-4,39 (м, 1H), 4,99 (уш. с, 1H), 8,11 (д, J=2,01 Гц, 1H), 8,56 (д, J=1,76 Гц, 1H).

Пример 10. (S)-N-(4-(Хлордифторметокси)фенил)-6-(3-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)-5-(1Н-пиразол-5-ил)никотинамид

(S)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)никотинамида (стадия 10.1, 119 мг, 0,25 ммоль), 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола (139 мг, 0,5 ммоль), Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,018 г, 0,025 ммоль), Na₂CO₃ (0,106 г, 1,000 ммоль), DME (1,061 мл), воды (0,303 мл) и EtOH (0,152 мл) добавляли в микроволновый сосуд, который плотно закрывали, откачивали воздух/продували 3 раза аргоном, затем подвергали микроволновому облучению при 125°C в течение 20 мин. Реакционную смесь разбавляли при помощи DME (2 мл) и перемешивали в течение ночи с Si-Thiol (Silicycle 1,43 ммоль/г, 0,105 г, 0,150 ммоль). Смесь центрифугировали и супернатант фильтровали через 0,45 мкм РТFЕ фильтр и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep®, 12 г, циклогексан/EtOAc от 20 до 90% EtOAc) с получением защищенного промежуточного соединения, которое обрабатывали смесью DCM (2,5 мл) и TFA (0,963 мл, 12,50 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток обрабатывали 7 N раствором NH₃ в MeOH (2 мл, 14 ммоль). Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток очищали при помощи препаративной SFC (колонка DEAP, изократическое элюирование 28% в течение 9 мин) с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого масла. СВЭЖХ-МС (условие 1) t_R =1,87 мин, m/z=464,1 [M+H]⁺, m/z=462,1 [M-H]⁻; 1 H-ЯМР (400 МГц,

DMSO-d₆) δ млн.д. 1,49-1,65 (м, 1H), 1,75-1,97 (м, 1H), 2,14-2,30 (м, 1H), 3,04 (дд, J=11,37, 6,97 Гц, 1H), 3,14-3,26 (м, 2H), 3,26-3,29 (м, 1H), 3,35-3,46 (м, 2H), 4,60 (т, J=5,14 Гц, 1H), 6,39 (д, J=1,96 Гц, 1H), 7,33 (д, J=9,05 Гц, 2 H), 7,76 (уш. c, 1H), 7,84-7,94 (м, 2 H), 8,04 (д, J=2,45 Гц, 1H), 8,74 (с, 1H), 10,18 (с, 1H), 12,87 (уш. c, 1H).

Стадия 10.1. (S)-5-Бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 9.2, с использованием 5-бром-6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 9.3) и (S)-1-пирролидин-3-ил-метанола с получением не совсем белого кристаллического твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =5,82 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,14 мин, m/z=476,2/478,3 [M+H]⁺.

Пример 11. (R)-6-(3- Γ идроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)-N-(4-((трифторметил)тио)фенил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано в примере 9, с использованием (R)-5-бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-((трифторметил)тио)фенил)никотинамида (стадия 11.1) и 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1-((2-(триметил-силил)этокси)метил)-1H-пиразола с получением твердого вещества белого цвета. СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,97 мин, m/z=450,2 [M+H]⁺, m/z=448,1 [M-H]⁻; ¹H-HMP (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,67-1,78 (м, 1H), 1,78-1,88 (м, 1H), 2,94 (д, J=11,92 Гц, 1H), 3,19-3,34 (м, 2 H), 3,38-3,50 (м, 1H), 4,20 (уш. с, 1 H), 4,81-4,93 (м, 1H), 6,33-6,45 (м, 1 H), 7,83 (м, J=113,40, 8,20 Гц, 3H), 7,93 (д, J=8,66 Гц, 2 H), 7,99-8,08 (м, 1H), 8,70-8,81 (м, 1H), 10,30 (с, 1H), 12,90-13,16 (м, 1H).

Стадия 11.1. (R)-5-Бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-((трифторметил)тио)фенил)никотинамид

DIPEA (73 мкл, 0,42 ммоль) добавляли в раствор 5-бром-6-хлор-N-(4-((трифторметил)тио)фенил)никотинамида (стадия 11.2, 123 мг, 0,3 ммоль) и (R)-пирролидин-3-ола (31,4 мг, 0,36 ммоль) в iPrOH (300 мкл) в сосуде, который плотно закрывали и нагревали при 140°С в течение 1 ч. После охлаждения при комнатной температуре реакционную смесь разбавляли при помощи EtOAc, промывали насыщенным солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который растирали в порошок с iPr_2O , фильтровали и сушили с получением указанного в заголовке соединения в виде белого кристаллического порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =5, 9 мин, CBЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,21 мин, m/z=464,1 [M+H] $^+$.

Стадия 11.2. 5-Бром-6-хлор-N-(4-((трифторметил)тио)фенил)никотинамид

Добавляли DMF (0,12 мл) с последующим медленным добавлением SOCl₂ (0,73 мл, 10 ммоль) к смеси 5-бром-6-хлорникотиновой кислоты (473 мг, 2 ммоль) в толуоле (5 мл) и реакционную смесь затем перемешивали при 80° С в течение 1 ч. После охлаждения при комнатной температуре толуол упаривали при пониженном давлении и остаток растворяли в THF (0,4 мл). Добавляли DIPEA (0,7 мл, 4 ммоль) и раствор охлаждали до 0° С в атмосфере азота. Затем по каплям добавляли 4-трифторметилсульфаниланилин (438 мг, 2,2 ммоль) в THF (1 мл) и реакционную смесь перемешивали при 0° С в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли при помощи TBME (50 мл), обрабатывали 1 М раствором HCl и экстрагировали при помощи TBME. Объединенные экстракты промывали 1 М водным раствором NaOH и насыщенным солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и растворитель выпаривали при пониженном давлении и продукт кристаллизовали из смеси TBME/н-гексан с получением указанного в заголовке соединения в виде не совсем белого кристаллического порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,63 мин, CBЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,33 мин, m/z=411,1 $[M+H]^+$.

Пример 12. (S)-6-(3-(Γ идроксиметил)пирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)-N-(4-((трифторметил)тио)фенил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано в примере 10, с использованием (S)-5-бром-6-(3-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)-N-(4-((трифторметил)тио)фенил)никотинамида (стадия 12.1) и 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола с получением бледно-желтого порошка. СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,99 мин, m/z=464,2 [M+H]⁺, m/z=462,2 [M-H]-; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,48-1,64 (м, 1 H), 1,76-1,93 (м, 1 H), 2,15-2,27 (м, 1 H), 3,04 (дд, J=11,49, 7,09 Гц, 1H), 3,18-3,26 (м, 2 H), 3,27-3,29 (м, 1H), 3,32-3,41 (м, 2 H), 4,60 (уш. c, 1H), 6,39 (д, J=1,71 Гц, 1H), 7,67 (д, J=8,56 Гц, 2 H), 7,80 (уш. c, 1H), 7,87-7,99 (м, 2H), 8,04 (д, J=2,45 Гц, 1H), 8,74 (уш. c, 1H), 10,28 (c, 1H), 12,76-13,20 (м, 1H).

Стадия 12.1. (S)-5-Бром-6-(3-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)-N-(4-((трифторметил)тио)фенил)никотинамид

DIPEA (4.89)28.0 добавляли В раствор 5-бром-6-хлор-N-(4-МЛ, ммоль) ((трифторметил)тио)фенил)никотинамида (стадия 11.2, 2,88 г, 7,0 ммоль) и (S)-1-пирролидин-3-илметанола (1,156, 8,40 ммоль) в iPrOH (7,0 мл) в сосуде, который плотно закрывали и затем нагревали при 140°C в течение 1 ч. После охлаждения при комнатной температуре реакционную смесь растворяли в EtOAc, промывали водным 0,5 M раствором HCl и насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который растирали в порошок с iPr₂O, фильтровали и сушили с получением указанного в заголовке соединения в виде бежевого кристаллического порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,17 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,20 мин, $m/z=476,2/478,2 [M+H]^{+}$

Пример 13. (R)-N-(3-Фтор-4-(трифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1Н-пиразол-5-ил)никотинамид

Смесь (R)-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамида (стадия 13.1, 64 мг, 0,11 ммоль), этилендиамина (37,2 мкл, 0,55 ммоль) и 1 М раствора ТВАF в ТНF (1,651 мл, 1,651 ммоль) в микроволновом сосуде плотно закрывали и перемешивали при 80-85°С в течение 20 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток растворяли в EtOAc (40 мл), промывали 3 раза насыщенным водным раствором NaHCO₃ и насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи препаративной SFC (колонка Diol/изократическая хроматография 27%) с получением указанного в заголовке соединения в виде белого твердого вещества. CBЭЖX-MC (условие 3) t_R =0,95 мин, m/z=452,3 [M+H]⁺, m/z=450,3 [M-H]⁻; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,64-1,78 (м, 1H), 1,78-1,89 (м, 1H), 2,95 (д, J=11,74 Гц, 1H), 3,29 (уш. с, 2H), 3,37-3,49 (м, 1H), 4,20 (уш. с, 1H), 4,83 (уш. с, 1H), 6,35-6,42 (м, 1H), 7,52 (т, J=9,05 Гц, 1H), 7,62 (д, J=9,29 Гц, 1H), 7,74 (уш. с, 1H), 7,98 (дд, J=13,20, 2,20 Гц, 1H), 8,02 (д, J=2,20 Гц, 1H), 8,74 (д, J=1,71 Гц, 1H), 10,31 (уш. с, 1H), 12,95 (уш. с, 1H).

Стадия 13.1. (R)-N-(3- Φ тор-4-(трифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамид

Смесь (R)-5-бром-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамида (стадия 13.2, 100 мг, 0,215 ммоль), 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразола (104 мг, 0,321 ммоль), $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (15,2 мг, 0,022 ммоль), Na_2CO_3 (91 мг, 0,862 ммоль), DME (914 мкл), воды (261 мкл) и EtOH (131 мкл) в микроволновом сосуде плотно закрывали, откачивали воздух/продували 3 раза аргоном и подвергали микроволновому облучению при $125^{\circ}C$ в течение 20 мин. Peakquohhyio смесь разбавляли при помощи <math>DME (3 мл), затем пере-

мешивали в течение ночи с Si-Thiol (Silicycle 1,44 ммоль/г, 90 мг, 0,129 ммоль). Смесь центрифугировали и супернатант фильтровали через 0,45 мкм РТFE фильтр и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали при помощи препаративной SFC (колонка DEAP, от 15 до 20% в течение 6 мин) с получением указанного в заголовке соединения в виде желтого прозрачного масла. СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,28 мин, m/z=581,2 [M+H] $^+$, m/z=580,4 [M-H] $^-$.

Стадия 13.2. (R)-5-Бром-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 9.2, с использованием 5-бром-6-хлор-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 13.3) и (R)-пирролидин-3-ола с получением не совсем белого кристаллического твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =5,82 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,17 мин, m/z=4 64,1 [M+H] $^+$.

Стадия 13.3. 5-Бром-6-хлор-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)фенил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 11.2 с использованием 5-бром-6-хлорникотиновой кислоты и 3-фтор-4-трифторметокси-анилина с получением не совсем белого кристаллического твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,43 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,29 мин, m/z=413 [M-H].

Пример 14. (S)-N-(3- Φ тор-4-(трифторметокси)фенил)-6-(3-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано в примере 10, с использованием (S)-5-бром-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)фенил)-6-(3-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)никотинамида (стадия 14.1) и 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола с получением бледно-желтого порошка. СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,96 мин, m/z=466,2 [M+H]⁺, m/z=464,2 [M-H]⁻. ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) 8 млн.д. 2,77 (с, 3H), 3,38-3,61 (м, 4H), 4,61 (уш. с, 1H), 6,47 (с, 1H), 7,68 (д, J=8,56 Гц, 2H), 7,83 (уш. с, 1H), 7,93 (д, J=8,80 Гц, 2H), 8,15 (уш. с, 1H), 8,71 (уш. с, 1H), 10,36 (с, 1H), 12,83-13,15 (м, 1H).

Стадия 14.1. (S)-5-Бром-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)фенил)-6-(3-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 9.2, с использованием 5-бром-6-хлор-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 13.3) и (S)-1-пирролидин-3-ил-метанола с получением не совсем белого кристаллического твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =5,99 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,18 мин, m/z=478,1/480,1 $[M+H]^+$.

Пример 15. (R)-N-(3-Фтор-4-((трифторметил)тио)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1Н-пиразол-5-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано в примере 13, с использованием (R)-N-(3-фтор-4-((трифторметил)тио)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамида (стадия 15.1) с получением беловатого твердого вещества. СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,00 мин, m/z=468,3 [M+H]⁺, m/z=466,1 [M-H]⁻; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,68-1,78 (м, 1H), 1,79-1,89 (м, 1H), 2,96 (д, J=11,74 Гц, 1H), 3,24-3,30 (м, 2H), 3,40-3,49 (м, 1H), 4,20 (д, J=2,20 Гц, 1H), 4,84 (уш. с, 1H), 6,38 (д, J=1,96 Гц, 1H), 7,66-7,78 (м, 3H), 7,98 (дд, J=11,98, 1,96 Гц, 1H), 8,03 (д, J=2,45 Гц, 1H), 8,75 (д, J=2,45 Гц, 1H), 10,24-10,72 (м, 1H), 12,59-13,22 (м, 1H).

Стадия 15.1. (R)-N- $(3-\Phi$ тор-4-((трифторметил)тио)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 13.1, с использованием (R)-5-бром-N-(3-фтор-4-((трифторметил)тио)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамида (стадия 15.2) и 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразола с получением желтой смолы. СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,33 мин, m/z=598,4 [M+H] $^+$, m/z=596,5 [M-H] $^-$.

Стадия 15.2. (R)-5-Бром-N-(3-фтор-4-((трифторметил)тио)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 9.2, с использованием 5-бром-6-хлор-N-(3-фтор-4-((трифторметил)тио)фенил)никотинамида (стадия 15.3) и (R)-пирролидин-3-ола с получением не совсем белого кристаллического твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,11 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,23 мин, m/z=480,1 $[M+H]^+$.

Стадия 15.3. 5-Бром-6-хлор-N-(3-фтор-4-((трифторметил)тио)фенил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 11.2, с использованием 5-бром-6-хлорникотиновой кислоты и 3-фтор-4-трифторметилсульфаниланилина с получением белого кристаллического вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,71 мин, CВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,34 мин, m/z=429 [M-H].

Пример 16. (R)-6-(3-Гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(перфторэтил)фенил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид

Смесь (R)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(перфторэтил)фенил)-5-(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамида (стадия 16.1, 68 мг, 0,114 ммоль) и этилендиамина (38,4 мкл, 0,569 ммоль) помещали в микроволновый сосуд и плотно закрывали в атмосфере аргона, добавляли 1 М ТВАF в ТНF (1,707 мл, 1,707 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 80°С в течение 20 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток растворяли в EtOAc (40 мл), промывали 3 раза насыщенным водным раствором NaHCO3 и насыщенным солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали при помощи препаративной SFC (колонка Diol, изократическая хроматография 27% в течение 9 мин) с получением указанного в заголовке соединения в виде не совсем белого твердого вещества. СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,98 мин, m/z=468,2 [M+H]⁺, m/z=466,2 [M-H]-; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) 3 6 млн.д. 1,68-1,78 (м, 1H), 1,83 (дд, J=8,80, 4,40 Гц, 1H), 2,96 (д, J=11,74 Гц, 1H), 3,19-3,29 (м, 2H), 3,40-3,50 (м, 1H), 4,20 (уш. с, 1H), 4,83 (уш. с, 1H), 6,39 (д, J=1,96 Гц, 1H), 7,65 (д, J=8,80 Гц, 2H), 7,77 (уш. с, 1H), 8,02 (д, J=9,05 Гц, 2H), 8,05 (д, J=2,45 Гц, 1H), 8,76 (д, J=2,20 Гц, 1H), 10,33 (с, 1H), 12,91 (уш. с, 1H).

Стадия 16.1. (R)-6-(3-Гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(перфторэтил)фенил)-5-(1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамид

Смесь (R)-5-бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(перфторэтил)фенил)никотинамида (стадия 16.2, 100 мг, 0,208 ммоль), 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-1H-пиразола (135 мг, 0,416 ммоль), $Pd(PPh_3)_2Cl_2$ (14,62 мг, 0,021 ммоль), Na_2CO_3 (88 мг, 0,833 ммоль), DME (883 мкл), воды (252 мкл) и EtOH (126 мкл) помещали в микроволновой сосуд, который плотно закрывали, откачивали воздух/продували 3 раза аргоном и подвергали микро-

волновому облучению при 125° С в течение 20 мин. Реакционную смесь разбавляли при помощи 3 мл DME, затем перемешивали в течение ночи с Si-Thiol (Silicycle 1,44 ммоль/г, 87 мг, 0,125 ммоль) в течение ночи. Смесь центрифугировали и супернатант фильтровали через 0,45 мкм РТFE фильтр и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали при помощи препаративной SFC (колонка Diol, от 15 до 20% в течение 6 мин) с получением указанного в заголовке соединения в виде бесцветной прозрачной смолы. СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,31 мин, m/z=598,4 [M+H]⁺, m/z=596,3 [M-H]⁻.

Стадия 16.2. (R)-5-Бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(перфторэтил)фенил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 9.2, с использованием 5-бром-6-хлор-N-(4-(перфторэтил)фенил)никотинамида (стадия 16.3) и (R)-пирролидин-3-ола с получением не совсем белого кристаллического твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =5,96 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,20 мин, m/z-480,2 [M+H] $^+$.

Стадия 16.3. 5-Бром-6-хлор-N-(4-(перфторэтил)фенил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 11.2, с использованием 5-бром-6-хлорникотиновой кислоты и 4-пентафторэтил-анилина с получением белого кристаллического вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6, 61 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,32 мин, m/z=42 9 [M-H]⁻.

Пример 17. (R)-6-(3-Гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(пентафторсульфанил)фенил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано в примере 8, с использованием (R)-5-бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(пентафторсульфанил)фенил)никотинамида (стадия 17.1) и 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола с получением бежевого твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =4,68 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,92 мин, m/z=476,3 [M+H] $^+$; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,64-1,91 (м, 2H), 2,93 (д, J=11,73 Гц, 1H), 3,19-3,34 (т, 2H), 3,36-3,49 (м, 1H), 4,12-4,24 (м, 1H), 4,81 (д, J=3,13 Гц, 1H), 6,38 (с, 1H), 7,73-7,89 (м, 3H), 7,92-8,09 (м, 3H), 8,73 (д, J=1,96 Гц, 1H), 10,37 (с, 1H), 12,82-13,17 (м, 1H).

Стадия 17.1. (R)-5-Бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(пентафторсульфанил)фенил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 9.2, с использованием 5-бром-6-хлор-N-(4-(пентафторсульфанил)фенил)никотинамида (стадия 17.2) и (R)-пирролидин-3-ола с получением твердого вещества. СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,16 мин, m/z=490,1 $[M+H]^+$.

Стадия 17.2. 5-Бром-6-хлор-N-(4-(пентафторсульфанил)фенил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 11.2, с использованием 5-бром-6-хлорникотиновой кислоты и 4-аминофенилсерного пентафторида с получением оранжевого твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,43 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,27 мин, m/z=435,3/437,2 $[M+H]^+$.

Пример 18. (R)-N-(4-((Хлордифторметил)тио)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1Н-пиразол-5-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано в примере 8, с использованием (R)-5-бром-N-(4-((хлордифторметил)тио)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамида (стадия 18.1) и 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола с получением беловатого твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R -4,94 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,99 мин, m/z=466,3 [M+H] $^+$; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d $_6$) δ млн.д. 1,65-1,88 (м, 2 H), 2,86-2,99 (м, 1H), 3,19-3,33 (м, 2H), 3,36-3,51 (м, 1H), 4,13-4,23 (м, 1H), 4,76-4,90 (м, 1H), 6,31-6,42 (м, 1H), 7,65 (д, J=8,21 Гц, 2H), 7,76-7,84 (м, 1H), 7,92 (д, J=8, 60 Гц, 2H), 7,98-8,08 (м, 1H), 8,66-8,82 (м, 1H), 10,28 (с, 1H), 12,82-13,14 (м, 1H).

Стадия 18.1. (R)-5-Бром-N-(4-((хлордифторметил)тио)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 9.2, с использованием 5-бром-6-хлор-N-(4-((хлордифторметил)тио)фенил)никотинамида (стадия 18.2) и (R)-пирролидин-3-ола с получением не совсем белого кристаллического твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =5,97 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,19 мин, m/z=478,2/480,1 [M+H] $^+$.

Стадия 18.2. 5-Бром-6-хлор-N-(4-((хлордифторметил)тио)фенил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 11.2, с использованием 5-бром-6-хлорникотиновой кислоты и 4-((хлор-дифторметил)тио)анилина (стадия 18.3) с получением не совсем белого кристаллического твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,78 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,32 мин, m/z=425 [M-H]⁻.

Стадия 18.3. 4-((Хлордифторметил)тио)анилин

К раствору 4-нитрофенилхлордифторметилсульфида (полученного, как описано в DE2845997, 627, 67,5 г, 0,28 моль) в этаноле (270 мл) и воды (68 мл), перемешиваемому при 72°С, тремя порциями в течение 10 мин добавляли концентрированный раствор HCl (3,4 мл, 41,5 ммоль) и порошок железа (203 г, 3,63 моль). Реакционную смесь перемешивали при 82°С в течение 30 мин, фильтровали через Celite[®] (ЕtOH), растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением желтого масла, которое растворяли в DCM, и промывали насыщенным раствором NaHCO₃ и насыщенным солевым раствором. Органическую фазу сушили над MgSO₄, фильтровали и фильтрат упаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта в виде желтого масла, которое дистиллировали (температура кипения 88-92°С, 0,9 мм рт. ст.) и фильтровали через Celite[®], с получением указанного в заголовке соединения в виде бледно-желтого масла. ¹H-ЯМР (300 МГЦ, CDCl₃) δ млн.д. 3,98 (уш. c, 2H), 6,67 (дд, 2H), 7,43 (дд, 2 H).

Пример 19. (R)-6-(3-Гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(перфторэтокси)фенил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано в примере 8, с использованием (R)-5-бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(перфторэтокси)фенил)никотинамида (стадия 19.1) и 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола с получением беловатого твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =4,86 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,97 мин, m/z=484,4 [M+H] $^+$; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,62-1,92 (м, 2H), 2,94 (д, J=1,00 Гц, 1H), 3,18-3,34 (м, 2H), 3,37-3,51 (м, 1H), 4,13-4,22 (м, 1H), 4,70-4,91 (м, 1H), 6,37 (уш. с, 1H), 7,31 (д, J=8,99 Гц, 2H), 7,86 (м, J=9,00 Гц, 3H), 8,01 (уш. с, 1H), 8,65-8,83 (м, 1H), 10,17 (с, 1H), 12,84-13,11 (м, 1H).

Стадия 19.1. (R)-5-Бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(перфторэтокси)фенил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 9.2, с использованием 5-бром-6-хлор-N-(4-(перфторэтокси)фенил)никотинамида (стадия 19.2) и (R)-пирролидин-3-ола с получением не совсем белого кристаллического твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,01 мин, CВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,17 мин, m/z=496,2 [M+H] $^+$.

Стадия 19.2. 5-Бром-6-хлор-N-(4-(перфторэтокси)фенил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 9.3, с использованием 5-бром-6-хлорникотиновой кислоты и 4-(перфторэтокси)анилина с получением не совсем белого кристаллического твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,73 мин, CВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,30 мин, m/z=443,1 [M-H]⁻.

Пример 20. (R)-N-(4-(Хлордифторметокси)фенил)-4-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-3-(1H-пиразол-5-ил)бензамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано в примере 8, с использованием (R)-3-бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-4-(3-гидроксипирролидин-1-ил)бензамида (стадия 20.1) и пинаколинового эфира 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-бороновой кислоты с получением беловатого твердого вещества. СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,99 мин, m/z=449,0 [M+H] $^+$, m/z=493,0 [M+муравьиная кислота-H] $^-$; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,67-1,79 (м, 1H), 1,80-1,92 (м, 1H), 2,72 (д, J=10,88 Гц, 1H), 3,03-3,18 (м, 2H), 3,19-3,30 (м, 1H), 4,19 (уш. c, 1H), 4,77-4,92 (м, 1H), 6,22-6,42 (м, 1H), 6,76-6,93 (м, 1H), 7,31 (д, J=8,56 Гц, 2H), 7,45-7,81 (м, 1 H), 7,83-7,95 (м, 4H), 10,12 (c, 1 H), 12,71-13,12 (м, 1H).

Стадия 20.1. (R)-3-Бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-4-(3-гидроксипирролидин-1-ил)бензамид

Смесь 3-бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-4-фторбензамида (1 г, 2,53 ммоль), (R)-пирролидин-3-ола (0,331 г, 3,80 ммоль), ТЕА (0,706 мл, 5,07 ммоль) и DMCO (2,53 мл) перемешивали при 90°C в течение 20 ч. Реакционную смесь обрабатывали 0,5 М раствором HCl (50 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты промывали 0,5 М раствором HCl, насыщенным водным раствором NaHCO3 и насыщенным солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэшхроматографии (колонка с силикагелем RediSep®, 40 г, циклогексан/EtOAc, от 1 до 4,5% EtOAc). Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который растирали в порошок в циклогексане, с получением указанного в заголовке продукта в виде белого аморфного твердого вещества. CBЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,15 мин, m/z=462,9 [M+H] $^+$, m/z=460,9 [M-H] $^-$; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d6) δ млн.д. 1,81-1,90 (м, 1H), 1,92-2,03 (м, 1H), 3,27 (дд, J=10,39, 1,10 Гц, 1H), 3,36-3,44 (м, 1 H), 3,62-3,71 (м, 1H), 3,81 (дд, J=10,45, 4,71 Гц, 1H), 4,32-4,40 (м, 1H), 4,99 (д, J=3,42 Гц, 1H), 6,93 (д, J=8,80 Гц, 1H), 7,33 (д, J=9,05 Гц, 2H), 7,82-7,91 (м, 3H), 8,14 (д, J=2,20 Гц, 1H), 10,21 (с, 1H).

Стадия 20.2. 3-Бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-4-фторбензамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 1.3, с использованием 3-бром-4-фторбензойной кислоты и 4-(хлордифторметокси)анилина с получением беловатого твердого вещества. СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,25 мин, m/z=394,0 [M+H]⁺, m/z=391,9 [M-H]⁻; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 7,37 (д, J=9, 17 Гц, 2H), 7,57 (т, J=8,68 Гц, 1H), 7,84-7,91 (м, 2H), 8,03 (ддд, J=8,62, 4,83, 2,32 Гц, 1H), 8,32 (дд, J=6,60, 2,20 Гц, 1H), 10,52 (с, 1H).

Пример 21. (S)-6-(3-(Аминометил)пирролидин-1-ил)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-5-(1H-

пиразол-5-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано в примере 8, с использованием (S)-трет-бутил((1-(3-бром-5-((4-(хлордифторметокси)фенил)карбамоил)-пиридин-2-ил)пирролидин-3-ил)метил)карбамата (стадия 21.1) и 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола с получением не совсем белого порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =4,15 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,78 мин, m/z=463,1 [M+H]⁺; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,50-1,62 (м, 1H), 1,91 (д, J=6,26 Гц, 1H), 2,27 (с, 1H), 2,72 (д, J=7,04 Гц, 2H), 3,04-3,16 (м, 3H), 3,30 (уш. c, 2H), 3,47 (дд, J=11,34, 7,04 Гц, 1H), 6,38 (д, J=1,96 Гц, 2H), 7,31 (д, J=8,60 Гц, 2H), 7,64-7,91 (м, 2H), 8,05 (д, J=2,35 Гц, 1H), 8,72 (д, J=1,95 Гц, 1H), 10,19 (с, 1 H), 12,86-13,01 (м, 1H).

Стадия 21.1. (S)-трет-Бутил((1-(3-бром-5-((4-(хлордифторметокси)фенил)-карбамоил)пиридин-2-ил)пирролидин-3-ил)метил)карбамат

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 8.1, с использованием 5-бром-6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 9.3) и трет-бутилового эфира (R)-1-пирролидин-3-илметил-карбаминовой кислоты с получением кристаллического твердого вещества. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,09 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,36 мин, m/z=577,2 $[M+H]^+$.

3-Метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол (стадия 23.1, 128 мг, 0,329 ммоль), K₃PO₄ (140 мг, 0,658 ммоль) и Pd(PPh₃)₄ (15.22 мг, 0,013 ммоль) (R)-3-бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-4-(3-гидроксипирролидин-1раствору ил)бензамида (стадия 20.1, 80 мг, 0,165 ммоль) в толуоле (1,5 мл) в атмосфере аргона и реакционную смесь нагревали при 110°C в течение 2 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении, остаток растворяли в DCM (4 мл) и обрабатывали при помощи TFA (0,507 мл, 6,58 ммоль), перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь обрабатывали насыщенным водным раствором Na₂CO₃ (20 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты промывали насыщенным солевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи препаративной ВЭЖХ (условие 10 - от 20 до 80% В в течение 20 мин). Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли, обрабатывали насыщенным водным раствором Na₂CO₃ и MeCN выпаривали при пониженном давлении. Водный остаток экстрагировали при помощи DCM и объединенные экстракты сушили над Na₂SO₄, фильтровали и фильтрат упаривали при пониженном давлении с получением остатка, который кристаллизовали из смеси DCM/н-гексан с получением указанного в заголовке продукта в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ (условие 5) t_R =6,41 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,03 мин, m/z=463 [M+H]⁺; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) б млн.д. 1,67-1,78 (м, 1H), 1,84 (с, 1H), 2,16-2,30 (м, 3H), 2,74 (д, Ј=10,56 Гц, 1H), 3,04-3,33 (м, 3H), 4,14-4,23 (м, 1H), 4,76-4,87 (м, 1H), 6,07 (с, 1H), 6,73-6,86 (м, 1H), 7,29 (д, J=8,21 Γ_{U} , 2H), 7,78-7,90 (M, J=8,99 Γ_{U} , 4H), 10,07 (c, 1H), 12,34-12,56 (M, 1H).

Пример 23. (R)-N-(4-(Хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(3-метил-1Н-пиразол-5-ил)никотинамид

3-Метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4, 4, 5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол (стадия 23.1, 150 мг, 0,359 ммоль), K_3PO_4 (147 мг, 0,692 ммоль) и $Pd(PPh_3)_4$ (15,98 мг, 0,014 ммоль) добавляли к раствору (R)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамида (стадия 9.2, 80 мг, 0,173 ммоль) в толуоле (1,5 мл) в атмосфере аргона и реакционную смесь перемешивали при 110° C в течение 2 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток растворяли в DCM (1,5 мл), обрабатывали при помощи TFA (0,533 мл, 6,92 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Реакционную смесь обрабатывали насыщенным водным

Стадия 23.1. 3-Метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол

Смесь 3-метилпиразола (3,0 г, 35,4 ммоль), 3,4-дигидро-2H-пирана (4,97 мл, 53,2 ммоль) и ТFA (0,02 мл, 0,260 ммоль) перемешивали при 85°С в течение 6 ч в атмосфере аргона. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли NaH 60% в минеральном масле (0,061 г, 1,524 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение 10 мин. Реакционную смесь очищали при помощи перегонки из сосуда в сосуд с получением 3-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразола (температура кипения 150-170°С/12 мбар). Раствор н-ВиLі в н-гексане (3,38 мл 1,6 М раствора, 5,41 ммоль) добавляли по каплям в течение 10 мин к раствору 3-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразола (1,0 г, 5,41 ммоль) в ТНГ (12 мл) при -70°С в атмосфере азота и реакционную смесь перемешивали в течение 10 мин, и затем обрабатывали по каплям 2-метокси-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксабороланом (0,898 г, 5,69 ммоль) и перемешивали при -70°С в течение 1 ч. Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры, обрабатывали при помощи н-гексана и продукт фильтровали, растворяли в воде (10 мл) и подкисляли до рН 6 водным раствором лимонной кислоты (10%). Воду упаривали при пониженном давлении и водный остаток экстрагировали при помощи EtOAc, сушили над Na_2SO_4 и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке продукта в виде желтой смолы. СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,56 мин, m/z=211,2 [M+H] $^+$.

Пример 24. (R)-N-(4-(Хлордифторметокси)фенил)-3-(4-фтор-1H-пиразол-5-ил)-4-(3-гидроксипирролидин-1-ил)бензамид

Смесь N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-4-фтор-3-(4-фтор-1H-пиразол-5-ил)бензамида (стадия 24.1, 62 мг, 0,147 ммоль), R-3-гидроксипирролидина (0,031 мл, 0,206 ммоль) и ТЕА (0,062 мл, 0,442 ммоль) в DMCO (0,5 мл) перемешивали при 100° С в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли при помощи EtOAc (30 мл), обрабатывали насыщенным водным раствором Na_2CO_3 (20 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты промывали водой (20 мл) и насыщенным солевым раствором (20 мл), сушили над Na_2SO_4 , и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи препаративной ВЭЖХ (условие 10). Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли, обрабатывали насыщенным водным раствором Na_2SO_3 и MeCN удаляли при пониженном давлении. Водный остаток экстрагировали при помощи DCM и объединенные экстракты сушили над Na_2SO_4 и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток растворяли в DCM и обрабатывали при помощи н-гексана с получением указанного в заголовке продукта в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ (условие 5) t_R =6,61 мин, CBЭЖХ-C0 (условие C1) мин, CB2 млн. CB3, CB4, CB6, CB6, CB7, CB8, CB9, CB9,

Стадия 24.1. N-(4-(Хлордифторметокси)фенил)-4-фтор-3-(4-фтор-1H-пиразол-5-ил)бензамид

Смесь 3-бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-4-фторбензамида (стадия 20.2, 200 мг, 0,497 ммоль), 4-фтор-5-(трибутилстаннил)-1H-пиразола (211 мг, 0,472 ммоль) и $Pd(PPh_3)_4$ (28,7 мг, 0,025 ммоль) в DMCO (1,5 мл) в плотно закрытом сосуде перемешивали при 100° С в течение 20 ч в атмосфере аргона. Реакционную смесь разбавляли при помощи EtOAc (30 мл), обрабатывали насыщенным водным раствором Na_2CO_3 (20 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты промывали водой (20 мл) и насыщенным солевым раствором (20 мл), сушили над Na_2SO_4 и растворитель выпарива-

ли при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикателем, 12 г, н-гексан/EtOAc от 95:5 до 6:4) с получением указанного в заголовке продукта в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ (условие 5) t_R =7,20 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,12 мин, m/z=400,1 [M+H]⁺.

Пример 25. (R)-N-(4-(Хлордифторметокси)фенил)-5-(4-фтор-1H-пиразол-5-ил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано в примере 5, с использованием 6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-5-(4-фтор-1H-пиразол-5-ил)никотинамида (стадия 25.1) и (R)-пирролидин-3-ола с получением белого порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =4,89 мин, хиральная ВЭЖХ (СНІRALCEL® ОD-H, 250×4,6 мм, элюент: н-гептан/EtOH/MeOH (85:10:5), 1 мл/мин, UV 210 нм) t_R =9,34 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0, 96 мин, m/z=468,1 [M+H] $^+$; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d $_6$) 8 млн.д. 1,67-1,92 (м, 2H), 3,00 (д, J=11,73 Гц, 1H), 3,19-3,33 (м, 2H), 3,43 (м, J=7,00 Гц, 1H), 4,22 (уш. с, 1H), 4,87 (уш. с, 1H), 7,31 (д, J=8,60 Гц, 2 H), 7,85 (д, J=8,99 Гц, 2 H), 7,90-8,10 (м, 2 H), 8,77 (уш. с, 1H), 10,18 (с, 1H), 12,83-13,19 (м, 1H).

Стадия 25.1. 6-Хлор-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-5-(4-фтор-1H-пиразол-5-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 13.1, с использованием 6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-5-йодникотинамида (стадия 25.2) и 4-фтор-5-(трибутилстаннил)-1H-пиразола с получением не совсем белого порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =5,69 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,09 мин, m/z=415 [M-H]-; t_R -1,1-4 мин (400 МГц, DMCO-d₆) t_R млн.д.

Стадия 25.2. 6-Хлор-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-5-йодникотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 11.2, с использованием 6-хлор-5-йодникотиновой кислоты и 4-(хлордифторметокси)анилина с получением не совсем белого порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,47 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,26 мин, m/z=456,8 [M-H]⁻.

Пример 26. (R)-N-(4-(Хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(3-грифторметил)-1Н-пиразол-5-ил)никотинамид

 K_3PO_4 (135 мг, 0,635 ммоль), 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-3-(трифторметил)-1H-пиразол-5илбороновую кислоту (112 мг, 0,424 ммоль) и Рd(PPh₃)₄ (12,24 мг, 10,59 мкмоль) добавляли к раствору (R)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамида (стадия 9.2. 100 мг, 0,212 ммоль) в толуоле (2 мл) и реакционную смесь перемешивали при 110°C в течение 2 ч в атмосфере аргона. Реакционную смесь фильтровали через Hyflo®, промывали водой и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем, 12 г, DCM/EtOH от 99:1 до 94:6). Полученное промежуточное соединение растворяли в DCM (2 мл), обрабатывали при помощи ТFA (0,462 мл, 5,99 ммоль) и перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли при помощи ЕtOAc (20 мл), обрабатывали насыщенным водным раствором Na₂CO₃ (20 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты промывали насыщенным солевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем, 4 г, DCM/EtOH от 99:1 до 9:1). Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который растирали в смеси DCM/н-гексан, фильтровали и сушили с получением указанного в заголовке продукта в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ (условие 5) t_R=6,545 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R=1,10 мин, m/z=518,1 [M+H]⁺; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) б млн.д. 1,71-1,95 (м, 2H), 2,94 (д, Ј=11,34 Гц, 1H), 3,24 (м, 2H), 3,44 (м, 1H), 4,17-4,32 (м, 1H), 4,91 (уш. с, 1H), 6,88 (с, 1H), 7,34 (д, Ј=8,21 Гц, 2H), 7,86 (д, Ј=9,38 Гц, 2H), 8,12 (с, 1H), 8,81 (с, 1H), 10,17 (с, 1H), 13,94 (с, 1H).

Пример 27. (R)-N-(4-(Хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-метил-1Н-пиразол-5-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 2.1, с использованием (R)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамида (стадия 9.2) и 1-метил-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола с получением белого порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =5,25 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,98 мин, m/z=464,1 [M+H]⁺; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,65-1,89 (м, 2H), 2,87-3,00 (м, 1H), 3,09-3,29 (м, 3H), 3,59 (с, 3H), 4,19 (уш. c, 1H), 4,87 (д, J=3,13 Гц, 1H), 6,39 (с, 1H), 7,27-7,36 (м, 2H), 7,50 (дд, J=1,76, 0,98 Гц, 1H), 7,78-7,88 (м, 2H), 8,00 (д, J=2,35 Гц, 1H), 8,78 (дд, J=2,35, 1,17 Гц, 1H), 10,15 (с, 1H).

Пример 28. (R)-N-(4-(Хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-метил-1Н-пиразол-3-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 2.1, с использованием (R)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамида (стадия 9.2) и 1-метил-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола с получением белого порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =5,16 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,98 мин, m/z=464 [M+H] $^+$; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) 8 млн.д. 1,64-1,90 (м, 2H), 2,85-3,00 (м, 1H), 3,06-3,26 (м, 3H), 3,59 (с, 3H), 4,19 (уш. c, 1H), 4,87 (д, J=2,74 Гц, 1H), 6,39 (с, 1H), 7,31 (д, J=8,60 Гц, 2H), 7,50 (дд, J=1,76, 0,98 Гц, 1H), 7,84 (д, J=8,60 Гц, 2H), 8,01 (д, J=2,74 Гц, 1H), 8,78 (дд, J=2,54, 0,98 Гц, 1H), 10,15 (с, 1H).

Пример 29. (R)-N-(4-(Хлордифторметокси)фенил)-5-(1-(2-гидроксиэтил)-1H-пиразол-4-ил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамид

2 M раствор Na₂CO₃ (0,375 мл, 0,75 ммоль) добавляли в раствор (R)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамида (стадия 9.2, 116 мг, 0,25 ммоль) и 1-(2-(тетрагидро-2H-пиран-2-илокси)этил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Hпиразола (161 мг, 0,5 ммоль) в DME (1,0 мл) в атмосфере аргона. Затем добавляли PdCl₂ (dppf)(9,15 мг, 0,013 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 100°С в течение 2 ч. После охлаждения при комнатной температуре реакционную смесь растворяли в EtOAc и промывали насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Неочищенный продукт растворяли в DCM (1,4 мл), охлаждали до 0°C, затем обрабатывали при помощи TFA (0,77 мл, 10 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь выливали в водный 10% раствор Na₂CO₃ (15 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep®, DCM/MeOH, от 2 до 10% MeOH) с получением не совсем белого порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =4,33 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,88 мин, m/z=494 $[M+H]^+$; 1H -ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,67-1,88 (м, 2H), 2,96 (д, J=11,73 Гц, 0 H), 3,24-3,37 (м, 2H), 3,41-3,53 (м, 1H), 3,75 (кв., J=5,73 Гц, 2H), 4,04-4,25 (м, 4H), 4,81 (д, J=3,52 Гц, 1H), 4,86-4,94 (м, 1H), 7,31 (д, J=8,21 Гц, 2H), 7,53-7,59 (м, 1H), 7,79-7,89 (м, 3H), 7,93 (д, Ј=2,35 Гц, 1Н), 8,65 (дд, Ј=2,35, 0,78 Гц, 1Н), 10,15 (с, 1Н).

Пример 30. (R)-N-(4-(1,1-Дифторэтокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид

 K_3PO_4 (113 мг, 0,532 ммоль), 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4, 5, 5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол (99 мг, 0,355 ммоль) и $Pd(PPh_3)_4$ (10,24 мг, 8,86 мкмоль) добавляли к раствору (R)-5-бром-N-(4-(1,1-дифторэтокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамида (стадия 30.1, 80 мг, 0,177 ммоль) в толуоле (1,5 мл) в атмосфере аргона и реакционную смесь перемешивали при 110°C в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли при помощи EtOAc (20 мл), обрабатывали насыщенным раствором $NaHCO_3$ (20 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты промывали насыщенным солевым раствором (20 мл), сушили при помощи Na_2SO_4 и растворитель выпа-

ривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем, 12 г, DCM/EtOH от 97:3 до 95:5) с получением N-(4-(1,1дифторэтокси)фенил)-6-((R)-3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамида (66 мг, 0,129 ммоль), который растворяли в DCM (1,5 мл) и обрабатывали при помощи TFA (0,546 мл, 7,09 ммоль) и перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли при помощи EtOAc (20 мл), обрабатывали насыщенным раствором NaHCO₃ (25 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc (20 мл). Объединенные экстракты промывали насыщенным солевым раствором (20 мл), сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи препаративной ВЭЖХ (условие 10). Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли, обрабатывали при помощи 0,5 г NaHCO₃ и MeCN упаривали при пониженном давлении. Водный остаток экстрагировали при помощи DCM с получением указанного в заголовке продукта в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ (условие 5) t_R =5,42 мин, СВЭЖХ-MC (условие 3) t_R =0,82 мин, m/z=430,1 $[M+H]^+$; 1H -ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,68-1,87 (м, 2H), 1,93 (т, Ј=13,67 Гц, 3Н), 2,94 (д, Ј=11,71 Гц, 1Н), 3,15-3,33 (м, 2Н), 3,38-3,48 (м, 1Н), 4,19 (уш. с, 1Н), 6,37 (с, 1Н), 7,15 (д, Ј=9,37 Гц, 2Н), 7,65-7,83 (м, Ј=9,37 Гц, 3 Н), 8,03 (д, Ј=2,34 Гц, 1Н), 8,73 (д, Ј=2,34 Гц, 1H).

Стадия 30.1. (R)-5-Бром-N-(4-(1,1-дифторэтокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамид

Смесь 5-бром-6-хлор-N-(4-(1,1-дифторэтокси)фенил)никотинамида (стадия 30.2, 700 мг, 1,752 ммоль), (R)-пирролидин-3-ола (0,170 мл, 2,102 ммоль) и DIPEA (0,673 мл, 3,85 ммоль) и iPrOH (2 мл) в плотно закрытом сосуде нагревали до 120°С в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли при помощи EtOAc (80 мл), обрабатывали 10% лимонной кислотой (40 мл; pH \sim 4) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты промывали насыщенным солевым раствором (2 \times 40 мл), сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который промывали при помощи Et₂O и н-гексана, и кристаллы сушили с получением указанного в заголовке продукта в виде бежевого твердого вещества. ВЭЖХ (условие 5) t_R =6,4 мин, CВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,02 мин, m/z=442,1/444, 0 [M+H] $^+$.

Стадия 30.2. 5-Бром-6-хлор-N-(4-(1,1-дифторэтокси)фенил)никотинамид

Оксалилхлорид (653 мкл, 7,46 ммоль) добавляли к смеси 5-бром-6-хлорникотиновой кислоты (1,2 г, 4,97 ммоль) и DMF (20 мкл, 0,258 ммоль) в DCM (40 мл) в атмосфере азота и реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре. Растворитель выпаривали, остаток растворяли в DCM (10 мл) и снова выпаривали досуха. Остаток растворяли в THF (30 мл), добавляли DIPEA (1,737 мл, 9,95 ммоль) и реакционную смесь охлаждали до -15°С. Добавляли по каплям 4-(1,1-дифторэтокси)анилин (стадия 30.3, 0,932 г, 5,22 ммоль) в THF (10 мл) в течение 15 мин и реакционную смесь перемешивали в течение 1 ч при комнатной температуре. Растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток разбавляли при помощи EtOAc (100 мл), обрабатывали 10% лимонной кислотой (60 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты промывали насыщенным водным раствором Na_2CO_3 (50 мл) и насыщенным солевым раствором (2×50 мл), сушили над Na_2SO_4 и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который суспендировали в н-гексане, фильтровали и сушили с получением указанного в заголовке продукта в виде бежевого твердого вещества. ВЭЖХ (условие 5) t_R =7,3 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,16 мин, m/z=391/393 $[M+H]^+$.

Стадия 30.3. 4-(1,1-Дифторэтокси)анилин

Раствор 1-(1,1-дифторэтокси)-4-нитробензола (стадия 30.4, 2,95 г, 13,94 ммоль) в EtOH (100 мл) гидрировали (Ni Peнeя 1,0 г; 26,5 ч при комнатной температуре). Реакционную смесь фильтровали через $Hyflo^{\otimes}$ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного указанного в заголовке продукта в виде коричневого масла. ВЭЖХ (условие 5) t_R =4,5 мин, CBЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,74 мин, m/z=174,1 $[M+H]^+$.

Стадия 30.4. 1-(1,1-Дифторэтокси)-4-нитробензол

4-Нитроацетофенон (2,45 г, 14,54 ммоль) и HF-пиридин (10,11 мл, 116 ммоль) добавляли к смеси XeF $_2$ (4,92 г, 29,1 ммоль) и DCM (50 мл) в пластиковом сосуде и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч. Реакционную смесь добавляли осторожно к перемешиваемой смеси EtOAc (150 мл) и насыщенного раствора NaHCO $_3$ (250 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты промывали насыщенным солевым раствором (2×100 мл), сушили над Na $_2$ SO $_4$ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем, 40 г, н-гексан/EtOAc (95:5)) с получением указанного в заголовке продукта в виде желтого масла. ВЭЖХ (условие 5) t_R =6,9 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1, 05 мин.

Пример 31. (R)-N-(4-(2-Xлор-1,1,2,2-Tетрафторэтил)фенил)-6-(3-Tидроксипирролидин-1-ил)-5-(1Tниразол-5-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано в примере 8, с использованием (R)-5-бром-N-(4-(2-хлор-1,1,2,2-тетрафторэтил)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамида (стадия 31.1) и 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола с получением белого порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =4,89 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,98 мин, m/z=484,1 [M+H] $^+$; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,65-1,89 (м, 2 H), 2,83-2,98 (м, 1H), 3,18-3,33 (м, 2 H), 3,36-3,49 (м, 1H), 4,13-4,24 (м, 1H), 4,77-4,93 (м, 1H), 6,31-6,43 (м, 1H), 7,62 (д, J=8,59 Гц, 2 H), 7,77-7,84 (м, 1H), 7,91-8,09 (м, 3 H), 8,64-8,81 (м, 1H), 10,31 (с, 1H), 12,83-12,96 (м, 1H).

Стадия 31.1. (R)-5-Бром-N-(4-(2-хлор-1,1,2,2-тетрафторэтил) ϕ енил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 8.1, с использованием 5-бром-6-хлор-N-(4-(2-хлор-1,1,2,2-тетрафторэтил)фенил)никотинамида (стадия 31.2) и (R)-пирролидин-3-ола с получением белого порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,05 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,18 мин, m/z=498 [M+H] $^+$.

Стадия 31.2. 5-Бром-6-хлор-N-(4-(2-хлор-1,1,2,2-тетрафторэтил)фенил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 9.3, с использованием 5-бром-6-хлорникотиновой кислоты и 4-(2-хлор-1,1,2,2-тетрафторэтил)анилина (стадия 31.3) с получением бежевого кристаллического порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,77 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,31 мин, m/z=444,8 $[M+H]^+$.

Стадия 31.3. 4-(2-Хлор-1,1,2,2-тетрафторэтил)анилин

Ni(PPh₃)₄ (222 мг, 0,2 ммоль) добавляли к смеси анилина (745 мг, 8 ммоль) и 1-хлор-1,1,2,2-тетрафтор-2-йодэтана (1049 мг, 4 ммоль) в DMF (10 мл) в микроволновом сосуде в атмосфере аргона. Сосуд плотно закрывали и реакционную смесь перемешивали в течение двух дней при 80°С. После охлаждения при комнатной температуре реакционную смесь растворяли в Et₂O, промывали 10% раствором NаHCO₃ и насыщенным солевым раствором, сушили над MgSO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep[®], н-гептан/EtOAc, от 0 до 25% EtOAc) и далее при помощи хроматографии с обращенной фазой (MPLC, Lichroprep[®] 15-25 мкм колонка, элюенты: вода + 0,1% муравьиной кислоты/MeCN + 0,1% муравьиной кислоты, градиент от 10 до 50% MeCN + 0,1% муравьиной кислоты). Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли и MeCN упаривали при пониженном давлении с получением водной фазы, которую нейтрализовали при помощи NaHCO₃ и экстрагировали при помощи Et₂O. Объе-

диненные экстракты сушили над $MgSO_4$ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения в виде красного масла. ВЭЖХ (условие 4) t_R =5,48 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,04 мин, m/z=2 69 $[M+H]^+$.

Пример 32. (R)-6-(3-Гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)-N-(6-((трифторметил)тио)пиридин-3-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано в примере 8, с использованием (R)-5-бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(6-((трифторметил)тио)пиридин-3-ил)никотинамида (стадия 32.1) и 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола с получением не совсем белого порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =4,18 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,82 мин, m/z=451,3 [M+H] $^+$; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,64-1,89 (м, 2H), 2,94 (д, J=11,73 Гц, 1H), 3,18-3,33 (м, 2 H), 3,36-3,49 (м, 1H), 4,18 (уш. с, 1H), 4,81 (д, J=3,13 Гц, 1H), 6,38 (с, 1H), 7,68-7,85 (м, 2H), 8,02 (д, J=1,95 Гц, 1H), 8,32 (дд, J=8,60, 2,35 Гц, 1H), 8,73 (д, J=2,35 Гц, 1H), 10,42 (с, 1H), 12,89-13,12 (м, 1H).

Стадия 32.1. (R)-5-Бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(6-((трифторметил)тио)пиридин-3-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 8.1, с использованием 5-бром-6-хлор-N-(6-((трифторметил)тио)пиридин-3-ил)никотинамида (стадия 32.2) и (R)-пирролидин-3-ола с получением не совсем белого порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =5,53 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,01 мин, m/z=463,1 $[M+H]^+$.

Стадия 32.2. 5-Бром-6-хлор-N-(6-((трифторметил)тио)пиридин-3-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 9.3, с использованием 5-бром-6-хлорникотиновой кислоты и 6-(трифторметилтио)пиридин-3-амина с получением не совсем белого порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =6,43 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,15 мин, m/z=411,9 [M-H].

Пример 33. (R)-N-(4-(Хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(4-метил-1Н-пиразол-5-ил)никотинамид

DIPEA (77 мкл, 0,44 ммоль) добавляли в раствор 6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-5-(4-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамида (стадия 33.1, 99 мг, 0,2 ммоль) и (R)-пирролидин-3-ола (20,9 мг, 0,24 ммоль) в iPrOH (200 мкл) в сосуде, который плотно закрывали и реакционную смесь смесь перемешивали при 140°С в течение 1,5 ч. После охлаждения при комнатной температуре реакционную смесь растворяли в EtOAc, промывали насыщенным солевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток растворяли в DCM (1,1 мл), охлаждали до 0°С, обрабатывали при помощи TFA (0,616 мл, 8 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь выливали в 10% водный раствор Na₂CO₃ (10 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep®, DCM/MeOH от 2 до 10% MeOH) с получением указанного в заголовке соединения в виде бежевого порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =4,79 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,95 мин, m/z=464 [M+H][†]; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,63-1,92 (м, 5H), 2,81-2,96 (м, 1H), 3,05-3,41 (м, 3H), 4,17 (уш. с, 1H), 4,81 (уш. с, 1H), 7,30 (д, J=8,60 Гц, 2H), 7,58 (с, 1H), 7,79-8,02 (м, 3H), 8,73 (с, 1H), 10,15 (с, 1H), 12,58-12,85 (с, 1H).

Стадия 33.1. 6-Хлор-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-5-(4-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамид

 K_3PO_4 (191 мг, 0,9 ммоль) и $Pd(PPh_3)_4$ (17,33 мг, 0,015 ммоль) добавляли к раствору 6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-5-йодникотинамида (стадия 25.2, 138 мг, 0,3 ммоль) и 4-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола (131 мг, 0,45 ммоль) в толуоле (1,5 мл) в атмосфере аргона в сосуде, который плотно закрывали и нагревали при 110° С в течение 18 ч. Реакционную смесь выливали в 20 мл воды и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты сушили над Na_2SO_4 и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep®, н-гептан/EtOAc, от 5 до 50% EtOAc) и кристаллизовали из н-гептана с получением указанного в заголовке соединения в виде не совсем белого порошка. BЭЖX (условие 4) t_R =6,8 мин, CBЭЖX-MC (условие 3) t_R =1,26 мин, m/z=495 [M-H].

Пример 34. (S)-6-(3-Гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано в примере 8, с использованием (S)-5-бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 34.1) и 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола с получением не совсем белого порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =4,42 мин, хиральная ВЭЖХ (СНІКАLРАК АD-H, 250×4,6 мм, элюент: EtOH/MeCN (98:2), 0,5 мл/мин, UV 210 нм) t_R =2 8,27 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,91 мин, t_R =434,2 [M+H] $^+$; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d $_6$) 3 млн.д. 1,63-1,88 (м, 2H), 2,92 (д, J=11,73 Гц, 1H), 3,19-3,29 (м, 2H), 3,34-3,47 (м, 1H), 4,18 (уш. с, 1H), 4,80 (д, J=3,13 Гц, 1H), 6,37 (с, 1H), 7,31 (д, J=8,99 Гц, 2H), 7,75-7,89 (м, 3H), 8,00 (д, J=2,35 Гц, 1H), 8,71 (д, J=2,35 Гц, 1H), 10,16 (с, 1H), 12,85-13,12 (м, 1H).

Стадия 34.1. (S)-5-Бром-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано на стадии 8.1, с использованием 5-бром-6-хлор-N-(4-(трифторметокси)фенил)никотинамида (стадия 2.3) и (S)-пирролидин-3-ола с получением не совсем белого кристаллического порошка. ВЭЖХ (условие 4) t_R =5,83 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =1,06 мин, m/z= 446,1 [M+H]⁺.

Пример 35. (S)-N-(4-(Хлордифторметокси)фенил)-5-(4-фтор-1H-пиразол-5-ил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)никотинамид

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано в примере 5, с использованием 6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-5-(4-фтор-1H-пиразол-5-ил)никотинамида (стадия 25.1) и (S)-3-пирролидинола с получением твердого вещества белого цвета. ВЭЖХ (условие 5) t_R =5,69 мин, хиральная ВЭЖХ (СНІКАLCEL® ОD-H, 250×4,6 мм, элюент: н-гептан/ЕtOH/МеOH (85:10:5), 1 мл/мин, UV 210 нм) t_R =12,62 мин, СВЭЖХ-МС (условие 6) t_R =0,97 мин, m/z=468,2 [M+H] $^+$; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,71-1,81 (м, 1H), 1,81-1,92 (м, 1H), 3,02 (д, J=11,34 Гц, 1H), 3,24-3,37 (м, 2H), 3,40-3,49 (м, 1H), 4,23 (уш. c, 1H), 4,89 (уш. c, 1H), 7,32 (д, J=9,4 Гц, 2H), 7,76-7,98 (м, J=9, 00 Гц, 3H), 8,03 (д, J=2,35 Гц, 1H), 8,79 (д, J=2,35 Гц, 1H), 10,20 (уш. c, 1H), 12,99 (уш. c, 1H).

Пример 36. Метил 1-(5-((4-(хлордифторметокси) фенил) карбамоил)-3-(1H-пиразол-5-ил) пиридин-2-ил) пирролидин-3-карбоксилат

DIPEA (181 мкл, 1,035 ммоль) добавляли в смеси 6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамида (стадия 36.1, 100 мг, 0,207 ммоль), метил-3-пирролидинкарбоксилатгидрохлорида (44,5 мг, 0,269 ммоль) и iPrOH (414 мкл) в микроволновом сосуде, который продували аргоном, плотно закрывали и перемешивали при 130°С в течение 24 ч. Реакционную смесь разбавляли при помощи EtOAc, обрабатывали насыщенным солевым раствором и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэшхроматографии (колонка с силикагелем, н-гептан/EtOAc от 40 до 100% EtOAc) с последующей очисткой

при помощи препаративной TLC (силикагель, элюент EtOAc). Дополнительная лиофилизация из 1,4-диоксана давала указанное в заголовке соединения в виде белого легкого твердого вещества. СВЭЖХ-МС (условие 6) t_R =1,09 мин, m/z=492,1 [M+H]⁺; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,90-2,02 (м, 1H), 2,02-2,14 (м, 1H), 3,06-3,20 (м, 1H), 3,23-3,48 (м, 4H), 3,61 (с, 3H), 6,35-6,48 (м, 1H), 7,34 (д, J=8,78 Гц, 2H), 7,79-7,90 (м, 1H), 7,89 (д, J=8,80 Гц, 2H), 8,03-8,13 (м, 1H), 8,70-8,83 (м, 1H), 10,26 (с, 1H).

Стадия 36.1. 6-Хлор-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамид

Пинаколовый эфир 1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-бороновой кислоты (9,45 г, 34,0 ммоль), Na_2CO_3 (39,2 мл, 78 ммоль) и $PdCl_2$ (dppf)(0,956 г, 1,307 ммоль) добавляли к 6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-5-йодникотинамиду (стадия 25.2, 12 г, 26,1 ммоль) в DME (160 мл). Из смеси откачивали воздух/продували 3 раза аргоном и перемешивали при 80°С в течение 22 ч. Реакционную смесь разбавляли при помощи EtOAc (350 мл), промывали водой (4×50 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты сушили над Na_2SO_4 и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем, 850 г, EtOAc/н-гексан (1:2)) и кристаллизовали из $Preconstant{Preconstant}$ в виде белого твердого вещества. $Preconstant{Preconstant}$ в $Preconstant{Preconstant}$ в инк, $Preconstant{Preconstant}$ в $Preconstant}$ в Pr

Пример 37. 1-(5-((4-(Хлордифторметокси)фенил)карбамоил)-3-(1H-пиразол-5-ил)пиридин-2-ил)пирролидин-3-карбоновая кислота

Водный 1 М раствор LiOH (0,199 мл, 0,199 ммоль) добавляли в раствор метил 1-(5-((4-(хлордифторметокси)фенил)карбамоил)-3-(1H-пиразол-5-ил)пиридин-2-ил)пирролидин-3-карбоксилата (пример 36, 24,5 мг, 0,05 ммоль) в MeOH (0,5 мл)/ТНF (1 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь обрабатывали 1 М раствором HCl (4 экв.) и органические растворители выпаривали при пониженном давлении. Водную фазу экстрагировали дважды при помощи EtOAc и объединенные экстракты промывали насыщенным солевым раствором, сушили над Na_2SO_4 и растворитель концентрировали при пониженном давлении до объема 0,5 мл. Добавляли н-гептан и продукт фильтровали, промывали н-гептаном и сушили с получением указанного в заголовке соединения в виде бежевого твердого вещества. СВЭЖХ-МС (условие 6) t_R =0,96 мин, m/z=478,3 [M+H] $^+$; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,86-2,12 (м, 2H), 2,90-3,09 (м, 1H), 3,17-3,54 (м, 4H), 6,41 (д, J=2,08 Гц, 1H), 7,34 (д, J=9,05 Гц, 2H), 7,66-7,83 (м, 1H), 7,88 (д, J=9,17 Гц, 2 H), 8,06 (д, J=2,44 Гц, 1H), 8,70-8,84 (м, 1H), 10,23 (с, 1H), 12,90 (уш. с, 1H).

Пример 38. 2-Амино-3-метилбутаноат (S)-(R)-1-(5-((4-(хлордифторметокси)фенил)карбамоил)-3-(1H-пиразол-5-ил)пиридин-2-ил)пирролидин-3-ила

Вос-L-валин (726 мг, 3,34 ммоль) и DMAP (102 мг, 0,836 ммоль) добавляли к смеси (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамида (пример 9, 800 мг, 1,672 ммоль) в DCM (20 мл) и суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Затем добавляли N,N'-диизопропилкарбодиимид (0,521 мл, 3,34 ммоль) и полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 19 ч. Реакционную смесь разбавляли при помощи EtOAc (150 мл), промывали водным насыщенным раствором NaHCO₃ (50 мл) и насыщенным солевым раствором (2×50 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который суспендировали в EtOAc (5 мл), перемешивали при комнатной температуре, фильтровали и промывали при помощи 10 мл EtOAc. Фильтрат упаривали досуха при пониженном давлении и полученое промежуточное соединение растворяли в DCM (15 мл), обрабатывали при помощи TFA (4,09 мл, 53,0 ммоль) и перемешивали при комнатной температуре в течение 92 ч. Растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остаток растворяли в EtOAc (150 мл), промывали водным насыщенным раствором NaHCO₃ (50 мл) и водой (2×50 мл), сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который растворяли в MeOH (20 мл) и обрабатывали при помощи Si-Thiol (Biotage 1,3 ммоль/г, 1 г). К

смеси добавляли силикагель (5 г), растворитель выпаривали при пониженном давлении и остаток очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем RediSep®, 120 г, DCM/MeOH 95:5) с последующей очисткой при помощи препаративной SFC (колонка DEAP; изократическая хроматография 25% в течение 15 мин). Фракции, содержащие чистый продукт, объединяли и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который растворяли в горячем MeOH (4 мл) и фильтровали через PTFE 0,45-мкм фильтр. Фильтрат обрабатывали ультразвуком в течение 5 мин и полученную суспензию белого цвета перемешивали в течение 2 ч при комнатной температуре, фильтровали, промывали при помощи MeOH (1 мл) и сушили с получением указанного в заголовке продукта в виде белого твердого вещества. ВЭЖХ (условие 5) t_R =5,41 мин, СВЭЖХ-МС (условие 3) t_R =0,86 мин, m/z=549,2 [M+H] $^+$; 1 H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d $_6$) δ млн.д. 0,77 (д, J=6,65 Гц, 3H), 0,81 (д, J=6,65 Гц, 3H), 1,51-1,64 (м, 2H), 1,69-1,81 (м, 1H), 1,84-1,94 (м, 1H), 1,98-2,12 (м, 1H), 3,02 (д, J=5,08 Гц, 1H), 3,15 (д, J=12,90 Гц, 1H), 3,30-3,43 (м, 2H), 3,46-3,57 (м, 1H), 5,13-5,25 (м, 1H), 6,39 (уш. с, 1H), 7,31 (д, J=8,21 Гц, 2H), 7,76-7,91 (м, 3H), 8,05 (с, 1H), 8,73 (уш. с, 1H), 10,21 (с, 1H), 12,94 (уш. с, 1H).

Пример 39. (R)-1-(5-((4-(Хлордифторметокси)фенил)карбамоил)-3-(1H-пиразол-5-ил)пиридин-2-ил)пирролидин-3-илдигидрофосфат

TFA (1,227 мл, 15,93 ммоль) добавляли в раствор N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-((R)-3-((3оксидо-1,5-дигидробензо[е][1,3,2]диоксафосфепин-3-ил)окси)пирролидин-1-ил)-5-(1-(тетрагидро-2Hпиран-2-ил)-1Н-пиразол-5-ил)никотинамида (стадия 39.1, 620 мг, 0,7 97 ммоль) в DCM (10 мл) и реакционную смесь перемешивали в течение 20 ч при комнатной температуре. Добавляли дополнительное количество ТҒА (500 мкл) и реакционную смесь перемешивали еще 4 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли при помощи EtOAc (100 мл), обрабатывали насыщенным водным раствором Na₂CO₃ (70 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc (50 мл). Объединенные экстракты промывали насыщенным солевым раствором (50 мл), сушили над Na₂SO₄ и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением остатка, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем, 12 г DCM/EtOH от 9:1 до 4:6). Промежуточное соединение растворяли в MeOH/THF (10 мл смеси 1:1) и гидрировали (60 мг Pd/C 5%, 0,1 бар, 22-25°C, 6,5 ч). Реакционную смесь фильтровали через Нуflo® и растворитель выпаривали при пониженном давлении. Остаток растворяли в смеси MeOH/THF и обрабатывали PL-Thiol MP SPE картриждем (StratospheresTM). Смолу отфильтровывали и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке продукта. ВЭЖХ (условие 5) t_R =5,50 мин, CBЭЖХ-MC (условие 6) t_R =0,76 мин, m/z=530,2 [M+H]⁺; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆,) δ млн.д. 1,88-2,08 (м, 2H), 3,12-3,48 (м, 4H), 4,73 (уш. с, 1H), 6,37-6,44 (м, 1H), 7,33 (д, Ј=8,99 Гц, 2H), 7,76 (c, 1H), 7,87 (д, J=8,99 Гц, 2H), 8,04-8,08 (м, 1H), 8,73-8,78 (м, 1H), 10,21 (с, 1H).

Стадия 39.1. N-(4-(Хлордифторметокси)фенил)-6-((R)-3-((3-оксидо-1,5-дигидробензо[е][1,3,2]диоксафосфепин-3-ил)окси)пирролидин-1-ил)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамид

N,N-Диэтил-1,5-дигидробензо[е][1,3,2]диоксафосфепин-3-амин (355 мг, 1,483 ммоль) добавляли к смеси N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-((R)-3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-пиразол-5-ил)никотинамида (стадия 9.1, 200 мг, 0,371 ммоль) и тетразола в MeCN (8,240 мл, 3,71 ммоль) в сосуде и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакционную смесь охлаждали до 5°C, обрабатывали при помощи TEA (0,775 мл, 5,56 ммоль) и водным раствором H_2O_2 (0,379 мл, 3,71 ммоль) и перемешивали при 0°C в течение 30 мин и еще 3 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь гасили 10% раствором $Na_2S_2O_3$ (20 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc. Объединенные экстракты промывали водой (20 мл) и насыщенным солевым раствором (15 мл), сушили над Na_2SO_4 и растворитель выпаривали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который очищали при помощи флэш-хроматографии (колонка с силикагелем, 12 г DCM/MeOH от 98:2 до 9:1) с получением указанного в заголовке продукта в виде белой пены. BЭЖX (условие 5) t_R =7,3 мин, CBЭЖX-MC (условие 3) t_R =1,18 мин, m/z=716,3 $[M+H]^+$.

Пример 40. (R)-1-(3-(1H-Пиразол-5-ил)-5-((4-(трифторметокси)фенил)карбамоил)пиридин-2-ил)пирролидин-3-ил дигидрофосфат

Указанное в заголовке соединение получали аналогичным образом, как описано в примере 39, с использованием (R)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-3-ил)-N-(4-(трифторметокси) фенил) никотинамида (стадия 2.1) и N,N-диэтил-1,5-дигидробензо[е][1,3,2]диоксафосфепин-3-амина с получением бежевого твердого вещества. ВЭЖХ (условие 5) t_R =5,3 мин, СВЭЖХ-МС (условие 6) t_R =0,75 мин, m/z=514,4 [M+H]⁺; ¹H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ млн.д. 1,88-2,07 (м, 2H), 3,21-3,49 (м, 4H), 4,66-4,76 (м, 1H), 6,41 (д, J=1,96 Гц, 1H), 7,02-7,15 (м, 1H), 7,34 (д, J=8,68 Гц, 2H), 7,77 (с, 1H), 7,87 (д, J=9, 05 Гц, 2H), 8,06 (д, J=2,32 Гц, 1H), 8,75 (д, J=2,32 Гц, 1H), 10,21 (с, 1H).

Пример 41. Фармацевтическая композиция в виде твердой дисперсии.

Фармацевтическая композиция в виде твердой дисперсии может быть получена для соединений по настоящему изобретению, где увеличение их растворимости является эффективным для биодоступности и/или проницаемости.

Фармацевтическую композицию в виде твердой дисперсии получали с использованием аморфной (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5ил)никотинамида (пример 9, см. фиг. 1) с эксципиентами, выбранными из PVP VA64 и Pharmacoat 603. Сначала раствор лля распылительной сушки получали путем смешивания (хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1Н-пиразол-5-ил)никотинамида (пример 9, 2,5 граммов) с PVP VA 64 (3,75 г) и Pharmacoat 603 (3,75 г). Добавляли смесь 50/50 метиленхлорид/этанол, пока все компоненты не растворялись, как показывал чистый раствор, свободный от частиц и мутности (~200 мл). В качестве альтернативы, смесь 50/50 метиленхлорид/этанол можно заменить смесью ацетон/этанол/вода (5:4:1). Сушку распылением осуществляли на минираспылительной сушилке Buchi B290 с температурой на входе 70°C, аспирация при 85%, поток азота при 50 мм рт. ст., накачивание при 15%, и игла для прочистки сопла было нулевой, с получением 5,5 г (55%). Полученная в результате сушки распылением твердая дисперсия содержала 23,6% лекарственной нагрузки (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил) никотинамида (пример 9), 37,5% PVP VA64 и 37,5% Pharmacoat 603. Дисперсия была аморфной с температурой стеклования (T_o) 117°С и содержала приблизительно 1,4% воды, как определяли при помощи термогравиметрического анализа (TGA). Растворение этой твердой дисперсии в рН 1 с последующим переключением рН на 6,8 через 30 мин показало полное растворение при кислотном уровне рН. Дисперсия оставалась полностью растворенной после изменения рН до нейтрального уровня рН.

Дисперсию суспендировали в фосфатно-буферном солевом растворе (PBS) при концентрации 3 мг/мл (в качестве лекарственного средства) в течение 12 ч при комнатной температуре. Не было отмечено кристаллизации, размер частиц D (0,9; диаметр частицы, где 90% частиц ниже этого установленного значения) составил 14,134 с очень однородным и узким распределением частиц по размерам. Лекарственное средство не кристаллизовалось из суспензии, и никакой химической деградации не было отмечено (как оценивали при помощи СВЭЖХ). Суспензия имела химическую чистоту 99,4%, которая соответствовала Т0 чистоте суспензии и самого лекарственного средства.

Усовершенствованные свойства фармацевтической композиции в виде твердой дисперсии (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамида (пример 9) у собаки могут быть продемонстрированы при помощи таблицы фармакокинетических параметров, представленной ниже.

Тип	Твердая	Суспензия
фармацевтической	дисперсия	i
композиции		
Доза [мг/кг]	60	60
AUC [мМ*час] (SD)	671,9	102,9
C _{Max} [HM] (SD)	47127	7314
BAV* [%] (SD)	179,1	27,4
Tmax [час] (SD)	2,00	3,3
Объем введения	5	5
[мл/кг]		
Рангова <i>я</i>	14,2	14,1
экспозиция/с _{Мах}		

Фармацевтическая композиция в виде твердой дисперсии (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил) никотинамида (пример 9) при дозе 60 мг/кг показала в 6,5 раз большую экспозицию, чем кристаллическая суспензия (671,9 против 102,9 мкМ).

Анализы.

Применимость соединений по настоящему изобретению, описанных в настоящей заявке, может быть подтверждена путем испытания в следующих анализах. Соединения по настоящему изобретению оценивали на их способность ингибировать ABL1 активность в биохимических анализах и BCR-ABL1 в клеточных анализах, описанных ниже. Соединения по настоящему изобретению испытывали далее, и было показано, что они являются эффективными in vivo с использованием модели ксенотрансплантата КСL-22.

Биохимические анализы.

Экспрессия и очистка протеинкиназы.

Экспрессию и очистку человеческого ABL осуществляли с использованием стандартных процедур экспрессии и очистки. ABL64-515 белок получали и использовали для in vitro киназных анализов. Белок получали с использованием вектора ко-экспрессии, несущего ДНК фрагменты для ABL1 (1а изоформа, с N-концевой His6-меткой с последующим сайтом расщепления протеазы PreScission) и человеческую протеинтирозинфосфатазу-1В (остатки 1-283, немеченые), с использованием вектора двойной экспрессии pCDF Duet-1 (Novagen). His-ABL экспрессировали в E.coli BL21 (DE3) и ABL белки выделяли Ni-аффинным методом на Ni-NTA колонке (Qiagen). His-метку удаляли при помощи PreScission протеазы (GE Healthcare) и нефосфорилированный ABL дополнительно очищали на Mono Q HR 10/10 (GE Healthcare, монофосфорилированный ABL составляет около 10-20% от общего количества ABL белка) и HiLoad 16/60 Superdex 200 вытеснительной по размеру молекул колонке (GE Healthcare). Нефосфорилированные ABL64-515 белки анализировали при помощи масс-спектроскопического анализа и быстро замораживали в аликвотах, и хранили при -80°C. SRC (аминокислоты 83-535 или Src83-535) экспрессировали и очищали, как описано (S.W. Cowan-Jacob, G. Fendrich, P.W. Manley, W. Jahnke, D. Fabbro, J. Liebetanz, T. Meyer, c-Src crystal structure provides insights into c-Src activation. Structure 13 (2005) 861-871).

Радио ABL1 (64-515) анализ.

Для определения ABL киназной активности использовали радиометрический фильтр-связывающий анализ. Анализ осуществляли путем смешивания 10 мкл соединения, предварительно разбавленного при помощи 10 мкл АТР (20 мкМ АТР с 0,1 мкКи [ү-33Р]-АТР) с фосфо-акцепторным пептидом поли[Ala6Glu2LysHBr5Tyr1] = поли-АЕКҮ) в 20 мМ Tris/HCl pH 7,5, 1 мМ DTT, 10 мМ MgCl₂, 0,01 мМ Na₃VO₄, 50 мМ NaCl. Добавляли 10 мкл фермента (в пределах от 5 до 20 нМ) для инициирования реакции. Пре-инкубацию фермента с соединениями (когда указано) осуществляли, воздействуя на фермент соединениями до добавления смеси субстрата (АТР и/или пептидный субстрат). Через 15 мин при комнатной температуре реакцию останавливали путем добавления 50 мкл 125 мМ ЕДТА и пептидсвязанного 33P, отделенного на фильтровальных планшетах (PVDF или MAIP; Millipore, Volketswil, Switzerland), полученного в соответствии с инструкциями изготовителя. Фильтровальные планшеты промывали 3× при помощи 0,5% H₃PO₄, с последующим добавлением 30 мкл сцинтилляционного коктейля (Microscint, Perkin Elmer) на лунку и затем анализировали в TopCount NXT сцинтилляционном счетчике (Perkin Elmer). Результаты выражали как значения ИК₅₀. К_т значения для ATP определяли путем анализа ABL киназы с увеличивающимися концентрациями АТР, и поддерживая экзогенный акцепторный белковый субстрат (поли-АЕКҮ) при постоянной концентрации (при примерно 2-кратном значении его K_m), и наоборот. K_m и V_{max} рассчитывали в соответствии с Eadie-Hofstee, как описано (D. Fabbro, G. Fendrich, V. Guez, T. Meyer, P. Furet, J. Mestan, J.D. Griffin, P.W. Manley, S.W. Cowan-Jacob, Targeted therapy with imatinib: An exception or a rule? Handbook of Experimental Pharmacology 167, Inhibitors of Protein Kinases and Protein Phosphates (2005) 361-389). Данные использовали для построения графика V против V/S, где V представляет собой скорость реакции при данной концентрации субстрата (S), и строили прямую по точкам с использованием анализа линейной регрессии, где угол наклона линии соответствует - K_m , и Y-отрезок, отсекаемый от координатной оси, представляет собой V_{max} .

Caliper ABL1 (64-515) анализ.

Все анализы осуществляли в 384-луночных микротитровальных планшетах. Каждый аналитический планшет содержал 8-точечные серийные разведения для 40 испытываемых соединений, а также четыре 8-точечных серийных разведения стауроспорина в качестве ссылочного соединения, плюс 16 верхних и 16 нижних контролей. Манипуляции с жидкостями и стадии инкубации осуществляли на рабочей станции Thermo CatX, снабженной Innovadyne Nanodrop Express. Между стадиями пипетирования кончики пипеток очищали с использованием промывочных циклов при помощи промывочного буфера.

Аналитические планшеты подготавливали путем добавления 50 нл на лунку раствора соединения в 90% DMSO. Киназные реакции начинали путем постадийного добавления 4,5 мкл на лунку пептид/АТР-раствора (50 мМ HEPES, pH 7,5, 1 мМ DTT, 0,02% BSA, 0,6% DMSO, 10 мМ бета-глицерофосфата и 10 мкМ ортованадата натрия, 20 мМ MgCl₂, 2 мМ MnCl₂, 4 мкМ ATP, 4 мкМ пептида (FITC-Ahx-EAIYAAPFAKKK-NH2)) и 4,5 мкл на лунку раствора фермента (50 мМ HEPES, pH 7,5, 1 мМ DTT, 0,02% BSA, 0,6% DMSO, 10 мМ бета-глицерофосфата и 10 мкМ ортованадата натрия, 20 мМ MgCl₂, 2 мМ мnCl₂, 3,5 нМ ABL (ABL (64-515), полученного на месте из E. coli)). Киназные реакции инкубировали при 30°C в течение 60 мин и затем останавливали путем добавления 16 мкл на лунку стоп-раствора (100 мМ НЕРЕS рН 7,5, 5% DMSO, 0,1% Caliper реагента покрытия, 10 мМ EDTA и 0,015% Brij35). Планшеты с остановленными киназными реакциями переносили на Caliper LC3000 рабочие станции для считывания. Фосфорилированные и нефосфорилированные пептиды разделяли с использованием Caliper микрофлюидизированного метода сдвига подвижности. Вкратце, образцы из остановленных киназных реакций наносили на чип. Транспорт аналитов через чип осуществляли при помощи постоянного буферного потока и миграцию пептидного субстрата отслеживали по сигналу флуоресценции его метки.

Фосфорилированный пептид (продукт) и нефосфорилированный пептид (субстрат) разделяли в электрическом поле на основании их отношения заряд/масса. Киназные активности рассчитывали из количеств образованного фосфопептида. Значения ИК₅₀ определяли из процентов ингибирования при различных концентрациях соединения с использованием анализа нелинейной регрессии.

Получение разведений соединений: испытываемые соединения растворяли в DMSO (10 мМ) и переносили в 1,4-мл плоскодонные или V-образные Matrix пробирки, содержащие уникальную 2D матрицу. Исходные растворы хранили при +2°C, если не использовали непосредственно сразу. Для процедуры испытания сосуды размораживали и идентифицировали при помощи сканера, получая, таким образом, рабочий лист, который направлял последующие рабочие стадии.

Разведения соединений получали в 96-луночных планшетах. Этот формат позволял осуществить анализ максимально 40 отдельных испытываемых соединений при 8 концентрациях (отдельные точки), включая 4 ссылочных соединения. Протокол разведения включал получение "планшетов предразведения", "эталонных планшетов" и "аналитических планшетов".

Планшеты предразведения: полипропиленовые 96-луночные планшеты использовали в качестве планшетов предразведения. Всего было получено 4 планшета предразведения, включающих 10 испытываемых соединений, каждое в положениях планшета A1-A10, одно стандартное соединение в положении All и один DMSO контроль в положении A12. Все стадии разведения осуществляли на робототехническом устройстве HamiltonSTAR.

Эталонные планшеты: 30 мкл индивидуальных разведений соединений, включая стандартное соединение и контроли из 4 "планшетов предразведения", переносили в 384-луночный "эталонный планшет", включая следующие концентрации: 1'810, 362, 72,5, 54,6, 14,5, 2,9, 0,58 и 0,12 мкМ соответственно в 90% DMSO.

Аналитические планшеты: затем получали идентичные "аналитические планшеты" путем добавления через пипетку 50 нл каждого из разведений соединений из "эталонных планшетов" в 384-луночные "аналитические планшеты" с использованием 384-канального дозирующего устройства HummingBird. Эти планшеты использовали непосредственно для анализа, который осуществляли в общем объеме 9,05 мкл. Это приводило к конечной концентрации соединения 10, 2,0, 0,4, 0,08, 0,016, 0,0032, 0,00064 и 0,000128 мкМ и конечной DMSO концентрации 0,5% в анализе.

Клеточные анализы.

Для оценки способности соединений по настоящему изобретению ингибировать BCR-ABL1 активность в клеточных анализах соединения оценивали на их способность селективно ингибировать пролиферацию клеток, зависящих от BCR-ABL1 экспрессии, по сравнению с клетками, которые не зависят от BCR-ABL1 экспрессии.

Происходящую из костного мозга мыши клеточную линию Ba/F3 использовали для получения подходящих моделей клеточной линии. Ba/F3 клетки получали от German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ, Braunschweig and DSMZ No. ACC 300). Родительские Ba/F3 клетки зависят от IL3 для роста и выживания, и их использовали в качестве контрольной клеточной линии, которая не зависит от BCR-ABL1 активности для роста и выживания. Эти клетки указаны как Ba/F3-WT.

Для получения Ba/F3 клеток, которые зависят от BCR-ABL1 экспрессии для роста и выживания, биотехнологическими методами были получены Ba/F3 клетки для экспрессии BCR-ABL1 с использованием ретровирусной трансдукции с ретровирусным вектором на основе MSCV, содержащим p210 BCR-ABL1 экспрессирующую кассету. При росте в отсутствие IL-3 пролиферация клеток зависит от экспрессии BCR-ABL1. (Daley, G.Q. and Baltimore, D. Transformation of an interleukin 3-dependent hematopoietic cell line by the chronic myeloid leukemia-specific p210 BCR-ABL1 protein. PNAS 1988; 85:9312-9316). Эти клетки указаны как Ba/F3-BCR-ABL-WT. Подобный подход использовали для получения Ba/F3 клеток, которые зависят от BCR-ABL1 варианта, в котором треонин 315 заменен изолейцином. Эти клетки указаны как Ba/F3-BCR-ABL-T315I.

Ba/F3-WT клетки поддерживали в RPMI1640 среде с L-глутамином, HEPES (Lonza), 10% FBS (Gibco) и 5 нг/мл IL-3 (Calbiochem). Ba/F3-BCR-ABL1-WT клетки и Ba/F3-BCR-ABL1-T315I клетки поддерживали в RPMI1640 среде с L-глутамином, HEPES (Lonza) и 10% FBS (Gibco).

Анализ пролиферации.

Для каждой клеточной линии плотность клеток доводили до 50 000 клеток/мл и 50 мкл (2500 клеток) добавляли в каждую лунку 384-луночного аналитического планшета.

Испытываемые соединения ресуспендировали в DMSO при концентрации 10 мМ. Серийное трехкратное разведение каждого соединения при помощи DMSO осуществляли в 384-луночных планшетах с использованием Janus Liquid Dispenser (Perkin Elmer). Соединение распределяли в аналитические планшеты, содержащие 2500 клеток в 50 мкл объеме, через акустическу доставку из ATS-100 (EDC). Для Ва/F3-BCR-ABL1-WT клеточных анализов 2 нл каждого разведения соединения переносили в аналитический планшет с получением конечных анализируемых концентраций 0,4, 0,13, 0,044, 0,015, 0,005, 0,001, 0,00033, 0,00011, 0,000037, 0,000012 мкМ. Для Ва/F3-WT и Ва/F3-BCR-ABLI-T3151 клеточных анализов 50 нл каждого разведения соединения переносили в аналитический планшет с получением конечных анализируемых концентраций 10, 3,33, 1,11, 0,37, 0,12, 0,041, 0,014, 0,0046, 0,0015, 0,00051 мкМ.

Клетки инкубировали при 37° С в увлажненной атмосфере 5% диоксида углерода в течение 48 ч. Вritelite плюс раствор (Perkin Elmer) получали в соответствии с инструкциями изготовителя и 25 мкл добавляли в каждую лунку аналитического планшета. Планшеты инкубировали в течение 3-5 мин и люминесценцию определяли на Envision Multimode планшет-ридере (Perkin Elmer). Степень люминесценции коррелирует с количеством клеток в каждой лунке. Поэтому можно рассчитать эффект каждой концентрации ингибитора и получить значения $ИK_{50}$.

Соединения по настоящему изобретению демонстрируют значения UK_{50} в пределах от 0,1 до 12 нМ для ингибирования ABI киназной активности в радиометрическом анализе фильтр-связывания (Radio). Для микрофлюидизированных анализов сдвига подвижности (Caliper) значения UK_{50} находятся в пределах от 0,1 до 10 нМ. Для анализов Ba/F3-BCR-ABL-WT и T315I клеточной пролиферации UK_{50} значения находятся в пределах от 0,8 до 110 нМ и от 13 нМ до 4,2 мкМ соответственно.

024391

Таблица биохимических данных

Пример	Radio ABL1 (64-515) MK ₃₀ [MRM]	Catiper ABL1 (64-515) IIK 10 [MtM]	Пример	Radio ABL1 (64-515) IIK ₃₀ [mkM]	Caliper ABL1 (64-515) IK _{S0} [MM]
1	< 0.003	0.0022	21	0.001	0,0013
2	0.004	100.0	22	0.006	< 0.00064
3	0.004	0.0007	23	0.007	0,0005
4	0.0034	0.0013	24	0.005	0.0004
5	0.007	0.0012	25	0.001	0.0007
6	0.003	0.0032	26	0.012	0.0104
7	< 0.003	0.0004	27	0.002	0.0011
8	0.0019	0.0004	28	0.0028	0.0019
9	0.0024	0.0003	29	0.009	0.0009
10	< 0.00013	0.0003	30	0.0004	0.0043
11	< 0.003	< 0.00013	31	100.0	0.0025
12	0.006	0.0005	32	0.003	0.013
13	0.01	0.0006	33	0.0060	0.0006
14	0.01	0.0009	34	0.0020	0.0041
15	0.011	0.0003	35		0.0004
16	0.012	< 0.00013	36		0.0021
17	0.003	0.0024	37		0.0005
18	0.002	0.0002	38	0.0040	0.0025
19	0.005	0.0018	39	0.0030	0.0013
20	0.0013	0.0004	40		0.0021

Таблица данных клеточной пролиферации Ba/F3-BCR-ABL-WT и T315I

Пример	Ba/F3-BCR-ABL1-WT1Ks,0 [McM]	Ba/F3-BCR-ABLI- T3151MKo [mkM]	Пример	Ba/F3-BCR-ABLI- WT EKso [mcM]	Ba/F3-BCR-ABL1- T315I/RKo [med]
2	0.0048	0.135	18	0.0015	0.032
3	0.0075	0.133	19	0.0135	0.236
4	0.0117	0.327	21	0.004	0.149
5	0.0081	0.134	23	0.0017	0.042
7	0.0060	0.132	24	0.0011	0.022
8	0.0022	0.065	25	0.0011	0.023
9	0.0015	0.035	26	0.0090	0.227
10	0.0019	0.044	28	0.0075	0.150
11	0.001	0.038	30	0.0318	0.715
12	0.0019	0.038	31	0.0041	0.133
13	0.0096	0.150	33	0.0015	0.032
14	0.0189	0.218	34	0.0150	0.212
15	0.0019	0.031	35	0.0008	0.013
16	0.0041	0.092	36	0.0019	0.071
17	0.0155	0.199			

Эффективность in vivo в модели ксенотрансплантата KCL-22 - лечение одним средством.

Соединения по настоящему изобретению вводили перорально мышиной модели ксенотрансплантата КСL-22 в течение 7 дней. 6-8-недельным самкам безтимусных мышей, приобретенным у Harlan (Indianapolis IN), имплантировали подкожно 5×10^6 КСL-22 клеток 50% в матригеле (BD Biosciences, #354234) в правую дорсальную подмышечную область. Медикаментозное лечение начинали, когда объем опухоли достигал в среднем 238 мм 3 (10 дней после имплантации опухоли). Соединения по настоящему изобретению в фосфатном буферном солевом растворе получали раз в неделю и дозировали через желудочный зонд при дозе 3-30 мг/кг дважды в день (п=6 мышей на уровень дозы). Объем опухоли определяли дважды в неделю цифровым измерителем диаметра и рассчитывали как длина 2 /2.

Соединения по настоящему изобретению показали статистически значимые регрессии. Например, доза 3 мг/кг два раза в день (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1Н-пиразол-5-ил)никотинамида (пример 9) привела к ингибированию роста опухоли на 45% по сравнению с мышами, обработанными растворителем, в то время как наблюдали регрессии 56, 88 и 92% при дозах 7,5, 15 и 30 мг/кг при дозировании два раза в день соответственно. В качестве положительного контроля нилотиниб вводили при дозе 75 мг/кг два раза в день, что приводило к регрессии опухоли 82% (фиг. 2).

Эффективность in vivo в модели ксенотрансплантата KCL-22 -лечение двумя средствами.

6-8-недельным самкам безтимусных мышей, приобретенным у Harlan (Indianapolis IN), имплантировали подкожно 2×10^6 KCL-22 клеток в 50% матригеле (BD Biosciences, #354234) в правую дорсальную подмышечную область. Медикаментозное лечение начинали, когда объем опухоли достигал в среднем 189 мм³ (9 дней после имплантации опухоли). Соединения по настоящему изобретению в фосфатном буферном солевом растворе получали раз в неделю и дозировали через желудочный зонд при дозе 30 мг/кг дважды в день и раствор нилотиниба вводили при 75 мг/кг два раза в день. Животные получали либо только одно средство, либо комбинацию обоих средств одновременно. Объем опухоли определяли дважды в неделю цифровым измерителем диаметра и рассчитывали как длина \times ширина \times ширина \times поровым измерителем диаметра и рассчитывали как длина \times ширина \times поровым измерителем диаметра и рассчитывали как длина \times ширина \times поровым измерителем диаметра и рассчитывали как длина \times ширина \times поровым измерителем диаметра и рассчитывали как длина \times ширина \times поровым измерителем диаметра и рассчитывали как длина \times ширина \times поровым измерителем диаметра и рассчитывали как длина \times ширина \times поровым измерителем диаметра и рассчитывали как длина \times ширина \times поровым измерителем диаметра и рассчитывали как длина \times ширина \times порование и поровым измерителем диаметра и рассчитывали как длина \times ширина \times порование и поровани

Животные, которых лечили только нилотинибом, достигали >84% регрессии опухоли после 4недельного ежедневного лечения, но в большинстве случаев после этого вновь возникали опухоли >500 мм³. Животные с нилотинибрезистентными опухолями затем получали ежедневное лечение соединением примера 9, и продолжался мониторинг ответа опухоли (фиг. 3).

Животные, которых лечили нилотинибом и соединением примера 9 одновременно, демонстрировали полную регрессию опухоли у всех животных к концу исследования (фиг. 4).

Должно быть понятно, что примеры и варианты воплощения, описанные в настоящей заявке, предназначены только для иллюстративных целей и что различные модификации или изменения в свете этих примеров и вариантов воплощения будут подсказаны специалистам в данной области и включены, по сути, в объем настоящей заявки и объем прилагаемой формулы изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I)

$$R_4$$
 N
 R_1
 R_2
 R_3
 R_1
 R_2

где R_1 представляет собой пиразолил; где указанный пиразолил является незамещенным или замещен 1 группой R_6 ;

 R_2 представляет собой пирролидинил; где указанный пирролидинил замещен одной группой R_7 ;

R₃ выбирают из водорода и галогена;

R₄ выбирают из -SF₅ и -Y₂-CF₂-Y₃;

 R_6 в каждом случае независимо выбирают из водорода, метила, трифторметила, галогена;

 R_7 выбирают из гидрокси, метила, гидроксиметила, (2-амино-3-метилбутаноил)окси, карбокси, метоксикарбонила и фосфоноокси;

Ү представляет собой СН;

Y₁ выбирают из СН и N;

Y₂ выбирают из CF₂, O и S(O)₀ и

Уз выбирают из хлора, фтора и трифторметила;

или его фармацевтически приемлемые соли.

2. Соединение по п.1 формулы (Ib)

где R_3 выбирают из водорода и галогена;

 R_4 выбирают из -SF₅ и -Y₂-CF₂-Y₃;

 R_6 , когда связан с азотом пиразолильного кольца, выбирают из водорода, метила и R_6 , когда связан с атомом углерода пиразолильного кольца, выбирают из водорода, метила, трифторметила и галогена;

 R_7 выбирают из гидрокси, метила, гидроксиметила, (2-амино-3-метилбутаноил)окси, карбокси, метоксикарбонила и фосфоноокси;

Y₁ выбирают из СН и N;

 Y_2 выбирают из CF_2 , O и $S(O)_0$;

 Y_3 выбирают из фтора, хлора и трифторметила;

или его фармацевтически приемлемые соли.

3. Соединение по п.2 формулы (Іс)

где R₃ выбирают из водорода и галогена;

R₄ выбирают из -SF₅ и -Y₂-CF₂-Y₃;

 R_6 , когда связан с азотом пиразолильного кольца, выбирают из водорода, метила и R_6 , когда связан с атомом углерода пиразолильного кольца, выбирают из водорода, метила, трифторметила и галогена;

 R_7 выбирают из гидрокси, метила, гидроксиметила, (2-амино-3-метилбутаноил)окси, карбокси, метоксикарбонила и фосфоноокси;

Y₁ выбирают из СН и N;

 Y_2 выбирают из CF_2 , O и $S(O)_0$;

Y₃ выбирают из фтора, хлора и трифторметила;

или его фармацевтически приемлемые соли.

4. Соединение по п.3 или его фармацевтически приемлемая соль, выбранное из

5. Соединение по п.3 или его фармацевтически приемлемая соль, выбранное из

012020	F>0 0 HV-N
CI X N N N N N N N N N N N N N N N N N N	FY ON HANN
CI THE	FF O O HN-N
CIX ON THE TANK ON	CI X O HIN-N
CI XO DI STATE OH	FYS CHANNAN NOH
F T S HN-N	E Y S C N N N N N N N N N N N N N N N N N N
FTS N N NN NOH	LACTURE CHANGE
F. F. F. S.	F F N N N NOH
**************************************	CI XS IN NOH
Ho. Children was a second and a second a second and a second a second and a second	E TO NEW TON
PAC HN.N.	F ² Ci Chilling HN-N
ST Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z Z	F CI NH HN-N O'P OH
FF O O OH	

6. Соединение по п.3 или его фармацевтически приемлемая соль, выбранное из

CI X 0 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1	LA CONTRACTOR OF THE PROPERTY
CI XO NOH	LACT HAND ON NOW
E T T T T T T T T T T T T T T T T T T T	The state of the s
CI NOH	NH HN-N F F
CI XO JUNION	FYOTO HILL NOOH
CI X O N N N N N N N N N N N N N N N N N N	C1 X 0 Y 1 Y 1 Y 1 Y 1 Y 1 Y 1 Y 1 Y 1 Y 1 Y

7. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, которое представляет собой

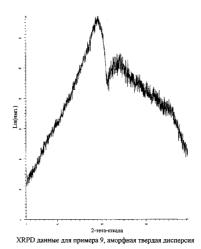
8. Соединение, выбранное из

, выоранное из	
CI X O O N N N N N N N N N N N N N N N N N	CI XO DE Br
CI XO N STATE OF THE STATE OF T	но Тити пон
о	O Br NOH

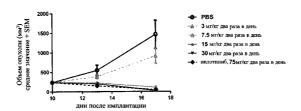
- 9. Соединение по п.1, которое представляет собой (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид или его фармацевтически приемлемую соль.
 - 10. Фармацевтическая композиция, содержащая аморфную дисперсию (R)-N-(4-

(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамида и 1-2 эксципиента, выбранных из PVP VA64 и Pharmacoat 603.

- 11. Композиция по п.10, где процентное содержание Pharmacoat 603 находится в диапазоне от 30 до 45%, процентное содержание PVP VA64 находится в диапазоне от 30 до 45% и процентное содержание (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамида находится в диапазоне от 20 до 30%.
- 12. Композиция по п.11, где процентное содержание Pharmacoat 603 составляет 37,5%, процентное содержание PVP VA64 составляет 37,5% и процентное содержание (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамида составляет 25%.
- 13. Способ лечения пациента, имеющего лейкоз, выбранный из хронического миелоидного лейкоза (СМL) и острого лимфобластного лейкоза (ALL), включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамида или его фармацевтически приемлемой соли и необязательно последовательное или одновременное введение терапевтически эффективного количества соединения, выбранного из иматиниба, нилотиниба, дазатиниба, босутиниба, понатиниба и бафетиниба.
- 14. Способ по п.13, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамида или его фармацевтически приемлемой соли.
- 15. Способ по п.13, включающий последовательное введение терапевтически эффективного количества соединения (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамида или его фармацевтически приемлемой соли и последовательное введение терапевтически эффективного количества соединения, выбранного из иматиниба, нилотиниба, дазатиниба, босутиниба, понатиниба и бафетиниба.
- 16. Способ по п.13, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамида или его фармацевтически приемлемой соли и одновременное введение терапевтически эффективного количества соединения, выбранного из иматиниба, нилотиниба, дазатиниба, понатиниба и бафетиниба.
- 17. Способ по п.16, где (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид вводят при дозе в пределах 90-130 мг/кг.
 - 18. Способ по п.17, где нилотиниб вводят при дозе 10-50 мг/кг.
 - 19. Способ по п.18, где иматиниб вводят при дозе 50-200 мг/кг.
- 20. Применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли по любому одному из пп.1-7 и 9 для лечения рака.
- 21. Применение по п.20, где рак представляет собой лейкоз, выбранный из хронического миелоидного лейкоза и острого лимфобластного лейкоза.
- 22. Применение по п.20 или 21 вместе с дополнительным соединением, выбранным из иматиниба, нилотиниба, дазатиниба, босутиниба, понатиниба и бафетиниба.
- 23. Применение по п.22 для последовательного или одновременного введения с указанным дополнительным соединением, где указанное дополнительное соединение представляет собой нилотиниб.
- 24. Применение по любому одному из пп.20-23, где соединение представляет собой (R)-N-(4-(хлордифторметокси)фенил)-6-(3-гидроксипирролидин-1-ил)-5-(1H-пиразол-5-ил)никотинамид или его фармацевтически приемлемую соль.
- 25. Применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли по п.1 в получении лекарственного средства для лечения рака.
- 26. Применение по п.25, где рак представляет собой лейкоз, выбранный из хронического миелоидного лейкоза и острого лимфобластного лейкоза.

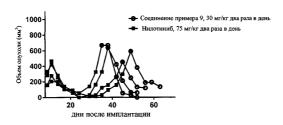


Фиг. 1



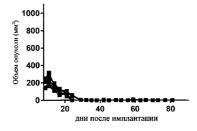
Животные с подкожными КСL-22 ксенотрансплантатами получали ежедневное лечение соединением примера 9. Продемонстрирована дозозависимая противоопухолевая активность.

Фиг. 2



КСІ.-22 клетки выращивали в качестве подкожных ксенотрансплантатов, и четыре животных получали дозу 75 мг/кг Нилотиниба ВІD (два раза в день). Когда у опухолей развивалась резистентность к лечению Нилотинибом, дозировку изменяли до 30 мг/кг соединения примера 9 два раза в день. Лечение нилотинибрезистентных опухолей соединением примера 9 привело к регрессии опухолей. Каждая линия представляет отдельное животное.

Фиг. 3



Животным с подкожными КСL-22 ксенотрансплантатами вводили комбинацию 30 мг/кг соединения примера 9 два раза в день и 75 мг/кг Пилотиниба два раза в день Каждая линия представляет отдельное животное. Полиую регрессию опухоли наблюдали у всех животивых и поддерживали до конца исследования.

Фиг. 4



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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