

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 038912

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.11.09

(21) Номер заявки
202090413

(22) Дата подачи заявки
2018.07.31

(51) Int. Cl. C07D 403/12 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61K 31/416 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)

(54) ПИРАЗОЛО- И ТРИАЗОЛОБИЦИКЛИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ
ИНГИБИТОРОВ JAK КИНАЗЫ

(31) 62/539,642

(32) 2017.08.01

(33) US

(43) 2020.06.30

(86) PCT/US2018/044508

(87) WO 2019/027960 2019.02.07

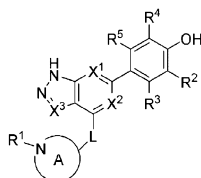
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ТЕРЕВАНС БАЙОФАРМА Ар энд Ди
АйПи, ЭлЭлСи (US)

(56) WO-A1-2016178110

(72) Изобретатель:
Фенстер Эрик, Лэм Том М., Лу
Менди, Маккиннелл Роберт Мюррей,
Палермо Энтони Франческо, Вонг
Диана Джин, Фрага Брина, Нзерем
Джерри, Дэброс Марта, Таллади
Венкат Р., Рапта Мирослав (US)

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

(57) Изобретение предоставляет соединения формулы (I):



(I)

или их фармацевтически приемлемые соли, где переменные определены в описании, которые являются ингибиторами JAK киназ, в частности JAK3. Изобретение также предоставляет кристаллические формы, фармацевтические композиции, содержащие такие соединения, способы применения таких соединений для лечения желудочно-кишечных и других воспалительных заболеваний и способы и промежуточные соединения, пригодные для получения таких соединений.

B1

038912

038912

B1

Уровень техники

Область техники

Изобретение относится к пиразоло- и триазолобидиклическим соединениями, пригодным в качестве ингибиторов JAK киназы, и более конкретно, в качестве ингибиторов JAK3, которые селективны к JAK3 по сравнению с другими членами семейства JAK киназ, такими как JAK1, JAK2 и TYK2. Изобретение также относится к кристаллическим формам, фармацевтическим композициям, содержащим такие соединения, способам применения таких соединений для лечения воспалительных заболеваний и способам и промежуточным соединениям, пригодным для получения таких соединений.

Уровень техники

Язвенный колит является хроническим воспалительным заболеванием толстой кишки. Заболевание характеризуется воспалением и изъязвлением слизистого слоя прямой кишки и толстой кишки. Общие симптомы включают диарею, кровавый стул и боль в животе. Клиническое течение носит прерывистый характер, отмеченный чередующимися периодами обострения и ремиссии. Заболеваемость в развитых странах выше, чем в развивающихся. По оценкам 1,2 млн человек в крупных промышленно развитых странах страдают от язвенного колита и ожидается, что их число будет расти вместе с ростом населения. Пациенты с язвенным колитом имеют повышенный риск развития рака прямой и ободочной кишки, (например, Danese et al. N Engl J Med, 2011, 365, 1713-1725). Несмотря на то, что существует множество терапевтических вариантов для стимулирования и поддержания ремиссии язвенного колита (ЯК) у пациентов, ни один из них не является идеальным. До сих пор существует неудовлетворенная медицинская потребность в эффективной терапии, способствующей и поддерживающей ремиссию ЯК от умеренного до тяжелого, не вызывая проблем безопасности, возникающих в результате хронической системной иммунодепрессии.

Хотя точный патогенез ЯК неясен, предполагают, что провоспалительные цитокины играют ключевую роль в иммунологической реакции (Strober et al., Gastroenterol, 2011, 140, 1756-1767). Многие провоспалительные цитокины, наиболее часто повышенные при ЯК (например, IL-4, IL-6, IL-13, IL-15, IL-23, IL-24, IFN γ и лептин), зависят от семейства JAK тирозинкиназ (т.е., JAK1, JAK2, JAK3 и Tyk2) для трансдукции сигнала.

Ингибирование фермента JAK3 блокирует передачу сигналов многих ключевых провоспалительных цитокинов. Таким образом, ингибиторы JAK3 могут быть полезны при лечении язвенного колита и других желудочно-кишечных воспалительных заболеваний, таких как болезнь Крона и колит, вызванный ингибитором иммунной контрольной точки. Ингибиторы JAK3 также могут быть полезны для лечения воспалительных заболеваний кожи, таких как атопический дерматит, и воспалительных респираторных заболеваний, таких как аллергический ринит, астма и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ). Кроме того, ингибиторы JAK3 также могут быть полезны при лечении многих глазных заболеваний, в которых воспаление играет важную роль, таких как увеит, диабетическая ретинопатия, диабетический отек желтого пятна, болезнь сухого глаза, возрастная дегенерация желтого пятна, окклюзия вены сетчатки (ОВС) и атопический кератоконъюнктивит.

Предполагается, что селективность в отношении JAK3 по сравнению с JAK1 будет благоприятной, поскольку имеются доказательства того, что селективность JAK3 позволяет сэкономить потенциально полезные цитокины, такие как IL-10, который участвует в заживлении слизистой оболочки, IL-22, который участвует в защите слизистого барьера и регенерации эпителия, и IL-6, который участвует в пролиферации кишечных эпителиальных клеток. Селективность в отношении JAK3 по сравнению с JAK2 также позволяет сэкономить передачу сигналов эритропоэтина (ЭПО) и тромбопоэтина (ТПО). Поэтому было бы желательно предоставить новые соединения, которые являются селективными ингибиторами JAK3 по сравнению с другими членами семейства JAK киназ, такими как JAK1, JAK2 и TYK2.

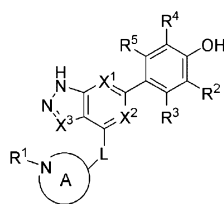
Наконец, из-за модулирующего эффекта пути JAK/STAT на иммунную систему, системное воздействие ингибиторов JAK может оказывать неблагоприятное системное иммунодепрессивное действие. Поэтому было бы желательно обеспечить новые ингибиторы JAK3, которые оказывают свое действие в месте действия без значительных системных эффектов. В частности, для лечения желудочно-кишечных воспалительных заболеваний, таких как язвенный колит, было бы желательно предоставить новые ингибиторы JAK3, которые могут вводиться перорально и достигать терапевтически значимого воздействия в желудочно-кишечном тракте с минимальным системным воздействием. Для кожных заболеваний было бы желательно обеспечить новые ингибиторы JAK3, которые могут быть введены местно в кожу с минимальным системным воздействием.

Следовательно, было бы желательно предоставить новые соединения, которые являются селективными ингибиторами JAK3 по сравнению с другими членами семейства JAK киназ, такими как JAK1, JAK2 и TYK2, и оказывают минимальное системное воздействие.

Сущность изобретения

В одном аспекте изобретение предоставляет новые соединения, обладающие активностью ингибиторов JAK киназы, и более конкретно ингибиторов JAK3.

Следовательно, изобретение предоставляет соединение формулы (I)

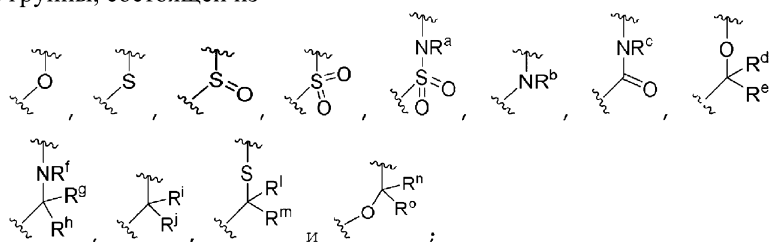


(I)

или его фармацевтически приемлемую соль, где X^1 и X^2 , каждый независимо, выбирают из N и CH; X^3 выбирают из группы, состоящей из N, CH, C-CH₃, C-CF₃, C-CHF₂, C-CH₂-O-CH₃, C-SMe, C-NMe₂, C-NH-CH₃-C-Cl, C-CN, и C-OMe;



выбирают из группы, состоящей из



R^a , R^b , R^c и R^f , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и C₁₋₃ алкила; R^d , R^e , R^g , R^h , R^i , R^j , R^l , R^m , R^n и R^o , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и C₁₋₃ алкила, где C₁₋₃ алкильная группа может быть необязательно замещена 1-3 атомами галогена; необязательно R^d и R^e могут быть объединены с образованием циклопропильного кольца;

A выбирают из группы, состоящей из

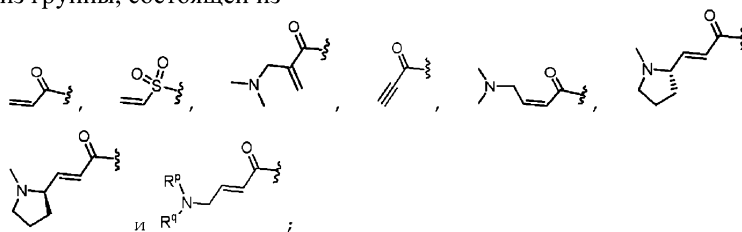
(a) 4-10-членной моноциклической гетероциклической группы, содержащей один атом азота и, необязательно, содержащей один дополнительный гетероатом, выбранный из N, S, S(O)₂ и O, и

(b) 6-10-членной полициклической гетероциклической группы, содержащей один атом азота и, необязательно, содержащей один дополнительный гетероатом, выбранный из N, S и O,

где L связан с атомом углерода в A и A необязательно замещен 1-3 R^k группами;

каждый R^k независимо выбирают из группы, состоящей из F, CN, C₁₋₃алкокси, циклопропила и C₁₋₃алкила, где C₁₋₃алкильная группа может быть необязательно замещена OH, OMe или 1-3 атомами галогена;

R^1 выбирают из группы, состоящей из



где R^p и R^4 , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H, C₃₋₅ циклоалкила и C₁₋₆алкила, где C₁₋₆алкильная группа может быть необязательно замещена 1-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из C₁₋₃алкокси и -S-C₁₋₃алкила,

или R^p и R^4 образуют 4-6-членную моноциклическую гетероциклическую группу, содержащую один атом азота и необязательно содержащую один дополнительный гетероатом, выбранный из N, S и O, где 4-6-членная моноциклическая гетероциклическая группа необязательно замещена 1-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из C₁₋₆алкила, C₁₋₃алкокси, -S-C₁₋₃алкила и -C₁₋₃алкил-C₁₋₃алкокси;

R^2 выбирают из группы, состоящей из H, Cl, OMe, Me и F;

R^3 выбирают из группы, состоящей из H и F;

R^4 выбирают из группы, состоящей из H и F; и

R^5 выбирают из группы, состоящей из H, Me и F.

В описании также представлены некоторые кристаллические формы определенных соединений, форма 1, форма 2, форма 2b, форма 3 и форма 4.

Изобретение также предоставляет фармацевтическую композицию, содержащую соединение в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль, или кристаллическую форму в соответствии с данным изобретением, и фармацевтически приемлемый носитель.

Изобретение также предоставляет способ лечения желудочно-кишечного воспалительного заболе-

вания, в частности язвенного колита, у млекопитающего, где способ включает введение млекопитающему соединения в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемой соли, или кристаллической формы в соответствии с данным изобретением, или фармацевтической композиции в соответствии с данным изобретением.

Изобретение также предоставляет способ лечения воспалительных заболеваний или расстройств кожи у млекопитающего, где способ включает нанесение соединения в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемой соли, или

кристаллической формы в соответствии с данным изобретением, или

фармацевтической композиции в соответствии с данным изобретением на кожу млекопитающего.

Изобретение также предоставляет способ лечения кожной Т-клеточной лимфомы у млекопитающего, где способ включает нанесение фармацевтической композиции, содержащей соединение в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль, на кожу млекопитающего.

В другом аспекте, изобретение также предоставляет способ, описанный в соответствии с данным изобретением, который применяют для получения соединений в соответствии с данным изобретением.

Изобретение также предоставляет соединение в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль, как описано здесь, для применения в медицинской терапии, а также применение соединения в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемой соли или его кристаллической формы, в производстве состава или лекарственного средства для лечения желудочно-кишечного воспалительного заболевания или воспалительного заболевания кожи у млекопитающего.

Краткое описание чертежей

Различные аспекты данного изобретения иллюстрированы со ссылкой на прилагаемые чертежи.

На фиг. 1 показано изображение порошковой рентгеновской дифракции (ПРД) кристаллической формы 1 соединения 3 (далее форма 1).

На фиг. 2 показана термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) кристаллической формы 1.

На фиг. 3 показан график теплового гравиметрического анализа (ТГА) кристаллической формы 1.

На фиг. 4 показана изотерма динамической сорбции влаги (ДСВ) кристаллической формы 1, наблюдаемая при температуре около 25°C.

На фиг. 5 показано изображение порошковой рентгеновской дифракции (ПРД) кристаллической формы 2 соединения 3 (далее форма 2).

На фиг. 6 показана термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) кристаллической формы 2.

На фиг. 7 показан график теплового гравиметрического анализа (ТГА) кристаллической формы 2.

На фиг. 8 показана изотерма динамической сорбции влаги (ДСВ) кристаллической формы 2, наблюдаемая при температуре около 25°C.

На фиг. 9 показано изображение порошковой рентгеновской дифракции (ПРД) кристаллической формы 3 соединения 1 (далее форма 3).

На фиг. 10 показана термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) кристаллической формы 3.

На фиг. 11 показан график теплового гравиметрического анализа (ТГА) кристаллической формы 3.

На фиг. 12 показана изотерма динамической сорбции влаги (ДСВ) кристаллической формы 3, наблюдаемая при температуре около 25°C.

На фиг. 13 показано изображение порошковой рентгеновской дифракции (ПРД) кристаллической формы 4 соединения 1 (далее форма 4).

На фиг. 14 показана термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) кристаллической формы 4.

На фиг. 15 показан график теплового гравиметрического анализа (ТГА) кристаллической формы 4.

На фиг. 16 показана изотерма динамической сорбции влаги (ДСВ) кристаллической формы 4, наблюдаемая при температуре около 25°C.

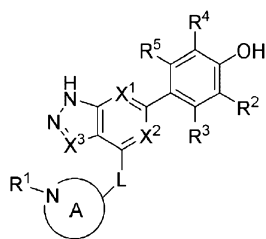
На фиг. 17 показано изображение порошковой рентгеновской дифракции (ПРД) дегидратированной кристаллической формы соединения 3 (далее форма 2b).

Подробное описание изобретения

Среди других аспектов изобретение предоставляет ингибиторы JAK киназы формулы (I), которые являются селективными для JAK3 по отношению к другим членам семейства JAK киназ, таким как JAK1, JAK2 и TYK2, их фармацевтически приемлемые соли и промежуточные соединения для их получения.

В одном аспекте изобретение предоставляет новые соединения, обладающие активностью ингибиторов JAK киназы и, более конкретно, ингибиторов JAK3.

Следовательно, изобретение предоставляет соединение формулы (I)

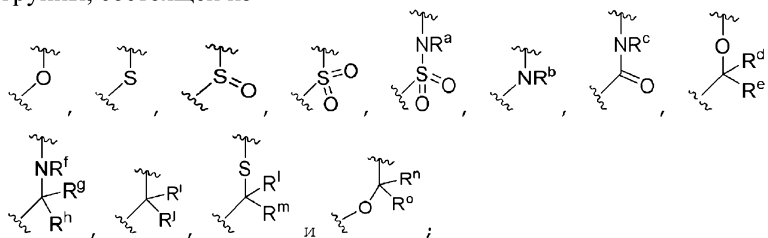


(I)

или его фармацевтически приемлемая соль, где X^1 и X^2 , каждый независимо, выбирают из N и CH; X^3 выбирают из группы, состоящей из N, CH, C-CH₃, C-CF₃, C-CHF₂, C-CH₂-O-CH₃, C-SMe, C-NMe₂, C-NH-CH₃, C-Cl, C-CN, и C-OMe;



выбирают из группы, состоящей из

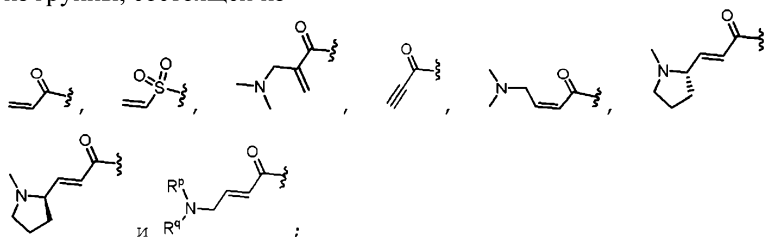


R^a , R^b , R^c и R^f , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и C₁₋₃ алкила;
 R^d , R^e , R^g , R^h , R^i , R^j , R^l , R^m , R^n и R^o , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и C₁₋₃ алкила, где C₁₋₃ алкильная группа может быть необязательно замещена 1-3 атомами галогена; необязательно R^d и R^e могут быть объединены с образованием циклопропильного кольца;

A выбирают из группы, состоящей из

(a) 4-10-членной моноциклической гетероциклической группы, содержащей один атом азота и необязательно содержащей один дополнительный гетероатом, выбранный из N, S, S(O)₂ и O, и
 (b) 6-10-членной полициклической гетероциклической группы, содержащей один атом азота и необязательно содержащей один дополнительный гетероатом, выбранный из N, S, и O,
 где L связан с атомом углерода в A, и A необязательно замещен 1-3 R^k группами;
 каждый R^k независимо выбирают из группы, состоящей из F, CN, C₁₋₃ алкокси, циклопропила, и C₁₋₃ алкила, где C₁₋₃ алкильная группа может быть необязательно замещена OH, OMe или 1-3 атомами галогена;

R^1 выбирают из группы, состоящей из



где R^p и R^4 , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H, C₃₋₅ циклоалкила и C₁₋₆ алкила, где C₁₋₆ алкильная группа может быть необязательно замещена 1-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из C₁₋₃ алкокси и -S-C₁₋₃ алкила,
 или R^p и R^4 образуют 4-6-членную моноциклическую гетероциклическую группу,

содержащую один атом азота и необязательно содержащую один дополнительный гетероатом, выбранный из N, S, и O, где 4-6-членная моноциклическая гетероциклическая группа необязательно замещена 1-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из C₁₋₆ алкила, C₁₋₃ алкокси, -S-C₁₋₃ алкила и -C₁₋₃ алкил-C₁₋₃ алкокси;

R^2 выбирают из группы, состоящей из H, Cl, OMe, Me и F;

R^3 выбирают из группы, состоящей из H и F;

R^4 выбирают из группы, состоящей из H и F; и

R^5 выбирают из группы, состоящей из H, Me и F.

В некоторых вариантах, X является CH.

В некоторых вариантах R^p и R^4 , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H, циклобутила и C₁₋₄ алкила, где C₁₋₄ алкильная группа может быть необязательно замещена 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из C₁₋₂ алкокси и -S-C₁₋₂ алкила,

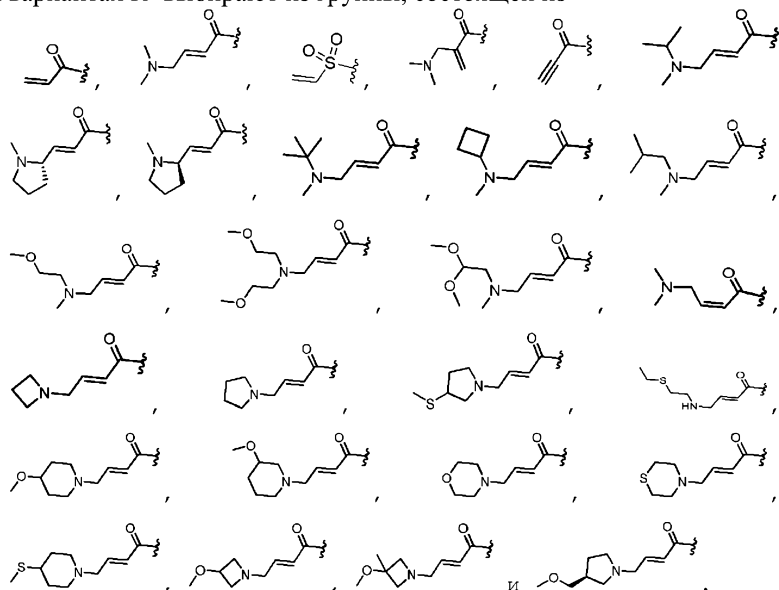
или R^p и R^4 образуют 4-6-членную моноциклическую гетероциклическую группу, содержащую

один атом азота и необязательно содержащую один дополнительный гетероатом, выбранный из S, и O, где 4-6-членная моноциклическая гетероциклическая группа необязательно замещена 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из C₁₋₃-алкила, C₁₋₂-алкокси, -S-C₁₋₂-алкила и -C₁₋₃-алкил-C₁₋₂-алкокси.

В некоторых вариантах R^p и R⁴, каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H, циклобутила и C₁₋₄-алкила, где C₁₋₄-алкильная группа может быть необязательно замещена 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из OMe и -SEt,

или R^p и R⁴ образуют 4-6-членную моноциклическую гетероциклическую группу, содержащую один атом азота и необязательно содержащую один дополнительный гетероатом, выбранный из S, и O, где 4-6-членная моноциклическая гетероциклическая группа необязательно замещена 1 или 2 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из Me, OMe, CH₂OMe и -SMe.

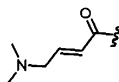
В некоторых вариантах R¹ выбирают из группы, состоящей из



В некоторых вариантах R¹ является



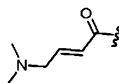
или



В некоторых вариантах R¹ является



В некоторых вариантах R¹ является



6-10-членная полициклическая гетероциклическая группа может быть спироциклической, конденсированной и/или мостиковой.

В некоторых вариантах 6-10-членная полициклическая гетероциклическая группа является спироциклической гетероциклической группой. В некоторых вариантах 6-10-членная полициклическая гетероциклическая группа является конденсированной гетероциклической группой. В некоторых вариантах 6-10-членная полициклическая гетероциклическая группа является мостиковой гетероциклической группой.

В некоторых вариантах A выбирают из группы, состоящей из

(a) 4-8-членной моноциклической гетероциклической группы, содержащей один атом азота и необязательно содержащей один дополнительный гетероатом, выбранный из N, S, S(O)₂ и O, и

(b) 6-10-членной полициклической гетероциклической группы, содержащей один атом азота и необязательно содержащей один дополнительный гетероатом, выбранный из N, S, и O,

где L связан с атомом углерода в A, и A необязательно замещен 1-3 R^k группами. В некоторых вариантах A выбирают из группы, состоящей из

(a) 4-6-членной моноциклической гетероциклической группой, содержащей один атом азота и необязательно содержащей один дополнительный гетероатом, выбранный из N, S, S(O)₂ и O, и

(b) 6-10-членной полициклической гетероциклической группы, содержащей один атом азота и не-

обязательно содержащей один дополнительный гетероатом, выбранный из N, S, и O,

где L связан с атомом углерода в A и A необязательно замещен 1-3 R^k группами. В некоторых вариантах A выбирают из группы, состоящей из

а) 4-6-членной моноциклической гетероциклической группой, содержащей один атом азота и необязательно содержащей один дополнительный гетероатом, выбранный из N, S, S(O)₂ и O, и

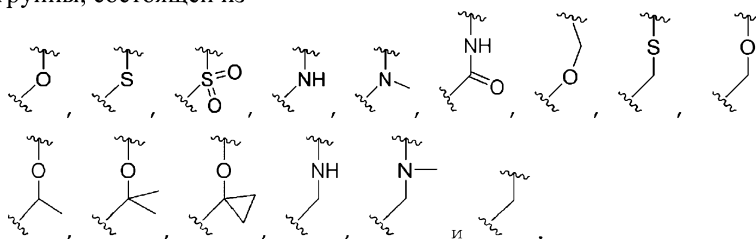
б) 7 или 8-членной полициклической гетероциклической группой, содержащей один атом азота и необязательно содержащей один дополнительный гетероатом, выбранный из N, S и O, где L связан с атомом углерода в A, и A необязательно замещен 1-3 R^k группами.

В некоторых вариантах A выбирают из группы, состоящей из азетидина, пирролидина, пиперидина, морфолина, 2-азаспиро[3,3]гептана, тиоморфолина и нортропана.

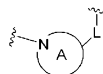
В некоторых вариантах



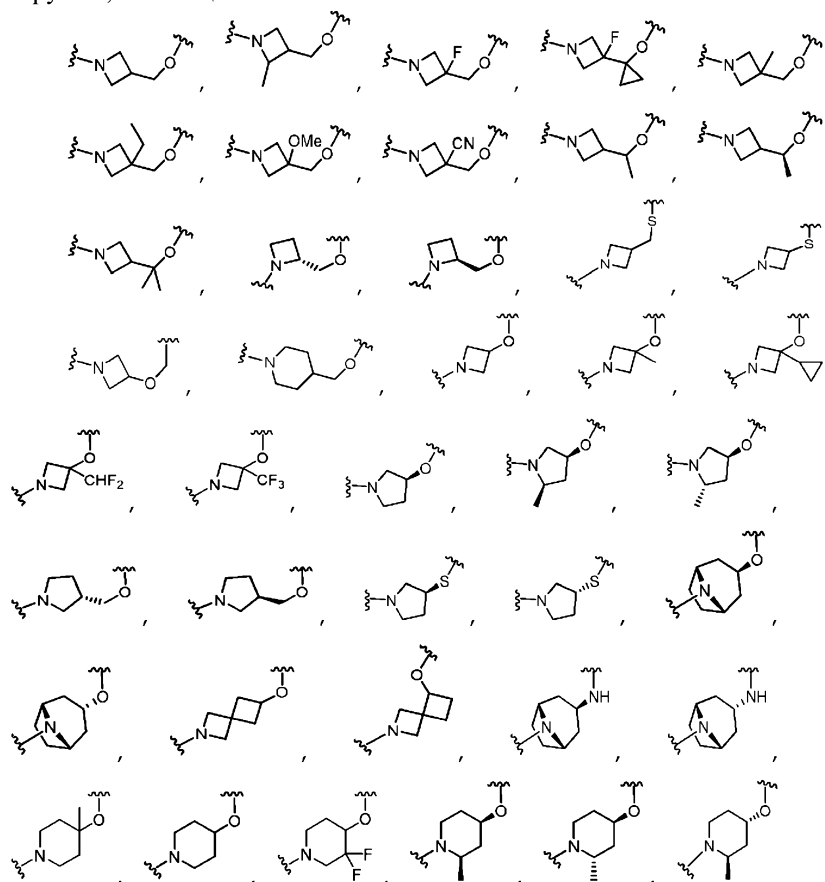
выбирают из группы, состоящей из

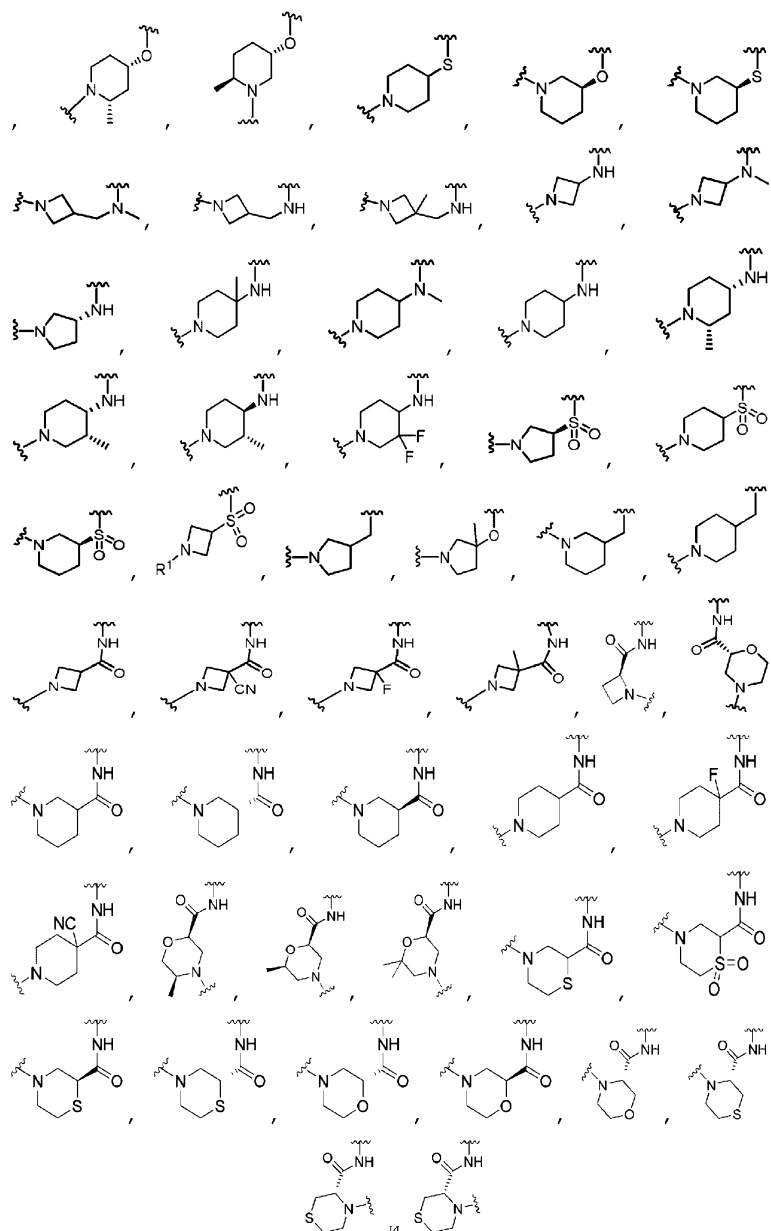


В некоторых вариантах



выбирают из группы, состоящей из

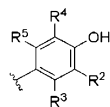




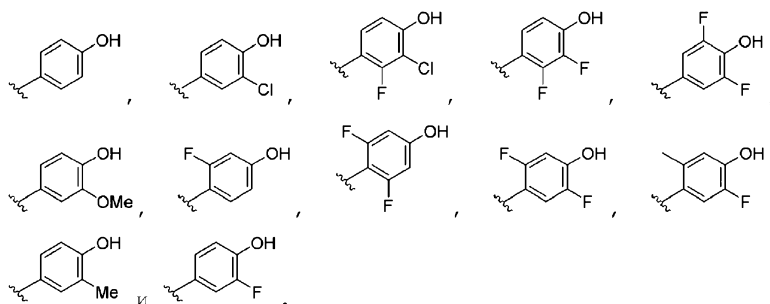
некоторых вариантах X^1 и X^9 оба являются СН. В некоторых вариантах X^1 является N и X^2 является СН. В некоторых вариантах X^1 и X^2 оба являются N. В некоторых вариантах X^1 является СН и X^2 является N.

В некоторых вариантах R^2 является H. В некоторых вариантах R^2 является F. В некоторых вариантах R^2 является Cl. В некоторых вариантах R^2 является OMe. В некоторых вариантах R^2 является Me. В некоторых вариантах R^3 является H. В некоторых вариантах R^3 является F. В некоторых вариантах R^4 является H. В некоторых вариантах R^4 является F. В некоторых вариантах R^5 является H. В некоторых вариантах R^5 является F. В некоторых вариантах R^5 является Me.

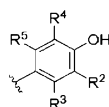
В некоторых вариантах



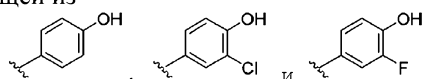
выбирают из группы, состоящей из



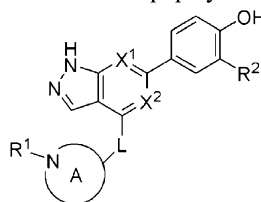
В некоторых вариантах



выбирают из группы, состоящей из



В изобретении также представлено соединение формулы (II)



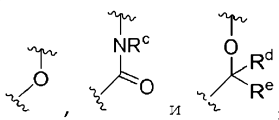
(II)

или его фармацевтически приемлемая соль, где

X^1 и X^2 оба являются CH, или X^1 и X^2 оба являются N, или X^1 является N и X^2 является CH;



выбирают из группы, состоящей из



R^c , R^d и R^e , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и метила;

A выбирают из группы, состоящей из азетидина, пирролидина, пиперидина и морфолина;

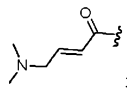
где L связан с атомом углерода в A и A необязательно замещен 1-2 R^k группами;

каждый R^k независимо выбирают из группы, состоящей из F, CN, метила, этила и C_{1-2} галоалкила;

R^1 является



или



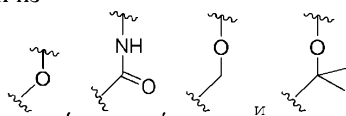
и

R^2 выбирают из группы, состоящей из H, Cl и F.

В некоторых вариантах



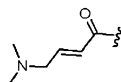
выбирают из группы, состоящей из



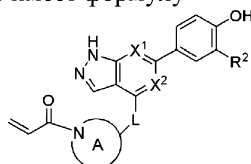
В некоторых вариантах R^1 является



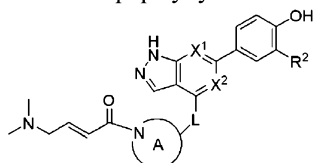
В некоторых вариантах R^1 является



В некоторых вариантах, соединение имеет формулу



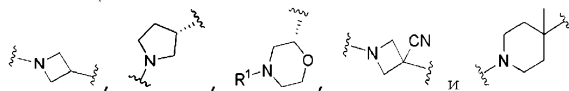
В некоторых вариантах, соединение имеет формулу



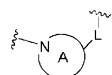
В некоторых вариантах



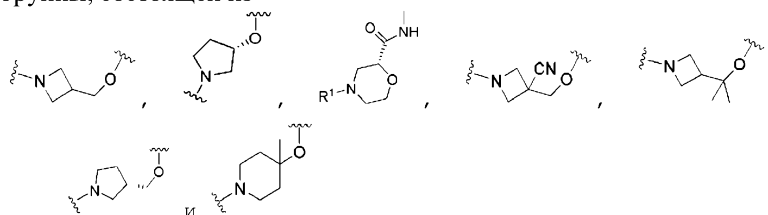
выбирают из группы, состоящей из



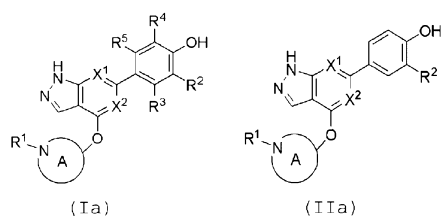
В некоторых вариантах



выбирают из группы, состоящей из

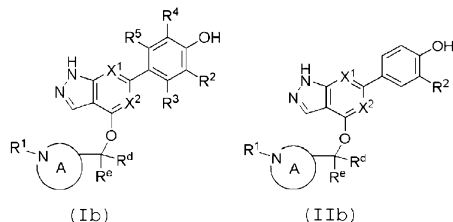


В описании также представлено соединение или его фармацевтически приемлемая соль формулы (Ia) или (IIa)



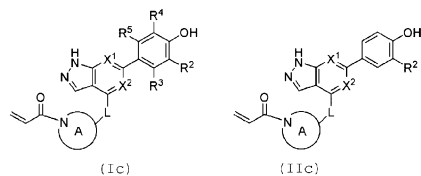
где переменные такие, как определены в вариантах выше.

В описании также представлено соединение или его фармацевтически приемлемая соль формулы (Ib) или (IIb)



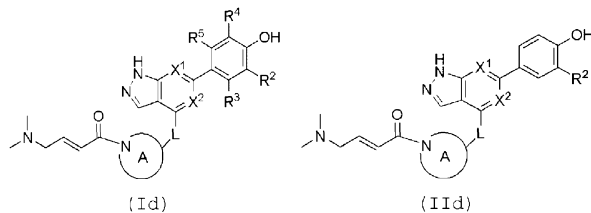
где переменные такие, как определены в вариантах выше.

В описании также представлено соединение или его фармацевтически приемлемая соль формулы (Ic) или (IIc)



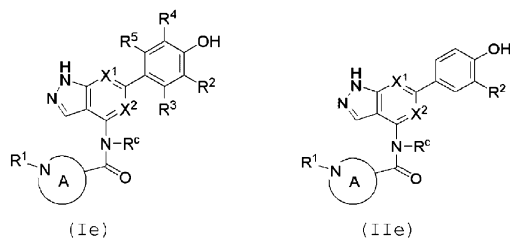
где переменные такие, как определены в вариантах выше.

В описании также представлено соединение или его фармацевтически приемлемая соль формулы (Id) или (IId)



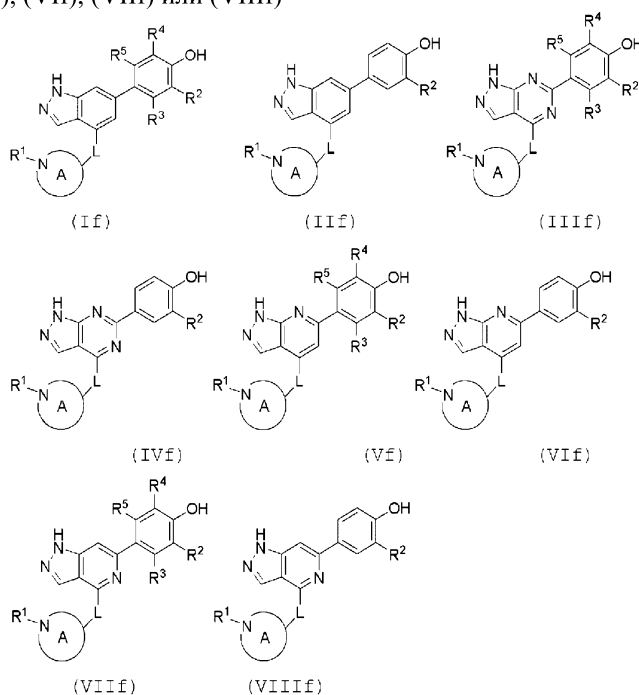
где переменные такие, как определены в вариантах выше.

В описании также представлено соединение или его фармацевтически приемлемая соль формулы (Ie) или (IIe)



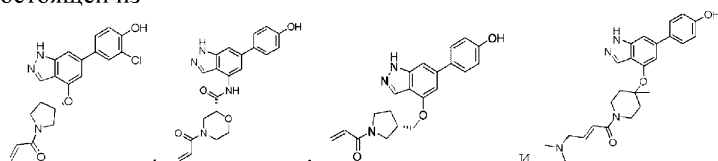
где переменные такие, как определены в вариантах выше.

В описании также представлено соединение или его фармацевтически приемлемая соль формулы (If), (IIIf), (IIIIf), (IVIf), (VIf), (VIIf), (VIIIf) или (VIIIIf)



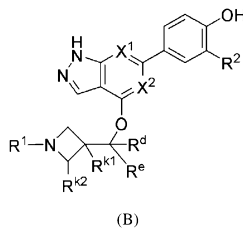
где переменные такие, как определены в вариантах выше.

В изобретении также представлено соединение или его фармацевтически приемлемая соль, выбранное из группы, состоящей из



В изобретении также представлено соединение или его фармацевтически приемлемая соль, имею-

шее формулу(B)

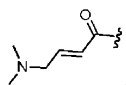


(B)

или его фармацевтически приемлемая соль, где X^1 и X^2 , каждый независимо, выбирают из N и CH; R^d и R^e , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и C_{1-3} алкила; необязательно, R^d и R^e могут быть объединены с образованием циклопропильного кольца; R^{k1} выбирают из группы, состоящей из H, F, CN, OMe и C_{1-3} алкила; R^{k2} выбирают из группы, состоящей из H и метила; R^1 является



или

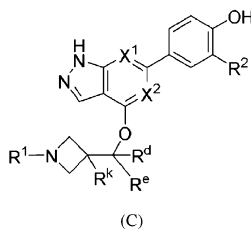


и

R^2 выбирают из группы, состоящей из H, Cl и F.

В некоторых вариантах R^d и R^e , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и метила; необязательно R^d и R^e могут быть объединены с образованием циклопропильного кольца и R^{k1} выбирают из группы, состоящей из H, F, CN, OMe метила и этила.

В изобретении также представлено соединение, или его фармацевтически приемлемая соль, имеющее формулу(C)



(C)

или его фармацевтически приемлемая соль, где

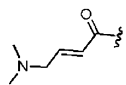
X^1 и X^2 оба являются CH или X^1 и X^2 оба являются N, или X^1 является N и X^2 является CH;

R^d и R^e , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и метила; R^k выбирают из группы, состоящей из H, CN, метила и этила;

R^1 является



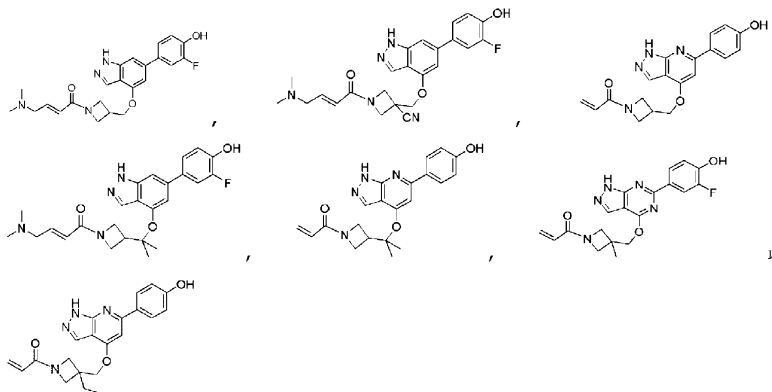
или



и

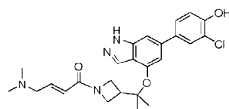
R^2 выбирают из группы, состоящей из H, Cl и F.

В некоторых вариантах соединение или его фармацевтически приемлемую соль выбирают из группы, состоящей из:

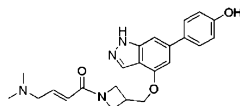


В изобретении также представлено соединение или его фармацевтически приемлемая соль, имею-

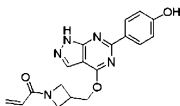
щее формулу



В изобретении также представлено соединение или его фармацевтически приемлемая соль, имеющее формулу



В изобретении также представлено соединение или его фармацевтически приемлемая соль имеющее формулу



В изобретении также представлена фармацевтическая композиция, содержащая соединение в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль или его кристаллическую форму и фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах фармацевтическая композиция дополнительно содержит один или несколько других терапевтических агентов. В некоторых вариантах один или несколько других терапевтических агентов полезны для лечения желудочно-кишечных воспалительных заболеваний, воспалительных заболеваний кожи, воспалительных заболеваний легких или воспалительных заболеваний глаз. В некоторых вариантах один или более других терапевтических агентов полезны для лечения желудочно-кишечных воспалительных заболеваний. В некоторых вариантах, желудочно-кишечным воспалительным заболеванием является язвенный колит. В некоторых вариантах, желудочно-кишечным воспалительным заболеванием является болезнь Крона.

Кроме того, некоторые соединения могут иногда существовать в таутомерных формах. Будет понятно, что хотя структуры показаны или названы в конкретной форме, изобретение также включает их таутомер.

Соединения в соответствии с данным изобретением могут содержать один или более хиральных центров, и поэтому такие соединения (и их промежуточные соединения) могут существовать в виде рацемических смесей; чистых стереоизомеров (т.е. энантиомеров или диастереомеров); смесей, обогащенных стереоизомерами, и подобных. Предполагается, что хиральные соединения, показанные или названные здесь без определенной стереохимии в хиральном центре, включают любые или все возможные вариации стереоизомера в неопределенном стереоцентре, если не указано иное. Описание или наименование конкретного стереоизомера означает, что указанный стереоцентр имеет обозначенную стереохимию с пониманием того, что незначительные количества других стереоизомеров также могут присутствовать, если не указано иное, при условии, что полезность изображенного или названного соединения не устраняется присутствием другого стереоизомера.

Это изобретение также включает изотопно-меченные соединения в соответствии с данным изобретением, например, изотопно-меченные соединения формулы (I), (II), (B), (C), соединение 1, соединение 3, соединение 4, т.е., соединения в соответствии с данным изобретением и соединения формулы (I), (II), (B), (C), соединение 1, соединение 3, соединение 4, где атом замещен или обогащен атомом, имеющим то же атомное число, но атомная масса которого отличается от атомной массы, которая преобладает в природе. Примеры изотопов, которые могут быть введены в соединения в соответствии с данным изобретением и соединения формулы (I), (II), (B), (C), соединение 1, соединение 3, соединение 4, включают, но не ограничены ими, ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{35}S и ^{18}F . Особенный интерес вызывают соединения в соответствии с данным изобретением и соединения формулы (I), (II), (B), (C), соединение 1, соединение 3, и соединение 4, обогащенные тритием или углеродом-14, которые могут применяться, например, в исследованиях распределения в тканях. Также особенный интерес вызывают соединения в соответствии с данным изобретением и соединения формулы (I), (II), (B), (C), соединение 1, соединение 3, соединение 4, обогащенные дейтерием, особенно в месте метаболизма, где ожидается, что соединения имеют большую метаболическую стабильность. Дополнительно особенный интерес вызывают соединения в соответствии с данным изобретением и соединения формулы (I), (II), (B), (C), соединение 1, соединение 3, соединение 4, обогащенные испускающим позитроны изотопом, таким как ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O и ^{13}N , где соединения могут применяться, например, в исследованиях Позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ).

Определения

При описании данного изобретения, включая его различные аспекты и варианты, следующие термины имеют следующие значения, если не указано иное.

Термин "алкил" означает одновалентную насыщенную углеводородную группу, которая может быть линейной или разветвленной, или их сочетания. Если не указано иное, такие алкильные группы

обычно содержат 1-10 атомов углерода. Типичные алкильные группы включают, в качестве примера, метил (Me), этил (Et), н-пропил (n-Pr) или (nPr), изопропил (i-Pr) или (iPr), н-бутил (n-Bu) или (nBu), втор-бутил, изобутил, трет-бутил (t-Bu) или (tBu), н-пентил, н-гексил, 2,2-диметилпропил, 2-метилбутил, 3-метилбутил, 2-этилбутил, 2,2-диметилпентил, 2-пропилпентил и подобные.

Термин "галоалкил" относится к алкильной группе, как определена выше, которая замещена одним или более галогенами, например, трифторметил, дифторметил, трихлорметил, 2,2,2-трифторэтил, 1,2-дифторэтил, 3-бром-2-фторпропил, 1,2-дибромэтил и подобные.

Если определенное количество атомов углерода относится к конкретному термину, число атомов углерода показано перед термином. Например, термин "C₁₋₃алкил" означает алкильную группу, имеющую 1-3 атома углерода, где атомы углерода находятся в любой химически приемлемой конфигурации, включая линейную и разветвленную конфигурации.

Термин "алкокси" означает одновалентную группу -О-алкил, где алкил определен, как указано выше. Типичные алкоксигруппы включают, например, метокси, этокси, пропокси, бутокси и подобные.

Термин "циклоалкил" означает одновалентную насыщенную карбоциклическую группу, которая может быть моноциклической или полициклической. Если не указано иное, такие циклоалкильные группы обычно содержат 3-10 атомов углерода. Типичные циклоалкильные группы включают, например, циклопропил (cPr), циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил, адамантил и подобные.

Термин "гетероцикл", "гетероциклический" или "гетероциклическое кольцо" означает насыщенную или частично ненасыщенную циклическую неароматическую группу, имеющую 3-10 атомов в кольце, где кольцо содержит 2-9 атомов углерода и 1-4 гетероатома, выбранных из азота, кислорода и серы. Гетероциклические группы могут быть моноциклическими или полициклическими (т.е. конденсированными, спиро или мостиковыми). Когда гетероциклическая группа является полициклической, по крайней мере, одна, но необязательно все циклические группы содержат гетероатом. Типичные гетероциклические группы включают, например, пирролидинил, пиперидинил, пиперазинил, имидазолидинил, морфолинил, тиоморфолил, индолин-3-ил, 2-имидазолилин, тетрагидропиранил, 1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-2-ил, хинуклидинил, 7-азанорборнанил, нортропанил и подобные, где точка присоединения находится на любом доступном атоме углерода или атоме азота. Если контекст делает точку присоединения гетероциклической группы очевидной, такие группы могут альтернативно называться не валентными соединениями, т.е. пирролидин, пиперидин, пиперазин, имидазол, тетрагидропиранил и т.д.

Термин "терапевтически эффективное количество" означает количество, достаточное для проведения лечения при введении пациенту, нуждающемуся в лечении.

Термин "лечение" в настоящем описании означает лечение заболевания, расстройства или медицинского состояния (такого как желудочно-кишечное воспалительное заболевание) у пациента, такого как млекопитающее (в частности, человек), которое включает одно или более из следующих:

(a) профилактику возникновения заболевания, расстройства или медицинского состояния, т.е. профилактику повторного возникновения заболевания или медицинского состояния или профилактическое лечение пациента, который предрасположен к заболеванию или медицинскому состоянию;

(b) облегчение заболевания, расстройства или медицинского состояния, т.е. устранение или регрессию заболевания, расстройства или медицинского состояния у пациента, включая противодействие воздействиям других терапевтических агентов;

(c) подавление заболевания, расстройства или медицинского состояния, т.е. замедление или остановку развития заболевания, расстройства или медицинского состояния у пациента; или

(d) облегчение симптомов заболевания, расстройства или медицинского состояния у пациента.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" означает соль, которая приемлема для введения пациенту или млекопитающему, такому как человек (например, соли, имеющие приемлемую безопасность для млекопитающего при данном режиме дозирования). Типичные фармацевтически приемлемые соли включают соли уксусной, аскорбиновой, бензолсульфоновой, бензойной, камфорсульфоновой, лимонной, этансульфоновой, эдисиловой, fumarовой, гентизиновой, глюконовой, глюкуроновой, глутаминовой, гиппуровой, бромистоводородной, хлористоводородной, изетионовой, молочной, лактобионовой, малеиновой, яблочной, миндальной, метансульфоновой, слизиной, нафталинсульфоновой, нафталин-1,5-дисульфоновой, нафталин-2,6-дисульфоновой, никотиновой, азотной, оротовой, памовой, пантотеновой, фосфорной, янтарной, серной, винной, п-толуолсульфоновой и ксинафоевой кислоты и подобные.

Термин "его соль" означает соединение, полученное при замещении водорода кислоты катионом, таким как катион металла или органический катион, и подобное. Например, катионом может быть протонированная форма соединения формулы (I), т.е. форма, в которой одна или более аминогрупп протонированы кислотой. Обычно солью является фармацевтически приемлемая соль, хотя это не требуется для солей промежуточных соединений, которые не предназначены для введения пациенту.

Термин "аминозащитная группа" означает защитную группу, подходящую для профилактики нежелательных реакций на атоме азота амина. Типичные амино-защитные группы включают, но не ограничены ими, формил, ацильные группы, например, алканойльные группы, такие как ацетил и трифторацетил; алкоксикарбонильные группы, такие как трет-бутоксикарбонил (Boc); арилметоксикарбонильные груп-

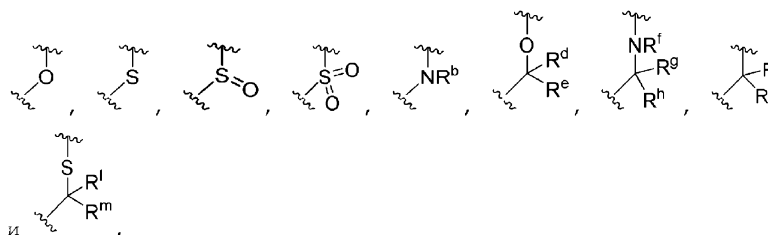
пы, такие как бензилоксикарбонил (Cbz) и 9-флуоренилметоксикарбонил (Fmoc); арилметильные группы, такие как бензил (Bn), тритил (Tr) и 1,1-ди-(4'-метоксифенил)метил; силильные группы, такие как триметилсилил (TMS), триизопропилсилил (TIPS), трет-бутилдиметилсилил (TBS или ТВДСВ), [2-(триметилсилил)этокси]метил (SEM); и подобные. Множественные защитные группы и их введение и удаление описаны в Т. W. Greene и P. G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Third Edition, Wiley, New York.

Общие методики синтеза

Соединения в соответствии с данным изобретением и их промежуточные соединения могут быть получены следующими общими способами и методиками с применением коммерчески доступных или получаемых обычными методами исходных материалов и реагентов. Заместители и переменные (например, A, X¹, X², R¹, R², R³, R^a, R^b и т.д.), применяемые на следующих схемах, имеют те же значения, которые определены по всему описанию, если не указано иное. Кроме того, соединения, имеющие кислотный или основной атом или функциональную группу, могут применяться как соль, если не указано иное (в некоторых случаях применение соли в конкретной реакции потребует превращения соли в не солевую форму, например, свободное основание, с применением обычных методик, до проведения реакции).

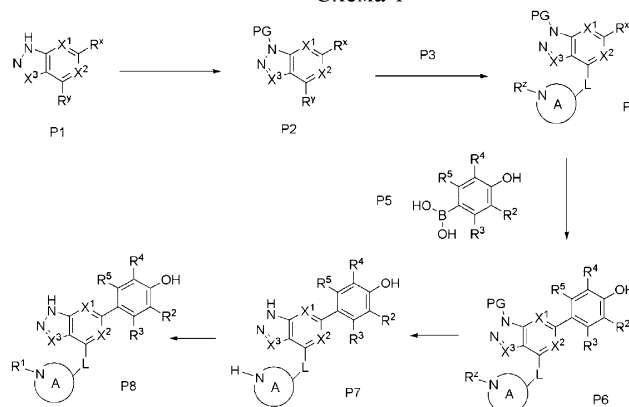
Хотя конкретный вариант настоящего изобретения может быть показан или описан в следующих методиках, специалисты в данной области поймут, что другие варианты или аспекты данного изобретения также могут быть получены с использованием таких методик или с использованием других способов, реагентов и исходных материалов, известных специалистам в данной области. В частности, следует понимать, что соединения в соответствии с данным изобретением могут быть получены различными способами, в которых реагенты объединяются в разном порядке для получения разных промежуточных соединений на пути к получению конечных продуктов.

Общий способ получения конечных соединений в соответствии с данным изобретением, где L выбирают из



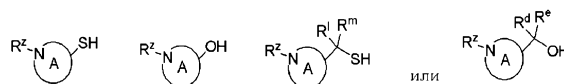
показан на схеме 1.

Схема 1



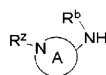
Исходный материал P1, где R^x и R^y являются атомами галогена, которые могут быть одинаковыми или разными, защищают защитной группой PG, такой как тетрагидропиран, с получением P2. P2 затем подвергают взаимодействию с P3 с получением P4.

P3 может быть

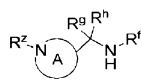


где R^z является второй защитной группой, например Boc. В этом случае P3 депротонируют основанием, таким как NaNH, и подвергают взаимодействию с P2 с получением P4.

Альтернативно, P3 может быть

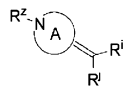


или



где R^z является второй защитной группой, например Boc. В этом случае P3 подвергают взаимодействию с P2 в условиях сочетания Бухвальда, таких как присутствие Pd(0) и основание, с получением P4. Альтернативно, P3 подвергают взаимодействию с P2 в присутствии основания, такого как ДИПЭА, с получением P4.

Альтернативно, P3 может быть



где R^z является второй защитной группой, например Boc. В этом случае P3 подвергают взаимодействию с P2 в присутствии Pd(0), 9-BBN и основания, с получением P4.

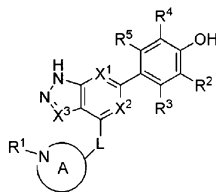
P4 сочетают с бороновой кислотой P5 (сочетание Сузуки) в присутствии Pd(0) и основания с получением P6. С P6 снимают защиту с получением P7 (если PG является тетрагидропираном и R^z является Boc, одновременное снятие защиты аминов проходит в присутствии сильной кислоты, такой как ТФК или HCl). Наконец, P7 превращают в амид амидным сочетанием (реакцией с кислотой в присутствии сочетающего агента, такого как ГАТУ или гидроксибензотриазол (ГОВТ)) или реакцией с хлорангидридом в присутствии основания, такого как основание Хунига.

На этой схеме реакции порядок реакций может быть изменен. Например, сочетание Сузуки может проводиться до введения группы, содержащей кольцо A. Это может быть, например, случай, когда группа, содержащая кольцо A, вводится через сочетание Бухвальда.

На этой схеме реакции, защита одной или обеих аминогрупп является необязательным. Та же схема синтеза может применяться без амино защиты для одной или обеих аминогрупп, но может давать более низкие выходы.

Сульфонильный линкер может быть получен окислением соответствующего сульфида, например, оксоном и основной окисью алюминия.

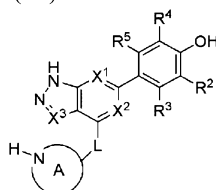
Следовательно, в аспекте способа изобретение предоставляет способ получения соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли



(I)

где способ включает

взаимодействие соединения формулы (III)



(III)

с

(i) $Cl-R^1$ или

(ii) $HO-R^1$,

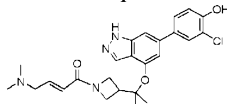
где R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , X^1 , X^2 , L и A такие, как определены выше, и

необязательное получение фармацевтически приемлемой соли, с получением соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли.

В отдельных и отличных аспектах в изобретении представлено соединение формулы (III), где переменные принимают любое из значений, описанных выше.

Кристаллические формы

В одном аспекте, в изобретении представлена кристаллическая форма соединения формулы



Форма 1.

Кристаллическая форма 1 в соответствии с данным изобретением является кристаллической без-

водной свободной формой соединения 3. В одном аспекте форма 1 характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой (ПРД), имеющей значительные пики дифракции, среди других пиков, при значениях 2θ $5,65\pm 0,20$, $14,22\pm 0,20$, $15,16\pm 0,20$, и $19,31\pm 0,20$. Форма 1 также может быть охарактеризована ПРД, имеющей дополнительные пики дифракции при значениях 2θ $7,12\pm 0,20$, $10,02\pm 0,20$, $11,16\pm 0,20$, $17,06\pm 0,20$, и $24,43\pm 0,20$. Форма 1 также может быть охарактеризована ПРД, имеющей два или более дополнительных пиков дифракции, включая три или более и четыре или более дополнительных пиков дифракции при значениях 2θ , выбранных из $13,10\pm 0,20$, $14,82\pm 0,20$, $16,55\pm 0,20$, $20,08\pm 0,20$, $21,08\pm 0,20$, $21,65\pm 0,20$, $22,51\pm 0,20$, $22,98\pm 0,20$, $25,02\pm 0,20$, $25,72\pm 0,20$, $26,80\pm 0,20$, $27,06\pm 0,20$, $28,31\pm 0,20$, $30,08\pm 0,20$, $30,31\pm 0,20$ и $32,08\pm 0,20$. Форма 1 характеризуется ПРД, имеющей три, четыре, пять или шесть пиков дифракции при значениях 2θ , выбранных из $5,65\pm 0,20$, $7,12\pm 0,20$, $10,02\pm 0,20$, $11,16\pm 0,20$, $14,22\pm 0,20$, $15,16\pm 0,20$, $17,06\pm 0,20$, $19,31\pm 0,20$ и $24,43\pm 0,20$.

Как хорошо известно в области порошковой рентгеновской дифракции, положения пиков аПРД относительно менее чувствительны к деталям эксперимента, таким как детали подготовки образца и геометрия прибора, чем относительные высоты пиков. Таким образом, в одном аспекте, кристаллическая форма 1 характеризуется порошковой дифракционной рентгенограммой, в которой положения пиков по существу соответствуют положениям, показанным на фиг. 1.

В другом аспекте, кристаллическая форма 1 характеризуется своим поведением под воздействием высокой температуры. Как показано на фиг. 2, кривая дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), записанная при скорости нагревания 10°C в минуту, демонстрирует пик эндотермического теплового потока, идентифицированный как переход расплава, с началом при около $154,9^\circ\text{C}$ и пиком при около $162,9^\circ\text{C}$. После плавления сразу происходит разложение.

Кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, записанной при скорости нагревания 10°C в минуту, которые показывают максимум в эндотермическом тепловом потоке с пиком при около $162,9^\circ\text{C}$. Кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, записанной при скорости нагревания 10°C в минуту, которая показывает максимум в эндотермическом тепловом потоке с пиком при $162,9\pm 3^\circ\text{C}$.

Кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, записанной при скорости нагревания 10°C в минуту, которая показывает максимум в эндотермическом тепловом потоке при температуре от около $154,9$ до около 171°C или от около 158 до 167°C .

Типовая кривая ТГА формы 1 кристаллической свободной формы показана на фиг. 3. Кривая теплового гравиметрического анализа (ТГА) показывает незначительную потерю массы около $0,14\%$ при 100°C . Соединение разлагается при температуре начала разложения около 175°C .

Типовая кривая ДСВ для формы 1 кристаллической свободной формы показана на фиг. 4. Форма 1 демонстрирует около $1,62\%$ прирост массы при влажности в интервале от 5 до 90% относительной влажности. Форма 1 считается слегка гигроскопической.

Форма 1 может быть получена растворением соединения 3 в аморфной форме в этаноле с последующим перемешиванием при температуре от около 20 до около 25°C с последующей фильтрацией и сушкой с получением формы 1. Необязательно твердое вещество может быть промыто этанолом перед сушкой.

Форма 1 может быть получена добавлением ацетона к соединению в аморфной форме и перемешиванием при температуре от около 20°C до около 25°C с последующим добавлением затравки. Полученную суспензию фильтруют и сушат с получением формы 1.

Форма 2.

Кристаллическая форма 2 в соответствии с данным изобретением является кристаллической гидратированной свободной формой соединения 3. В одном аспекте, форма 2 характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой (ПРД), имеющей значительные пики дифракции, среди других пиков, при значениях 2θ $6,90\pm 0,20$, $9,15\pm 0,20$, $10,00\pm 0,20$ и $18,31\pm 0,20$. Форма 2 может быть дополнительно охарактеризована ПРД, имеющей дополнительные пики дифракции при значениях 2θ $11,18\pm 0,20$, $15,51\pm 0,20$ и $20,90\pm 0,20$. Форма 2 может быть дополнительно охарактеризована ПРД, имеющей два или более дополнительных пиков дифракции, включая три или более и четыре или более дополнительных пиков дифракции, при значениях 2θ , выбранных из $12,76\pm 0,20$, $13,33\pm 0,20$, $13,82\pm 0,20$, $14,43\pm 0,20$, $16,04\pm 0,20$, $17,00\pm 0,20$, $17,90\pm 0,20$, $22,06\pm 0,20$, $22,51\pm 0,20$, $25,00\pm 0,20$, $26,92\pm 0,20$, $27,26\pm 0,20$, $27,61\pm 0,20$, $29,37\pm 0,20$, $30,53\pm 0,20$ и $30,92\pm 0,20$. Форма 2 характеризуется ПРД, имеющей три, четыре, пять или шесть пиков дифракции при значениях 2θ , выбранных из $6,90\pm 0,20$, $9,15\pm 0,20$, $10,00\pm 0,20$, $11,18\pm 0,20$, $15,51\pm 0,20$, $18,31\pm 0,20$ и $20,90\pm 0,20$.

Как хорошо известно в области порошковой рентгеновской дифракции, положения пиков ПРД относительно менее чувствительны к деталям эксперимента, таким как детали подготовки образца и геометрия прибора, чем относительные высоты пиков. Таким образом, в одном аспекте кристаллическая форма 2 характеризуется порошковой дифракционной рентгенограммой, в которой положения пиков по существу соответствуют положениям, показанным на фиг. 5.

В другом аспекте кристаллическая форма 2 характеризуется своим поведением под воздействием

высокой температуры. Как показано на фиг. 6, кривая дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), записанная при скорости нагревания 10°C в минуту, демонстрируют эндотерму десольватации с началом при около $52,7^{\circ}\text{C}$ и пиком при около $84,4^{\circ}\text{C}$, и эндотерму плавления с началом при около $160,0^{\circ}\text{C}$ и пиком при около $167,6^{\circ}\text{C}$. После плавления сразу происходит разложение.

Типовая кривая ТГА формы 2 кристаллической свободной формы в соответствии с данным изобретением показана на фиг. 7. Кривая теплового гравиметрического анализа (ТГА) на фиг. 7 показывает потерю массы около 6,73% при 75°C . Соединение десольватируется при температуре начала около 25°C . Соединение разлагается при температуре начала разложения около 185°C .

Типовая кривая ДСК для формы 2 кристаллической свободной формы в соответствии с данным изобретением показана на фиг. 8. Форма 2 превращается в гидрат (форма 2b) при ОВ выше 65%. Дегидратация возникает при ОВ ниже 15%. Общее поглощение влаги при 5-90% ОВ составляет 7,99%.

Форма 2 могут быть получена растворением соединения 3 в аморфной форме в метаноле с последующим добавлением антирастворителя, такого как вода, в соотношении около 1:2 метанол:вода. Необязательно смесь обрабатывают ультразвуком. Затем смесь перемешивают при температуре от около 20 до около 25°C в течение около 12-24 ч. Форму 2 затем выделяют фильтрацией и сушкой. Необязательно твердое вещество может промываться метанолом.

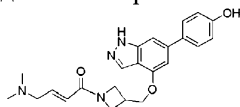
Форма 2 также может быть получена растворением в этаноле и воде или в метаноле и воде с полным растворением в около 10 объемах спирта с последующим медленным добавлением около 8-10 объемов воды до температуры помутнения смеси. Затравку формы 2 добавляют с получением суспензии медленно в течение времени. Медленно добавляют дополнительную воду (около 10 объемов) с получением твердого вещества, которое может быть отфильтровано и высушено с получением формы 2.

Форма 2b.

Кристаллическая форма 2b в соответствии с данным изобретением является кристаллической дегидратированной свободной формой соединения 3. В одном аспекте, форма 2b характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой (ПРД), имеющей значительные пики дифракции, среди других пиков, при значениях 2θ $7,61\pm 0,20$, $16,76\pm 0,20$, $17,90\pm 0,20$ и $20,67\pm 0,20$. Форма 2b может быть дополнительно охарактеризована ПРД, имеющей дополнительные пики дифракции при значениях 2θ $10,33\pm 0,20$, $11,25\pm 0,20$, $12,71\pm 0,20$, $15,88\pm 0,20$. Форма 2b может быть дополнительно охарактеризована ПРД, имеющей два или более дополнительных пиков дифракции, включая три или более и четыре или более дополнительных пиков дифракции, при значениях 2θ , выбранных из $13,23\pm 0,20$, $13,66\pm 0,20$, $13,90\pm 0,20$, $15,02\pm 0,20$, $15,27\pm 0,20$, $16,33\pm 0,20$, $18,26\pm 0,20$, $21,37\pm 0,20$, $21,92\pm 0,20$, $22,31\pm 0,20$, $22,90\pm 0,20$, $23,22\pm 0,20$, $23,61\pm 0,20$, $24,74\pm 0,20$, $25,78\pm 0,20$, $26,23\pm 0,20$, $26,73\pm 0,20$, $27,57\pm 0,20$, $29,10\pm 0,20$, $29,39\pm 0,20$, $30,72\pm 0,20$, $30,94\pm 0,20$, $31,69\pm 0,20$, $32,06\pm 0,20$, $33,76\pm 0,20$ и $34,35\pm 0,20$. Форма 2b характеризуется ПРД, имеющей три, четыре, пять или шесть пиков дифракции при значениях 2θ , выбранных из $7,61\pm 0,20$, $10,33\pm 0,20$, $11,25\pm 0,20$, $12,71\pm 0,20$, $15,88\pm 0,20$, $16,76\pm 0,20$, $17,90\pm 0,20$ и $20,67\pm 0,20$.

Как хорошо известно в области порошковой рентгеновской дифракции, положения пиков ПРД относительно менее чувствительны к деталям эксперимента, таким как детали подготовки образца и геометрия прибора, чем относительные высоты пиков. Таким образом, в одном аспекте, кристаллическая форма 2b характеризуется порошковой дифракционной рентгенограммой, в которой положения пиков по существу соответствуют положениям, показанным на фиг. 17.

В другом аспекте в изобретении представлена кристаллическая форма соединения формулы:



Форма 3.

Кристаллическая форма 3 в соответствии с данным изобретением является кристаллической безводной свободной формой соединения 1. В одном аспекте форма 3 характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой (ПРД), имеющей значительные пики дифракции, среди других пиков, при значениях 2θ $9,67\pm 0,20$, $11,61\pm 0,20$, $17,61\pm 0,20$, $18,88\pm 0,20$ и $23,33\pm 0,20$. Форма 3 может быть дополнительно охарактеризована ПРД, имеющей дополнительные пики дифракции при значениях 2θ $4,82\pm 0,20$, $15,69\pm 0,20$ и $16,19\pm 0,20$. Форма 3 может быть дополнительно охарактеризована ПРД, имеющей два или более дополнительных пиков дифракции, включая три или более и четыре или более дополнительных пиков дифракции, при значениях 2θ , выбранных из $11,92\pm 0,20$, $12,98\pm 0,20$, $13,23\pm 0,20$, $16,45\pm 0,20$, $16,67\pm 0,20$, $19,39\pm 0,20$, $19,96\pm 0,20$, $20,14\pm 0,20$, $22,14\pm 0,20$, $23,84\pm 0,20$, $24,06\pm 0,20$, $24,29\pm 0,20$, $25,31\pm 0,20$, $25,63\pm 0,20$, $27,06\pm 0,20$, $27,31\pm 0,20$, $30,10\pm 0,20$ и $30,53\pm 0,20$. Форма 3 характеризуется ПРД, имеющей три, четыре, пять или шесть пиков дифракции при значениях 2θ , выбранных из $4,82\pm 0,20$, $9,67\pm 0,20$, $11,61\pm 0,20$, $15,69\pm 0,20$, $16,19\pm 0,20$, $17,61\pm 0,20$, $18,88\pm 0,20$ и $23,33\pm 0,20$.

Как хорошо известно в области порошковой рентгеновской дифракции, положения пиков ПРД относительно менее чувствительны к деталям эксперимента, таким как детали подготовки образца и геометрия прибора, чем относительные высоты пиков. Таким образом, в одном аспекте кристаллическая

форма 2b характеризуется порошковой дифракционной рентгенограммой, в которой положения пиков по существу соответствуют положениям, показанным на фиг. 9.

В другом аспекте кристаллическая форма 3 характеризуется своим поведением под воздействием высокой температуры. Как показано на фиг. 10, кривая дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), записанная при скорости нагревания 10°C в минуту, демонстрируют пик эндотермического теплового потока, идентифицированный как переход расплава, с началом при около $197,7^{\circ}\text{C}$ и пиком при около $201,3^{\circ}\text{C}$. После плавления сразу происходит разложение.

Кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, записанной при скорости нагревания 10°C в минуту, которая показывает максимум эндотермического теплового потока с пиком при $201,3^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, записанной при скорости нагревания 10°C в минуту, которая показывает максимум эндотермического теплового потока при температуре от 198 до 204°C .

Типовая кривая ТГА формы 3 кристаллической свободной формы в соответствии с данным изобретением показана на фиг. 11. Кривая теплового гравиметрического анализа (ТГА) на фиг. 11 показывает отсутствие значительной потери массы при температурах ниже температуры начала разложения при около 195°C .

Типовая кривая ДСВ для формы 3 кристаллической формы в соответствии с данным изобретением показана на фиг. 12. Форма 3 демонстрирует около $0,33\%$ прирост массы в интервале влажности от 5 до 90% относительной влажности. Форма 3 считается не гигроскопической.

Форма 3 может быть получена суспендированием соединения 1 в аморфной форме в $1:1$ смеси ацетонитрила и изопропанола. Полученную суспензию перемешивают в течение около 1 дня при около 50°C , фильтруют, необязательно промывают $1:1$ смесью ацетонитрила и изопропанола и сушат в течение нескольких часов с получением формы 3.

Форма 3 может быть получена растворением соединения 1 в виде аморфного свободного основания в ИПС при температуре от около 20 до около 25°C . Добавляют равное количество ацетонитрила. Дополнительное соединение может быть добавлено до получения насыщенного раствора. Затравки добавляют и смесь перемешивают в течение ночи. Полученную белую суспензию фильтруют и сушат с получением формы 3.

Форма 4.

Кристаллическая форма 4 в соответствии с данным изобретением является кристаллической гидратированной свободной формой соединения 1. В одном аспекте форма 4 характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой (ПРД), имеющей значительные пики дифракции, среди других пиков, при значениях 2θ $6,26 \pm 0,20$, $16,55 \pm 0,20$, $16,94 \pm 0,20$, $18,33 \pm 0,20$, $23,61 \pm 0,20$ и $24,24 \pm 0,20$. Форма 4 может быть дополнительно охарактеризована ПРД, имеющей дополнительные пики дифракции при значениях 2θ $11,86 \pm 0,20$, $12,51 \pm 0,20$, $13,16 \pm 0,20$ и $14,98 \pm 0,20$. Форма 4 может быть дополнительно охарактеризована ПРД, имеющей два или более дополнительных пиков дифракции, включая три или более и четыре или более дополнительных пиков дифракции, при значениях 2θ , выбранных из $17,61 \pm 0,20$, $18,78 \pm 0,20$, $19,39 \pm 0,20$, $19,57 \pm 0,20$, $19,84 \pm 0,20$, $21,45 \pm 0,20$, $21,82 \pm 0,20$, $22,57 \pm 0,20$, $24,67 \pm 0,20$, $25,10 \pm 0,20$, $25,39 \pm 0,20$, $27,19 \pm 0,20$, $27,39 \pm 0,20$, $28,55 \pm 0,20$ и $31,51 \pm 0,20$. Форма 4 характеризуется ПРД, имеющей три, четыре, пять или шесть пиков дифракции при значениях 2θ , выбранных из $6,26 \pm 0,20$, $11,86 \pm 0,20$, $12,51 \pm 0,20$, $13,16 \pm 0,20$, $14,98 \pm 0,20$, $16,55 \pm 0,20$, $16,94 \pm 0,20$, $18,33 \pm 0,20$, $23,61 \pm 0,20$ и $24,24 \pm 0,20$.

Как хорошо известно в области порошковой рентгеновской дифракции, положения пиков ПРД относительно менее чувствительны к деталям эксперимента, таким как детали подготовки образца и геометрия прибора, чем относительные высоты пиков. Таким образом, в одном аспекте, кристаллическая форма 4 характеризуется порошковой дифракционной рентгенограммой, в которой положения пиков по существу соответствуют положениям, показанным на фиг. 13.

В другом аспекте кристаллическая форма 4 характеризуется своим поведением под воздействием высокой температуры. Как показано на фиг. 14, кривая дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), записанная при скорости нагревания 10°C в минуту, демонстрируют эндотерму десольватации с началом при около $60,9^{\circ}\text{C}$ и пиком при около $103,6^{\circ}\text{C}$ и эндотерму плавления с началом при около $167,3^{\circ}\text{C}$. Соединение разлагается при плавлении и эндотерма плавления и экзотерма разложения перекрываются.

Типовая кривая ТГА формы 4 кристаллической свободной формы в соответствии с данным изобретением показана на фиг. 15. Кривая теплового гравиметрического анализа (ТГА) на фиг. 15 показывает потерю массы около $3,54\%$ при 100°C . Соединение десольватируется при температуре наступления около 50°C . Соединение разлагается при температуре начала разложения около 165°C .

Типовая кривая ДСВ формы 4 кристаллической свободной формы в соответствии с данным изобретением показана на фиг. 16. Форма 4 демонстрирует около $5,01\%$ увеличение массы в интервале влажности от 5 до 90% относительной влажности. Форма 4 считается умеренно гигроскопической.

Форма 4 может быть получена суспендированием соединения 1 в воде. Полученную суспензию пе-

ремешивают в течение около 1-2 дней при около 50°C, фильтруют, необязательно промывают водой и сушат при температуре от около 20 до около 25°C в течение около 2-6 ч с получением формы 4.

Альтернативно, форма 4 может быть получена растворением соединения 1 в этаноле и воде или метаноле и воде полным растворением в количестве около 10 объемов спирта с последующим медленным добавлением около 8-10 объемов воды до температуры помутнения смеси. Затравку формы 4 добавляют с получением суспензии медленно в течение времени. Медленно добавляют дополнительную воду (около 10 объемов) с получением твердого вещества, которое отфильтруют и сушат с получением формы 4.

Фармацевтические композиции

Соединения в соответствии с данным изобретением и их фармацевтически приемлемые соли обычно применяют в форме фармацевтической композиции или состава. Такие фармацевтические композиции могут вводиться пациенту любым приемлемым путем введения, включая, но не ограничиваясь ими, пероральный, местный (включая чрескожный), ректальный, назальный, ингалируемый и парентеральный пути введения.

Следовательно, в одном из аспектов композиции, изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент и соединение формулы (I), (II), (B), (C), соединение 1, соединение 3 или соединение 4 или его фармацевтически приемлемую соль. Необязательно, такие фармацевтические композиции могут содержать другие терапевтические и/или составляющие агенты, при желании. При обсуждении композиций и их применения, "соединение в соответствии с данным изобретением" или "соединение в соответствии с данным изобретением" также может быть названо здесь "активный агент". В данном описании термин "соединение(я) в соответствии с данным изобретением" включает все соединения, охватываемый формулой (I), (II), (B), (C), (Ia), (IIa), (Ib), (IIb), (Ic), (IIc), (Id), (IId), (Ie), (IIe), (If), (IIIf), (IIIIf), (IVIf), (Vf), (VIIf), (VIIIf) и (VIIIIf) и их фармацевтически приемлемые соли.

Фармацевтические композиции в соответствии с данным изобретением обычно содержат терапевтически эффективное количество соединения в соответствии с данным изобретением. Специалистам в данной области техники должно быть понятно, однако, что фармацевтическая композиция может содержать больше, чем терапевтически эффективное количество, т.е. суммарный состав, или меньше, чем терапевтически эффективное количество, т.е. отдельные единичные дозы, рассчитанные на несколько введений для достижения терапевтически эффективного количества.

Обычно такие фармацевтические композиции содержат от около 0,1 до около 95 мас.% активного агента; включая от около 5 до около 70 мас.% активного агента.

Любой обычный носитель или эксципиент может быть использован в фармацевтических композициях в соответствии с данным изобретением. Выбор конкретного носителя или эксципиента, или сочетаний носителей или эксципиентов, будет зависеть от способа введения, используемого для лечения конкретного пациента, или типа медицинского состояния или болезненного состояния. В этом отношении приготовление подходящей фармацевтической композиции для конкретного способа введения находится в пределах компетенции специалистов в области фармацевтики. Кроме того, носители или эксципиенты, используемые в фармацевтических композициях в соответствии с данным изобретением, являются коммерчески доступными. В качестве дополнительной иллюстрации традиционные методы составления описаны в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); и H.C. Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

Типовые примеры материалов, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемых носителей, включают, но не ограничены ими, следующие: сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлозу, такую как микрокристаллическая целлюлоза, и ее производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; порошковый трагакант; солод; желатин; тальк; эксципиенты, такие как масло какао и воски для суппозиторий; масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; сложные эфиры, такие как этиллаурат и этиллаурат; агар; буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; альгиновая кислота; апирогенная вода; изотонический солевой раствор; раствор Рингера; этиловый спирт; фосфатные буферные растворы и другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических композициях.

Фармацевтические композиции обычно готовят путем тщательного и равномерного смешивания или составления активного агента с фармацевтически приемлемым носителем и одним или более необязательными ингредиентами. Полученную однородно составленную смесь затем формуют или загружают в таблетки, капсулы, пилюли и подобные с использованием обычных методик и оборудования.

Фармацевтические композиции в соответствии с данным изобретением предпочтительно пакуют в стандартную дозированную форму. Термин "стандартная дозированная форма" относится к физической дискретной единице, подходящей для введения пациенту, т.е. каждая единица содержит заранее определенное количество активного агента, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта,

отдельно или в сочетании с одной или более дополнительными единицами. Например, такие стандартные дозированные формы могут представлять собой капсулы, таблетки, пилюли и подобные или стандартные упаковки, подходящие для парентерального введения.

В одном варианте фармацевтические композиции в соответствии с данным изобретением подходят для перорального введения. Подходящие фармацевтические композиции для перорального введения могут быть в форме капсул, таблеток, пилюль, пастилок, облаток, драже, порошков, гранул или в виде раствора или суспензии в водной или неводной жидкости; или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде или вода-в-масле; или в виде эликсира или сиропа; и подобное; каждая из которых содержит заранее определенное количество соединения в соответствии с данным изобретением в качестве активного ингредиента.

Фармацевтические композиции в соответствии с данным изобретением, предназначенные для перорального введения в твердой дозированной форме (т.е. в виде капсул, таблеток, пилюль и подобных), обычно содержат активный агент и один или более фармацевтически приемлемых носителей. Необязательно, такие твердые дозированные формы могут содержать наполнители или разбавители, такие как крахмалы, микрокристаллическая целлюлоза, лактоза, дикальцийфосфат, сахароза, глюкоза, маннит и/или кремниевая кислота; связующие агенты, такие как карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и/или аравийская камедь; увлажнители, такие как глицерин; разрыхляющие агенты, такие как кроскармеллоза натрия, агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые силикаты и/или карбонат натрия; ингибиторы растворения, такие как парафин; ускорители абсорбции, такие как четвертичные аммониевые соединения; смазывающие агенты, такие как цетиловый спирт и/или моностеарат глицерина; абсорбенты, такие как каолин и/или бентонитовая глина; смазывающие вещества, такие как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия и/или их смеси; красители; и буферные агенты.

Разделительные агенты, смазывающие агенты, покрывающие агенты, подсластители, ароматизаторы и отдушки, консерванты и антиоксиданты также могут присутствовать в фармацевтических композициях в соответствии с данным изобретением. Примеры фармацевтически приемлемых антиоксидантов включают: водорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, гидрохлорид цистеина, бисульфат натрия, метабисульфат натрия, сульфит натрия и подобные; маслорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбил пальмитат, бутилированный гидроксианизол, бутилированный гидрокситолуол, лецитин, пропилгаллат, альфа-токоферол и подобные и хелатирующие металл агенты, такие как лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота, сорбит, винная кислота, фосфорная кислота и подобные. Покрывающие агенты для таблеток, капсул, пилюль и подобных включают те, которые используются для энтеросолюбильных покрытий, такие как фталат ацетата целлюлозы, фталат ацетата поливинила, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, метакриловая кислота, сополимеры сложных эфиров метакриловой кислоты, триметиллат ацетата целлюлозы, карбоксиметилэтилцеллюлоза, сукцинат ацетата гидроксипропилметилцеллюлозы и подобные.

Фармацевтические композиции в соответствии с данным изобретением также могут быть составлены для обеспечения медленного или контролируемого высвобождения активного агента с использованием, например, гидроксипропилметилцеллюлозы в различных пропорциях; или других полимерных матриц, липосом и/или микросфер. Кроме того, фармацевтические композиции в соответствии с данным изобретением необязательно могут содержать замутняющие агенты и могут быть составлены таким образом, что они высвобождают активный ингредиент только, или предпочтительно, в определенной части желудочно-кишечного тракта, необязательно, с задержкой. Примеры заключающих композиций, которые могут быть использованы, включают полимерные вещества и воски. Активный агент также может быть в микроинкапсулированной форме, если необходимо, с одним или более из описанных выше эксципиентов.

Подходящие жидкие дозированные формы для перорального введения включают, в качестве иллюстрации, фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Жидкие дозированные формы обычно включают активный агент и инертный разбавитель, такой как, например, вода или другие растворители, солюбилизующие агенты и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, масла (особенно, хлопковое, арахисовое, кукурузное, зародышевое, оливковое, касторовое и кунжутное масла), олеиновая кислота, глицерин, тетрагидрофуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот с сорбитаном и их смеси. Альтернативно, некоторые жидкие составы могут быть превращены, например, с помощью сушки распылением, в порошок, который используется для приготовления твердых лекарственных форм обычными методами.

Суспензии, в дополнение к активному ингредиенту, могут содержать суспендирующие агенты, такие как, например, этоксилированные изостеариловые спирты, сложные эфиры полиоксиэтиленсорбита и сорбитана, микрокристаллическая целлюлоза, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант и их смеси.

Соединения в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль также можно вводить парентерально (например, внутривенной, подкожной, внутримышечной или внутрибрюшинной инъекцией). Для парентерального введения активный агент обычно смешивают с подхо-

дящим носителем для парентерального введения, включая, например, стерильные водные растворы, физиологический раствор, низкомолекулярные спирты, такие как пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, желатин, сложные эфиры жирных кислот, такие как этилолеат, и подобные. Парентеральные составы также могут содержать один или более антиоксидантов, солюбилизаторов, стабилизаторов, консервантов, смачивающих агентов, эмульгаторов, буферных агентов или диспергирующих агентов. Эти составы могут быть сделаны стерильными путем использования стерильной инъекционной среды, стерилизующего агента, фильтрации, облучения или нагрева.

Альтернативно, фармацевтические композиции в соответствии с данным изобретением составлены для введения ингаляцией. Подходящие фармацевтические композиции для введения ингаляцией обычно имеют форму аэрозоля или порошка. Такие композиции обычно вводят с использованием хорошо известных устройств доставки, таких как дозирующий ингалятор, порошковый ингалятор, небулайзер или подобное устройство доставки.

При введении ингаляцией с использованием контейнера под давлением, фармацевтические композиции в соответствии с данным изобретением, как правило, содержат активный ингредиент и подходящий газ-вытеснитель, такой как дихлордифторметан, трихлорфторметан, дихлортетрафторэтан, двуокись углерода или другой подходящий газ. Кроме того, фармацевтическая композиция может быть в форме капсулы или картриджа (сделанного, например, из желатина), содержащего соединение в соответствии с данным изобретением и порошок, подходящий для использования в порошковом ингаляторе. Подходящие порошковые основы включают, например, лактозу или крахмал.

Соединения в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемая соль также могут быть составлены для местного нанесения на кожу в виде мази или крема. Составы мази представляют собой полутвердые препараты, имеющие основу из маслянистого или жирного материала, которая обычно является прозрачной. Подходящие масляные материалы для использования в составах мазей включают вазелин (вазелиновое масло), пчелиный воск, масло какао, масло ши и цетиловый спирт. Мази необязательно могут дополнительно включать смягчители и усилители проникновения, если это желательно.

Кремовые составы могут быть приготовлены в виде эмульсий, содержащих масляную фазу и водную фазу, обычно включающих очищенную воду. Компоненты кремовых составов могут включать: масляные основы, такие как вазелин, минеральные масла, растительные и животные масла и триглицериды; кремовые основы, такие как ланолиновые спирты, стеариновая кислота и цетостеариловый спирт; гелевую основу, такую как поливиниловый спирт; растворители, такие как пропиленгликоль и полиэтиленгликоль; эмульгаторы, такие как полисорбаты, стеараты, такие как глицерилстеарат, октилгидроксистеарат, полиоксилстеарат, стеариловые эфиры ПЭГ, изопропилпальмитат и сорбитанмоностеарат; стабилизаторы, такие как полисахариды и сульфит натрия; смягчители (т.е. увлажнители), такие как триглицериды со средней длиной цепи, изопропилмиристат и диметикон; укрепляющие агенты, такие как цетиловый спирт и стеариловый спирт; антимикробные агенты, такие как метилпарабен, пропилпарабен, феноксиэтанол, сорбиновая кислота, диазолидинилмочевина и бутилированный гидроксианизол; усилители проникновения, такие как N-метилпирролидон, пропиленгликоль, монолаурат полиэтиленгликоля и подобные; и хелатирующие агенты, такие как эдетат динатрия.

Следующие неограничивающие примеры иллюстрируют типовые фармацевтические композиции в соответствии с данным изобретением.

Таблетированная пероральная твердая дозированная форма

Соединение в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль смешивают в сухом виде с микрокристаллической целлюлозой, поливинилпирролидоном и кроскармеллозой натрия в соотношении 4:5:1:1 и прессуют в таблетки для получения стандартной дозы, например 5, 20 или 40 мг активного вещества на таблетку.

Капсулированная пероральная твердая дозированная форма

Соединение в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль объединяют с микрокристаллической целлюлозой, поливинилпирролидоном и кроскармеллозой натрия в соотношении 4:5:1:1 влажным гранулированием и загружают в желатиновые или гидроксипропилметилцеллюлозные капсулы для получения стандартной дозы, например, 5, 20 или 40 мг активного вещества на капсулу.

Жидкий состав

Жидкий состав, содержащий соединение в соответствии с данным изобретением (0,1%), воду (98,9%) и аскорбиновую кислоту (1,0%), получают добавлением соединения в соответствии с данным изобретением в смесь воды и аскорбиновой кислоты.

Пероральная дозированная форма с энтеросолюбильной оболочкой

Соединение в соответствии с данным изобретением растворяют в водном растворе, содержащем поливинилпирролидон, и наносят распылением на шарики из микрокристаллической целлюлозы или сахара в соотношении 1:5 мас./мас, активный агент:шарики и затем наносят с примерно 5% увеличением массы энтеросолюбильное покрытие, содержащее акриловый сополимер, например, сочетание акриловых сополимеров, доступных под торговыми названиями Eudragit-L® и Eudragit-S®, или сукцинат ацета-

та гидроксипропилметилцеллюлозы. Гранулы с энтеросолюбильным покрытием загружают в желатиновые или гидроксипропилметилцеллюлозные капсулы для получения стандартной дозы, например 30 мг активного агента на капсулу.

Пероральная дозированная форма с энтеросолюбильной оболочкой

Энтеросолюбильное покрытие, содержащее сочетание Eudragit-L® и Eudragit-S®, или сукцинат ацетата гидроксипропилметилцеллюлозы наносят на таблетированную пероральную дозированную форму или капсулированную пероральную дозированную форму, описанную выше.

Состав мази для местного введения

Соединение в соответствии с данным изобретением объединяют с вазелином, C₈-C₁₀-триглицеридом, октилгидроксистеаратом и N-метилпирролидоном в соотношении для получения композиции, содержащей от 0,05 до 5 мас.% активного агента.

Состав мази для местного введения

Соединение в соответствии с данным изобретением объединяют с белым вазелином, пропиленгликолем, моно- и диглицеридами, парафином, бутилированным гидрокситолуолом и натрия кальция эдетатом в соотношении для получения композиции, содержащей от 0,05 до 5 мас.% активного агента.

Состав мази для местного введения

Соединение в соответствии с данным изобретением объединяют с минеральным маслом, парафином, пропиленкарбонатом, белым вазелином и белым воском для получения композиции, содержащей от 0,05 до 5 мас.% активного агента.

Состав крема для местного введения

Минеральное масло объединяют с соединением в соответствии с данным изобретением, пропиленгликолем, изопропилпальмитатом, полисорбатом 60, цетиловым спиртом, сорбитанмоностеаратом, полиоксил 40 стеаратом, сорбиновой кислотой, метилпарабеном и пропилпарабеном с образованием масляной фазы, которая объединяется с очищенной водой смешиванием со сдвигом с получением композиции, содержащей от 0,05 до 5 мас.% активного агента.

Состав крема для местного введения

Состав крема, содержащий соединение в соответствии с данным изобретением, бензиловый спирт, цетиловый спирт, безводную лимонную кислоту, моно- и диглицериды, олеиловый спирт, пропиленгликоль, сульфат целостеарила натрия, триглицериды и воду, содержит от 0,05 до 5 мас.% активного агента.

Состав крема для местного введения

Состав крема, содержащий соединение в соответствии с данным изобретением, цетостеариловый спирт, изопропилмиристат, пропиленгликоль, цетомакроголь 1000, диметикон 360, лимонную кислоту, цитрат натрия и очищенную воду, с имидмачевиной, метилпарабеном и пропилпарабеном в качестве консервантов, содержит от 0,05 до 5 мас.% активного агента.

Применение

Ингибирование JAK3 блокирует передачу сигналов многих ключевых провоспалительных цитокинов. Таким образом, ожидается, что соединения в соответствии с данным изобретением будут полезны при лечении воспалительных заболеваний.

Соединения в соответствии с данным изобретением были разработаны, чтобы быть селективными для JAK3 по сравнению с JAK1, JAK2 и TYK2. Селективность по отношению к JAK3 по сравнению с JAK1, как ожидается, будет полезной, поскольку есть некоторые доказательства того, что селективность к JAK3 позволяет сэкономить потенциально полезные цитокины, такие как IL-10, которые вовлечены в заживление слизистой оболочки, IL-22, который вовлечен в защиту слизистой барьера и регенерацию эпителия, и IL-6, который вовлечен в пролиферацию кишечных эпителиальных клеток. Селективность в отношении JAK3 по сравнению с JAK2 позволяет сэкономить передачу сигналов эритропоэтина (ЭПО) и тромбопоэтина (ТПО).

Не ограничиваясь этой теорией, соединения в соответствии с данным изобретением обладают электрофильной частью, которая может образовывать ковалентную связь с цистеином (Cys909), присутствующим в JAK3, остатком, замещенным серином в других трех изоформах JAK (Goedken et al., J Biol Chem., 2015, 290, 8, 4573-89). Такое ковалентное связывание с JAK3 может быть полезным, обеспечивая расширенное сцепление с мишенью, которое может привести к лучшей эффективности. Как описано в экспериментальной части, были получены сокристаллические структуры соединений 1, 3 и 4, ковалентно связанные с JAK3 человека, что подтверждает необратимую природу связывания каждого из этих лигандов с JAK3.

Некоторые соединения в соответствии с данным изобретением были разработаны таким образом, чтобы оказывать воздействие на место действия без значительных системных эффектов, что позволяет избежать потенциальных неблагоприятных системных иммунодепрессивных эффектов.

Желудочно-кишечные воспалительные заболевания

В дополнение к эффективному ингибированию JAK3, некоторые соединения в соответствии с данным изобретением были разработаны так, чтобы плохо абсорбироваться для минимизации системного воздействия. Эти соединения разработаны так чтобы оказывать действие в месте действия, например в толстой кишке. Как описано в исследовании 6, определенные соединения демонстрируют низкую прони-

цаемость со значениями K_p менее около 5×10^{-6} см/с, что считается благоприятным для минимизации системного воздействия и воздействия на толстую кишку. Определенные соединения имеют значение K_p менее около 10×10^{-6} см/с, что также может быть достаточным для минимизации системного воздействия и воздействия на толстую кишку. Как описано в исследовании 7 ниже, соединения 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 21 и 22 демонстрируют соотношение воздействия в толстой кишке и воздействия в плазме при пероральном введении больше около 1250. Соединения 9, 5, 19 и 20 демонстрируют соотношение толстой кишки к плазме свыше около 200.

Вызванный оксазолоном колит является экспериментальной моделью, которая имеет гистологическое сходство с язвенным колитом человека. Как описано в исследовании 8, соединения 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 3-11, 5-10, 19, 15-1, 3-55, 3-34, 15-3, 21, 3-80, 3-81, 3-72, 3-57, 3-113 и 3-74 демонстрируют активность в модели вызванного оксазолоном колита у мышей. Кроме того, при тестировании в исследовании 9 модели иммунодепрессии у мышей, которая исследует системную функциональную активность, импульсы селезеночных NK клеток не были затронуты соединениями 1, 2, 4, 5 и 8 и тех же или более высоких дозах, требуемых для демонстрации эффективности в модели оксазолона.

Наконец, было показано, что соединения 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8 демонстрируют отсутствие системной активности в мышинной модели IL-2 вызванной pSTAT5 индукции в тимусе.

Таким образом, эти соединения демонстрируют противовоспалительное действие без демонстрации системного воздействия в предклинических моделях.

Ожидается, что высокое соотношение толстой кишки к плазме обеспечит устойчивую полостную противовоспалительную активность без связанных с этим системных побочных эффектов. Такие соединения могут быть полезны при разнообразных желудочно-кишечных воспалительных показаниях, которые включают, но не ограничиваются ими, воспалительное заболевание кишечника, язвенный колит (проктосигмоидит, панколит, язвенный проктит и левосторонний колит), болезнь Крона, коллагеновый колит, лимфоцитарный колит, болезнь Бехчета, целиакию, колит, вызванный ингибитором иммунной контрольной точки, илеит, эозинофильный эзофагит, колит, связанный с заболеванием трансплантат против хозяина, и инфекционный колит. Язвенный колит (Reimund et al., J Clin Immunology, 1996, 16, 144-150), болезнь Крона (Woywodt et al., Eur J Gastroenterology Hepatology, 1999, 11, 267-276), коллагеновый колит (Kumawat et al., Mol Immunology, 2013, 55, 355-364), лимфоцитарный колит (Kumawat et al., 2013), эозинофильный эзофагит (Weinbrand-Goichberg et al., Immunol Res, 2013, 56, 249-260), колит, связанный с заболеванием трансплантат против хозяина (Coghill et al., Blood, 2001, 117, 3268-3276), инфекционный колит (Stallmach et al., Int J Colorectal Dis, 2004, 19, 308-315), болезнь Бехчета (Zhou et al., Autoimmun Rev, 2012, 11, 699-704), целиакия (de Nitto et al., World J Gastroenterol, 2009, 15, 4609-4614), колит, вызванный ингибитором иммунной контрольной точки (например, колит, вызванный ингибитором CTLA-4; (Yano et al., J Translation Med, 2014, 12, 191), колит, вызванный ингибитором PD-1 или PD-L1) и илеит (Yamamoto et al., Dig Liver Dis, 2008, 40, 253-259) характеризуются повышением уровня определенных провоспалительных цитокинов. Поскольку многие провоспалительные цитокины передают сигналы посредством активации JAK, соединения, описанные в этой заявке, могут быть в состоянии облегчить воспаление и обеспечить облегчение симптомов.

В частности, соединения в соответствии с данным изобретением могут быть полезны для вызова и поддержания ремиссии язвенного колита, а также для лечения болезни Крона, колита, вызванного ингибитором иммунной контрольной точки, и желудочно-кишечных побочных эффектов при заболевании трансплантат против хозяина.

Таким образом, в одном аспекте в изобретении представлен способ лечения желудочно-кишечного воспалительного заболевания у млекопитающего (например, человека), включающий введение млекопитающему соединения в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции, включающей фармацевтически приемлемый носитель и соединение в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль.

Изобретение также относится к способу лечения язвенного колита у млекопитающего, включающему введение млекопитающему соединения в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемой соли или фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель и соединение в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемая соль.

При использовании для лечения язвенного колита, соединения в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль обычно вводят перорально в однократной суточной дозе или в многократных дозах в сутки, хотя могут использоваться и другие формы введения. Количество активного агента, вводимого на дозу, или общее количество, вводимое за сутки, обычно определяется врачом с учетом соответствующих обстоятельств, включая состояние, подлежащее лечению, выбранный путь введения, фактическое введенное соединение и его относительную активность, возраст, вес и реакцию отдельного пациента, серьезность симптомов пациента и подобные.

Ожидается, что подходящие дозы для лечения язвенного колита и других желудочно-кишечных воспалительных расстройств будут составлять от около 1 до около 400 мг/сутки активного агента, вклю-

чая от около 5 до около 300 мг/сутки и от около 20 до около 70 мг в сутки активного агента для человека со средним весом 70 кг.

Комбинированная терапия.

Соединения в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемая соль также могут быть использованы в сочетании с одним или несколькими агентами, которые действуют по одному и тому же механизму или по различным механизмам воздействия на желудочно-кишечные воспалительные заболевания. Различные агенты могут вводиться последовательно или одновременно (в отдельных композициях или в одной и той же композиции). Полезные классы агентов для комбинированной терапии включают, но не ограничиваются ими, аминосалицилаты, стероиды, системные иммунодепрессанты, анти-TNF α -антитела, ингибитор лиганда TNF альфа, TNF-связывающий агент, анти-VLA-4-антитела, анти-интегрин $\alpha_4\beta_7$ антитела, антибактериальные агенты, глюкокортикоидные агонисты, ингибиторы ядерного фактора каппа В, ингибиторы 5-липоксигеназы, антагонист интегрин альфа-4/бета-7, ингибиторы циклооксигеназы, антагонисты IL-23, антагонисты лейкотриенового рецептора BLT, антагонисты IL-6, антагонисты IL-8, антагонисты интегрин, агонисты никотиновых ацетилхолиновых рецепторов, агонисты PPAR гамма, модуляторы рецептора-1 сфингозин-1-фосфата, ингибиторы В-лимфоцитного антигена CD20, ингибиторы кальциейрина, антагонист CD3, ингибиторы молекулы клеточной адгезии, ингибиторы эозинофилпероксидазы, агонисты гепарина, ингибиторы гена ICAM1, антагонисты IL-13, ингибиторы альфа субъединицы рецептора IL-2, сенсibilизаторы инсулина, лиганды интерферона бета, антагонисты рецептора интерферона гамма, модуляторы бета лиганда интерлейкина-1, ингибиторы MAdCAM, ингибиторы PDE 4, агонисты сфингозин-1-фосфатного рецептора-1, агонисты TLR-9, ингибиторы ацетилхолинэстеразы, агонисты рецептора AKTГ, антагонисты рецептора активина, антагонисты хемокина CCR5, антагонисты хемокина CCR9 и противодиарейные лекарственные средства.

Аминосалицилаты, которые могут быть использованы в сочетании с представленными соединениями ингибиторами JAK, включают, но не ограничиваются ими, мезаламин, осалазин и сульфасалазин. Примеры стероидов включают, но не ограничиваются ими, преднизон, преднизолон, гидрокортизон, будесонид, беклометазон и флутиказон. Системные иммунодепрессанты, применяемые для лечения воспалительных заболеваний, включают, но не ограничиваются ими, циклоспорин, азатиоприн, метотрексат, 6-меркаптопурин и такролимус. Кроме того, анти-TNF α антитела, которые включают, но не ограничиваются ими, инфликсимаб, адалимумаб, голимумаб и цертолизумаб, могут использоваться в комбинированной терапии. Полезные соединения, действующие по другим механизмам, включают анти-VLA-4 антитела, такие как натализумаб, антиинтегрин $\alpha_4\beta_7$ антитела, такие как ведолизумаб, антибактериальные средства, такие как рифаксимин, и противодиарейные лекарственные средства, такие как лоперамид. (Mozaffari et al. Expert Opin. Biol. Ther, 2014, 14, 583-600; Danese, Gut, 2012, 61, 918-932; Lam et al., Immunotherapy, 2014, 6, 963-971.)

Другие соединения, которые могут применяться в сочетании с данными соединениями ингибиторами JAK, включают, но не ограничиваются ими, опаганиб, абатацепт, монгерсен, филготиниб, LYC-30937, BI-655130, мирикизумаб, адалимумаб, такролимус, ритуксимаб, GSK-2982772, андекаликсимаб, налтрексон, ризанкизумаб, QBECO, аликафорсен, этролизумаб, форалумаб, окрелизумаб, ведолизумаб, амиселимод, озанимод, долканатид, катридекаког, будесонид, STNM-01, каннабидиол, телотристан этипрат, SHP-647, каротеграст метил, пег-илодекакин, TOP-1288, иберогаст N, PF-06480605, пефицитиниб, беклометазон, рекомбинантный интерферон бета-1а, инфликсимаб, голимумаб, тралокинумаб, устекинумаб, цетролизумаб пегол, талидомид, упадацитиниб, апремиласт, натализумаб, интерферон бета-1а, рифаксимин, RBX-2660, этразимод, зилеутон, финголимод, кобитолимод, ропивакаин, ABX-464, PF-06700841, преднизолон, GLPG-0974, валганцикловир, циклоспорин, VB-201, гулинерцепт, MDGN-002, ПТГ-100, дексаметазон, GED-0507-34-Levo, бертилиумаб, бразикумаб, КНК-4083, розиглитазон, мокравимод, сотрастуурин, KAG-308, PUR-0110, E-6007, балсалазид, базиликсимаб, LP-02, ASP-3291, Trichuris suis ova, K(D)PT, мидисмаз, DNVX-078, вателизумаб, алектель, низкомолекулярный гепарин, метенкефалин, тридекакитид, HMPL-004, SB-012, олсалазин, балсалазид, пропионил-L-карнитин, Clostridium butyricum, беклометазон и ацеманнан.

Следовательно, в другом аспекте в изобретении представлено терапевтическое сочетание для применения при лечении желудочно-кишечных воспалительных расстройств, где сочетание содержит соединение в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль и один или более других терапевтических агентов, пригодных для лечения желудочно-кишечных воспалительных расстройств, таких, как показано выше. Например, в изобретении представлено сочетание, включающее соединение в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль и один или более агентов, выбранных из аминосалицилатов, стероидов, системных иммунодепрессантов, анти-TNF α антител, анти-VLA-4 антител, антиинтегрин $\alpha_4\beta_7$ антител, антибактериальных средств и противодиарейных лекарственных средств. Вторичные агенты, если они включены, присутствуют в терапевтически эффективном количестве, т.е. в любом количестве, которое оказывает терапевтически полезное действие при совместном введении с соединением в соответствии с данным изобретением или его фарма-

цветически приемлемой солью.

Поэтому также представлена фармацевтическая композиция, содержащая соединение в соответствии с данным изобретением, его фармацевтически приемлемую соль или кристаллическую форму и один или несколько других терапевтических агентов, пригодных для лечения желудочно-кишечных воспалительных расстройств.

Кроме того, в аспекте способа, в изобретении представлен способ лечения желудочно-кишечных воспалительных расстройств, включающий введение млекопитающему соединения в соответствии с данным изобретением, его фармацевтически приемлемой соли или кристаллической формы и одного или более других терапевтических агентов, пригодных для лечения желудочно-кишечных воспалительных заболеваний.

При использовании в комбинированной терапии, агенты могут быть составлены в одну фармацевтическую композицию, как описано выше, или агенты могут быть предоставлены в отдельных композициях, которые вводят одновременно или в разное время, одним и тем же, или различными путями введения. При отдельном введении, агенты вводят достаточно близко по времени так, чтобы обеспечить желаемый терапевтический эффект. Такие композиции могут быть упакованы отдельно или могут быть упакованы вместе в виде набора. Два или более терапевтических агента в наборе могут вводиться одним и тем же путем введения или различными путями введения.

Воспалительные заболевания кожи

Атопический дерматит и другие воспалительные заболевания кожи связаны с повышением уровня провоспалительных цитокинов, которые зависят от пути JAK-STAT. Поэтому соединения в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемая соль или их кристаллические формы могут применяться при ряде кожных воспалительных или зудящих состояний, которые включают, но не ограничиваются ими, атопический дерматит, очаговую алопецию, витилиго, псориаз, дерматомиозит, кожная Т-клеточная лимфома (Netchiporouk et al., Cell Cycle. 2014; 13, 3331-3335) и подтипы (синдром Сезари, грибовидный микоз, педжетоидный ретикулез, гранулематозная сухость кожи, лимфоматоидный папулез, хронический лихеноидный параспориоз, оспенновидный лихеноидный острый параспориоз, CD30+ кожная Т-клеточная лимфома, вторичная кожная CD30+ крупноклеточная лимфома, CD30-кожная Т-клеточная лимфома не являющаяся грибовидным микозом, плеоморфная Т-клеточная лимфома, лимфома Леннерта, подкожная Т-клеточная лимфома, ангиоцентрическая лимфома, бластическая НК-клеточная лимфома), узловатая чесотка, красный плоский лишай, первичный локализованный кожный амилоидоз, буллезный пемфигоид, кожные проявления болезни трансплантат против хозяина, пемфигоид, дискоидная волчанка, кольцевидная гранулема, простой хронический лишай, зуд вульвы/мошонки/перианального канала, каплевидная склеродермия, зуд при постгерпетической невралгии, плоский фолликулярный лишай и декальцитирующий фолликулит. В частности, атопический дерматит (Bao et al., JAK-STAT, 2013, 2, e24137), очаговая алопеция (Xing et al., Nat Med. 2014, 20, 1043-1049), витилиго (Craiglow et al., JAMA Dermatol. 2015, 151, 1110-1112), узловатая чесотка (Sonkoly et al., J Allergy Clin Immunol, 2006, 117, 411-417), красный плоский лишай (Welz-Kubiak et al., J Immunol Res. 2015, ID:854747), первичный локализованный кожный амилоидоз (Tanaka et al., Br J Dermatol. 2009, 161, 1217-1224), буллезный пемфигоид (Feliciani et al., Int J Immunopathol Pharmacol. 1999, 12, 55-61), и кожные проявления заболевания трансплантат против хозяина (Okiyama et al., J Invest Dermatol, 2014, 134, 992-1000) характеризуются увеличением определенных цитокинов, который подают сигнал через активацию JAK. Следовательно, соединения в соответствии с данным изобретением или их фармацевтически приемлемая соль или их кристаллические формы могут быть способны облегчить ассоциированное кожное воспаление или зуд, вызываемые этими цитокинами. В частности, можно ожидать, что соединения в соответствии с данным изобретением или их фармацевтически приемлемая соль или их кристаллические формы могут быть полезны для лечения атопического дерматита и других воспалительных заболеваний кожи.

В одном аспекте, в изобретении представлен способ лечения воспалительного заболевания кожи у млекопитающего (например, человека), включающий нанесение фармацевтической композиции, содержащей соединение в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль или его кристаллическую форму и фармацевтический носитель на кожу млекопитающего. В одном аспекте, воспалительным заболеванием кожи является атопический дерматит.

Соединения в соответствии с данным изобретением или их фармацевтически приемлемая соль или их кристаллическая форма также могут применяться в сочетании с одним или более соединениями, применяемым для лечения воспалительных заболеваний кожи. В некоторых вариантах одним или более соединениями является астероид, антагонист рецептора гистамина H1, ингибитор кальциневрина, антагонист IL-13, ингибитор PDE 4, антагонист рецептора 44, сопряженного с G-белком, антагонист IL-4, антагонист рецептора 5-HT 1a, антагонист рецептора 5-HT 2b, агонист альфа 2 адренорецептора, антагонист каннабиноидного рецептора CB1, хемокин CCR3, антагонист, ингибитор коллагеназы, ингибитор цитозольной фосфолипазы A2, ингибитор эотаксина лиганда, ингибитор фактора транскрипции GATA 3, антагонист рецептора гистамина H4, антагонист IL-10, антагонист IL-12, антагонист IL-17, антагонист IL-2, антагонист IL-23, модулятор рецептора IL-4, антагонист IL-5, антагонист иммуноглобулина E, мо-

дулятор иммуноглобулина E, антагонист гамма-рецептора интерферона, ингибитор лиганда интерлейкина 33, антагонист рецептора интерлейкина-31, антагонист лейкотриена, агонист рецептора печени X, агонист рецептора печени X бета, ингибитор ядерного фактора каппа B, антагонист рецептора OX-40, антагонист PGD2, ингибитор фосфолипазы A2, стимулятор домена SH2 инозитолфосфатазы 1, ингибитор лиганда тимусного стромального лимфопротейна, модулятор TLR, модулятор лиганда TNF альфа или антагонист ваниллоидного рецептора VR1. В некоторых вариантах, одним или более соединениями являются грамположительный антибиотик, такой как мупироцин или фузидиновая кислота. В некоторых вариантах, одним или более соединениями являются транлизат, такролимус, эпинастин, SB-011, AM-1030, ZPL-521, MM-36, FB-825, PG-102, виромед, GBR-830, AVX-001, AMG-0101, E-6005, DMT-210, AX-1602, бертилимуау, розиптор ацетат, Q-301, ANB-020, VTP-38543, ZPL-389, лебрикизумаб, тезепелумаб, фексофенадин, пимекролимус, бепотастин, кризаборол, тралокинумаб, февипипрант, доксициклин, дезлоратадин, ALX-101, немолизумаб, асиватреп, циклоспорин, меполизумаб, дупилумаб, секукинумаб, тимапипрант или устекинумаб.

В одном аспекте, поэтому, в изобретении представлен способ лечения воспалительного заболевания кожи у млекопитающего, где способ включает нанесение соединения в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемой соли или кристаллической формы и грамположительного антибиотика на кожу млекопитающего. В другом аспекте изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль или его кристаллическую форму, грамположительный антибиотик и фармацевтически приемлемый носитель.

Респираторные заболевания

Цитокины, которые подают сигнал через путь JAK-STAT, в частности, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-11, IL-13, IL-23, IL-31, IL-27, тимусный стромальный лимфопоэтин (ТСЛП), интерферон- γ (IFN γ) и гранулоцитарно-макрофаговый колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) также вовлечены в астматические воспаления и другие воспалительные респираторные заболевания. Как описано выше, было показано, что соединения в соответствии с данным изобретением являются мощными ингибиторами JAK3 и также демонстрируют мощное ингибирование IL-2 провоспалительных цитокинов в клеточных исследованиях.

Противовоспалительная активность ингибиторов

JAK была надежно продемонстрирована в предклинических моделях астмы (Malaviya et al., *Int Immunopharmacol*, 2010, 10, 829-836; Matsunaga et al., *Biochem и Biophys Res Commun*, 2011, 404, 261-267; Kudlacz et al., *Eur J Pharmacol*, 2008, 582, 154-161.) Следовательно, соединения в соответствии с данным изобретением или их фармацевтически приемлемая соль или их кристаллическая форма могут быть полезны для лечения воспалительных респираторных расстройств, таких как астма. Воспаление и фиброз легких характерны для других респираторных заболеваний, помимо астмы, таких как хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), муковисцидоз (МВ), пневмонит, интерстициальные заболевания легких (включая идиопатический легочный фиброз), острое повреждение легких, острый респираторный дистресс-синдром, бронхит, эмфизема и облитерирующий бронхиолит. Следовательно, соединения в соответствии с данным изобретением или их фармацевтически приемлемая соль могут быть полезны для лечения хронической обструктивной болезни легких, муковисцидоза, пневмонита, интерстициальных заболеваний легких (включая идиопатический легочный фиброз), острого повреждения легких, острого респираторного дистресс-синдрома, бронхита, эмфиземы, облитерирующего бронхиолита, облитерирующего бронхиолита с организующейся пневмонией (также называемого COS), первичной дисфункцией трансплантата (ПДТ) организующейся пневмонией (ОП), острого отторжения (ОО), лимфоцитарного бронхиолита (ЛБ), хронической дисфункции аллотрансплантата легкого (ХДАЛ), рестриктивной ХДАЛ (рХДАЛ или RAS), нейтрофильной дисфункции аллотрансплантата и саркоидоза.

В одном аспекте поэтому изобретение предоставляет способ лечения респираторного заболевания у млекопитающего (например, человека), включающий введение млекопитающему соединения в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемой соли или его кристаллической формы.

В одном аспекте респираторным заболеванием является астма, хроническая обструктивная болезнь легких, муковисцидоз, пневмонит, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), муковисцидоз (МВ), пневмонит, интерстициальные заболевания легких (включая идиопатический легочный фиброз), острое повреждение легких, острый респираторный дистресс-синдром, бронхит, эмфизема, облитерирующий бронхиолит, облитерирующий бронхиолит с организующейся пневмонией (также называемый COS), первичная дисфункция трансплантата (ПДТ), организующаяся пневмония (ОП), острое отторжение (ОО), лимфоцитарный бронхиолит (ЛБ), хроническая дисфункция аллотрансплантата легкого (ХДАЛ), рестриктивная ХДАЛ (рХДАЛ или RAS), нейтрофильная дисфункция аллотрансплантата, аллергический ринит или саркоидоз. В другом аспекте респираторным заболеванием является астма или хроническая обструктивная болезнь легких.

В другом аспекте респираторным заболеванием является инфекция легких, глистная инфекция, легочная артериальная гипертензия, саркоидоз, лимфангиолейомиоматоз, бронхоэктазия или инфильтра-

тивное заболевание легких. В еще одном аспекте респираторным заболеванием является лекарственный пневмонит, грибковый пневмонит, аллергический бронхолегочный аспергиллез, пневмонит гиперчувствительности, эозинофильный гранулематоз с полиангиитом, идиопатическая острая эозинофильная пневмония, идиопатическая хроническая эозинофильная пневмония, гиперэозинофильный синдром, синдром Леффлера, облитерирующий бронхиолит с организующейся пневмонией или пневмонит, вызванный ингибитором иммунной контрольной точки.

В описании также представлен способ лечения респираторного заболевания, где способ содержит введение млекопитающему фармацевтической композиции, содержащей соединение в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль или его кристаллическую форму и фармацевтически приемлемый носитель.

Соединения в соответствии с данным изобретением или их фармацевтически приемлемая соль или их кристаллическая форма также могут применяться в сочетании с одним или более соединениями, применяемыми при респираторных заболеваниях.

Глазные болезни

Было показано, что многие глазные болезни связаны с повышением уровня провоспалительных цитокинов, которые зависят от пути JAK-STAT.

Следовательно, соединения в соответствии с данным изобретением или их фармацевтически приемлемая соль или их кристаллические формы могут быть полезны при лечении ряда глазных болезней, которые включают, но не ограничиваются ими, увеит, диабетическую ретинопатию, диабетический отек желтого пятна, сухость глаз, возрастную дегенерацию желтого пятна, окклюзию вены сетчатки (ОВС) и атопический кератоконъюнктивит.

В частности, увеит (Horai и Caspi, *J Interferon Cytokine Res*, 2011, 31, 733-744), диабетическая ретинопатия (Abcouwer, *J Clin Cell Immunol*, 2013, Suppl 1, 1-12), диабетический отек желтого пятна (Sohn et al., *American Journal of Ophthalmology*, 2011, 152, 686-694), сухость глаз (Stevenson et al., *Arch Ophthalmol*, 2012, 130, 90-100), окклюзия вены сетчатки (Shchuko et al., *Indian Journal of Ophthalmology*, 2015, 63(12), 905-911) и возрастная дегенерация желтого пятна (Knickerbein et al., *Int Ophthalmol Clin*, 2015, 55(3), 63-78) характеризуются повышением уровня определенных провоспалительных цитокинов, которые подают сигнал через путь JAK-STAT. Следовательно, соединения в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемая соль могут быть способны облегчить связанное с этим воспаление глаз и обратить вспять прогрессирование заболевания или обеспечить облегчение симптомов.

В одном аспекте поэтому представлен способ лечения глазной болезни у млекопитающего, где способ включает введение фармацевтической композиции, содержащей соединение в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемую соль или его кристаллическую форму, и фармацевтический носитель в глаз млекопитающего. В одном аспекте глазным заболеванием является увеит, диабетическая ретинопатия, диабетический отек желтого пятна, сухость глаз, возрастная дегенерация желтого пятна, окклюзия вены сетчатки или атопический кератоконъюнктивит. В одном аспекте способ включает введение соединения в соответствии с данным изобретением или его фармацевтически приемлемой соли или его кристаллической формы инъекцией в стекловидное тело.

Соединения в соответствии с данным изобретением или их фармацевтически приемлемая соль или их кристаллическая форма также может применяться в сочетании с одним или более соединениями, применяемыми при глазных болезнях.

Другие заболевания

Соединения в соответствии с данным изобретением или их фармацевтически приемлемая соль или их кристаллические формы также могут применяться для лечения других заболеваний, таких как другие воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания или рак.

Соединения в соответствии с данным изобретением или их фармацевтически приемлемая соль или их кристаллические формы могут применяться для лечения одного или нескольких из артрита, ревматоидного артрита, юношеского ревматоидного артрита, отторжения трансплантата, ксерофтальмии, псориаза, артрита, диабета, инсулинозависимого диабета, болезни двигательных нейронов, миелодиспластического синдрома, боли, саркопении, кахексии, септического шока, системной красной волчанки, лейкоза, хронического лимфоцитарного лейкоза, хронического миелоцитарного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, острого миелогенного лейкоза, анкилозирующего спондилита, миелофиброза, В-клеточной лимфомы, печеночно-клеточной карциномы, болезни Ходжкина, рака молочной железы, множественной миеломы, меланомы, неходжкинской лимфомы, немелкоклеточного рака легких, светлоклеточного рака яичников, рака яичников, рака поджелудочной железы, истинной полицитемии, синдрома Шегрена, саркомы мягких тканей, саркомы, спленомагии, Т-клеточной лимфомы и большой талассемии.

Было показано, что соединения в соответствии с данным изобретением являются сильными ингибиторами фермента JAK3 и являются селективными в отношении JAK3 по сравнению с JAK1, JAK2 и TYK2 в исследованиях связывания ферментов, и имеют сильную функциональную активность для JAK3 в клеточных исследованиях, описанных в следующих примерах.

Примеры

Следующие синтетические и биологические примеры предлагаются для иллюстрации изобретения, и их никоим образом не следует истолковывать как ограничивающие объем изобретения. В приведенных ниже примерах следующие сокращения имеют следующие значения, если не указано иное. Сокращения, не определенные ниже, имеют общепринятые значения.

АЦН	ацетонитрил
Рассч	рассчитано
Вос	трет-бутилоксикарбонил
д	день (дни)
ДИПЭА	N, N-диизопропилэтиламин
ДМФ	N, N-диметилформамид
ДМСО	диметилсульфоксид
EtOAc	этилацетат
EtOH	этиловый спирт
ч	час (часы)
ГАТУ	гексафторфосфат N, N, N', N'-тетраметил-O-(7-азабензотриазол-1-ил)урония
ИПС	изопропиловый спирт
MeOH	метанол
мин	минута (минуты)
КТ или кт	комнатная температура
SiG	силикагель
ТЭА	триэтиламин
ТГФ	тетрагидрофуран
ТГП	тетрагидропиран
ТФК	трифторуксусная кислота

Реагенты и растворители покупают у коммерческих поставщиков (Aldrich, Fluka, Sigma и др.) и используют без дальнейшей очистки. Развитие реакционных смесей контролируют с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ), аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии (анал. ВЭЖХ) и масс-спектрометрии. Реакционные смеси обрабатывают как описано конкретно в каждой реакции; обычно их очищают экстракцией и другими методами очистки, такими как кристаллизация в зависимости от температуры и растворителя и осаждение. Кроме того, реакционные смеси обычно очищают хроматографией на колонке или препаративной ВЭЖХ, обычно с применением колонок C18 или BDS и обычных элюентов. Типичные условия препаративной ВЭЖХ описаны ниже.

Характеризацию продуктов реакции обычно проводят массовой и ¹H-ЯМР спектрометрией. Для анализа ЯМР-образцы растворяют в дейтерированном растворителе (таком как CD₃OD, CDCl₃ или d₆-ДМСО), и ¹H-ЯМР спектр записывают на инструменте Varian Gemini 2000 (400 МГц) в стандартных условиях наблюдения. Масс-спектрометрическую идентификацию соединений выполняют способом ионизации электрораспылением (ЭРМС) с использованием инструмента Applied Biosystems, модель API 150 EX (Foster City, CA) или инструмента Waters 3100 (Milford, MA), соединенных с системами автоочистки.

Если не указано иное, для препаративной очистки ВЭЖХ используют следующие условия.

Колонка:	C18, 5 мкм 21,2×150 мм или C18, 5 мкм 21×250 мм или C14, 5 мкм 21×150 мм
Температура колонки:	Комнатная температура
Скорость потока:	20,0 мл/мин
Подвижные фазы:	A=вода+0,05% ТФК B=АЦН+0,05% ТФК
Объем впрыска:	(100-1500 мкл)
Длина волны датчика:	214 нм

Неочищенные соединения растворяют в 1:1 воде:уксусной кислоте в концентрации около 50 мг/мл. 4-Минутный испытательный прогон аналитической шкалы выполняют на колонке 2,1×50 мм C18 с последующим 15- или 20-минутным прогоном препаративной с применением 100 мкл инъекции с градиентом на основе % В удержания в испытательном прогоне аналитической шкалы. Точные градиенты зависят от образца. Образцы с близкораспространенными примесями проверяют на колонке 21×250 мм C18 и/или колонке 21×150 мм C14 для лучшего разделения. Фракции, содержащие желаемый продукт, идентифицируют масс-спектрометрическим анализом.

Условия аналитической ВЭЖХ

Способ А:

Колонка: LUNA C18 (2), 150×4,60 мм, 3 мкм

Температура колонки: 37°C

Скорость потока: 1,0 мл/мин

Объем впрыска: 5 мкл

Получение образца: растворяют в 1:1 АЦН:воде

Подвижные фазы: А=вода:АЦН:ТФК (98:2:0,05)

В=вода:АЦН:ТФК (2:98:0,05)

Длина волны датчика: 250 нм

Градиент: 32 мин всего (время (мин)/% В): 0/2, 10/20, 24/90, 29/90, 30/2, 32/2

Способ В:

Колонка: LUNA C18 (2), 150×4,60 мм, 3 мкм

Температура колонки: 37°C

Скорость потока: 1,0 мл/мин

Объем впрыска: 10 мкл

Получение образца: растворяют в 1:1 АЦН:воде

Подвижные фазы: А=вода:АЦН:ТФК (98:2:0,05)

В=вода:АЦН:ТФК (10:90:0,05)

Длина волны датчика: 254 нм

Градиент: 35 мин всего (время (мин)/% В): 0/2, 20/25, 23/90, 26/90, 27/2, 35/2

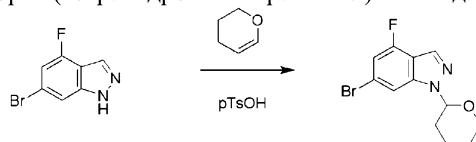
Изображения порошковой рентгеновской дифракции получают на рентгеновском дифрактометре Bruker D8-Advance с применением облучения Cu-K α ($\lambda=1,54051$ Å) с выходным напряжением 45 кВ и током 40 мА. Инструмент работает в геометрии Брэгга-Брентано с входной щелью, щелью расходимости и щелью рассеивания, позволяющими максимизировать интенсивность в образце. Для измерения небольшое количество порошка (5-25 мг) аккуратно прижимают к держателю образца для образования гладкой поверхности и подвергают рентгеновскому облучению. Образцы сканируют в режиме 2 θ - 2 θ от 2 до 35° в 2 θ с размером шага 0,02° и скоростью сканирования 0,30° с на шаг. Сбор данных контролируют измерительным программным обеспечением Bruker DiffraSuite и анализируют программным обеспечением Jade (версия 7.5.1). Инструмент калибруют корундовым стандартом в пределах $\pm 0,02^\circ$ угла дивергенции.

Дифференциальную сканирующую калориметрию (ДСК) проводят с применением модуля TA Instruments Model Q-100 с контроллером Thermal Analyst. Данные собирают и анализируют с применением программного обеспечения TA Instruments Thermal Analysis. Образец каждой кристаллической формы точно взвешивают в покрытой алюминиевой чашке. Через 5 мин периода изотермического уравнивания при 5°C образец нагревают с применением линейного увеличения нагрева 10°C/мин от 0 до 300°C.

Измерения термогравиметрического анализа (ТГА) проводят с применением модуля TA Instruments Model Q-50, оборудованного возможностью высокого разрешения. Данные собирают с помощью контроллера TA Instruments Thermal Analyst и анализируют с использованием программного обеспечения TA Instruments Universal Analysis. Взвешенный образец помещают на платиновую чашку и сканируют со скоростью нагрева 10°C от температуры окружающей среды до 300-350°C. Камеры весов и печи продувают потоком азота во время использования.

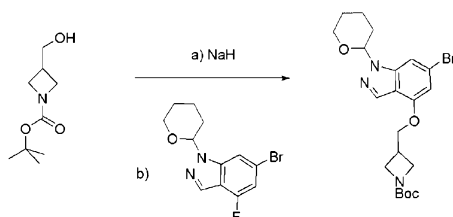
Измерения динамической сорбции влаги (ДСВ) проводят с использованием атмосферных микровесов VTI, системы SGA-100 (VTI Corp., Hialeah, FL 33016). Используют взвешенный образец, и влажность имеет наименьшее возможное значение (около 0% ОВ) в начале анализа. Анализ ДСВ состоит из начальной стадии сушки (0% ОВ) в течение 120 мин, за которой следуют два цикла сорбции и десорбции со скоростью сканирования 5% ОВ/шаг в диапазоне влажности от 5 до 90% ОВ. Прогон ДСВ проводят изотермически при 25°C.

Получение 1: 6-бром-4-фтор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол



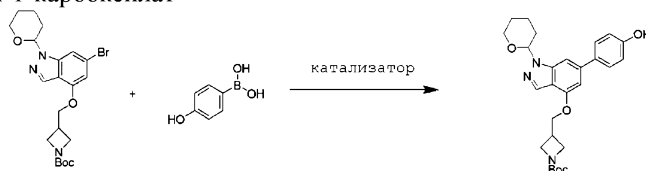
Смесь 6-бром-4-фтор-1Н-индазола (5 г, 23,25 ммоль), 3,4-дигидро-2Н-пирана (6,38 мл, 69,8 ммоль) и моногидрата п-толуолсульфоновой кислоты (0,442 г, 2,325 ммоль) в ДХМ (76 мл) перемешивают при кт в течение ночи. Реакционную смесь концентрируют, и полученный остаток очищают флэш-хроматографией на колонке с применением градиента 0-60% EtOAc/Гексан с получением желаемого продукта (6,08 г, 87% выход).

Получение 2: трет-бутил-3-(((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат



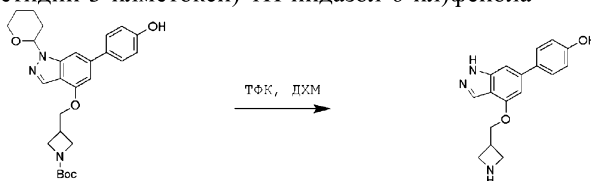
Гидрид натрия (1,003 г, 41,8 ммоль) медленно добавляют к перемешиваемому раствору 1-Вос-азетидин-3-илметанола (6,89 г, 36,8 ммоль) в ДМФ (60 мл) в атмосфере N_2 при $0^\circ C$ и реакционную смесь нагревают до кт. Пенистую реакционную смесь перемешивают в течение 30 мин при кт, затем снова охлаждают до $0^\circ C$. Раствор 6-бром-4-фтор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазола (5,00 г, 16,71 ммоль) в ДМФ (20 мл) медленно канюлируют в реакционную смесь, реакционную смесь нагревают до кт и перемешивают в течение 2 ч при кт. Реакционную смесь гасят медленным добавлением H_2O (150 мл) и EtOAc (100 мл) и перемешивают в течение 5 мин. Дополнительную воду (100 мл) добавляют и двухфазную смесь экстрагируют EtOAc (3×100 мл). Объединенные органические фракции затем промывают 1:1 H_2O насыщенным раствором соли (3×100 мл) и сушат над Na_2SO_4 . Полученное прозрачное слегка розовое масло очищают флэш-хроматографией на колонке с применением градиента 0-100% EtOAc/гексан с получением желаемого продукта в виде прозрачного бесцветного вязкого масла (7,34 г, 15,74 ммоль, 94% выход) (m/z): $[M+H]^+$ расчс для $C_{21}H_{28}BrN_3O_4$ 466,13, найдено 466,1

Получение 3: трет-бутил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат



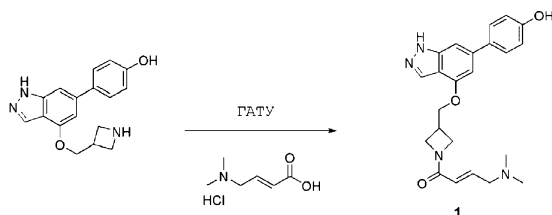
Продукт присоединения дихлор [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]палладия(II) к дихлорметану (1,93 г, 2,36 ммоль) добавляют к раствору 4-гидроксифензольбороновой кислоты (3,26 г, 23,61 ммоль), трет-бутил-3-(((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилата (7,34 г, 15,74 ммоль) и фосфата калия (10,02 г, 47,2 ммоль) в 1,4-диоксане (63,0 мл) и воде (15,74 мл). Реакционную смесь дегазируют N_2 в течение 10 мин и затем перемешивают при $110^\circ C$ в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме до объема около 5 мл. Добавляют насыщенный водный раствор хлорида аммония (20 мл) и смесь экстрагируют метиленхлоридом (3×20 мл). Экстракты метиленхлорида объединяют, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 50% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилата (7,55 г, 15,74 ммоль, 100% выход), (m/z): $[M+H]^+$ расчс для $C_{27}H_{33}N_3O_5$ 480,24, найдено 480,1.

Получение 4: 4-(4-(азетидин-3-илметокси)-1Н-индазол-6-ил)фенола



ТФК (10,90 мл) медленно добавляют к раствору трет-бутил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилата (7,84 г, 16,35 ммоль) в дихлорметане (21,80 мл). Прозрачный раствор перемешивают при кт в течение 5 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме с получением 4-(4-(азетидин-3-илметокси)-1Н-индазол-6-ил)фенола в виде соли ТФК (6,69 г, 16,35 ммоль, 100% выход), (m/z): $[M+H]^+$ расчс для $C_{17}H_{17}N_3O_2$ 296,13, найдено 296,1.

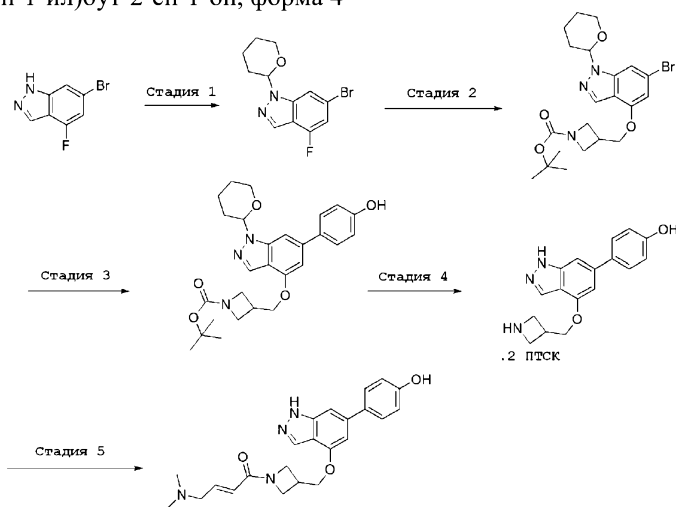
Пример 1А: (Е)-4-(диметиламино)-1-(3-(((6-(4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-ил)бут-2-ен-1-он



ГАТУ (гексафторфосфат 2-(7-аза-1Н-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурония, 817 мг, 2,150 ммоль) добавляют к раствору гидрохлорида (Е)-4-(диметиламино)бут-2-еновой кислоты (405 мг, 2,44 ммоль) в ДМФ (2,00 мл) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 5 мин. Добавляют ТФК соль 4-(4-(азетидин-3-илметокси)-1Н-индазол-6-ил)фенола (800 мг, 1,954 ммоль), затем ДИПЭА (1,707 мл, 9,77 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин и затем концентрируют в вакууме с получением желтой жидкости. Неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке С18 с препаративной шкалой с применением градиента 20-80% ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением (Е)-4-(диметиламино)-1-(3-(((6-(4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-ил)бут-2-ен-1-она в виде ТФК соли (235,0 мг, 0,578 ммоль, 29,6% выход), (m/z): $[M+H]^+$ расщ для $C_{23}H_{26}N_4O_3$ 407,20, найдено 407,2.

1H ЯМР (400 МГц, ДМСО- d_6) δ 13,07 (с, 1H), 10,33 (с, 1H), 7,93 (с, 1H), 7,55 (д, J=7,9 Гц, 2H), 7,21 (с, 1H), 6,86 (д, J=8,6 Гц, 2H), 6,79 (с, 1H), 6,66-6,58 (м, 1H), 6,45 (д, J=15,5 Гц, 1H), 4,45-4,36 (м, 2H), 4,17-4,07 (м, 2H), 3,91-3,83 (м, 3H), 3,22-3,10 (м, 2H), 2,75 (с, 6H).

Пример 1В: Кристаллический (Е)-4-(диметиламино)-1-(3-(((6-(4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-ил)бут-2-ен-1-он, форма 4



Стадия 1.

К суспензии 6-бром-4-фтор-1Н-индазола (20,0 г, 93 ммоль) в 200 мл ДХМ, добавляют моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты (1,769 г, 9,30 ммоль). Реакционная смесь остается суспензией. Затем добавляют 3,4-дигидро-2Н-пиран (16,97 мл, 186 ммоль). Полное растворение твердых веществ наблюдается через 5 мин. Реакционную смесь перемешивают при кт в течение ночи с получением темного раствора. Добавляют 200 мл водного бикарбоната, фазы разделяют и органический слой промывают 200 мл насыщенного раствора соли и сушат с сульфатом натрия. Раствор фильтруют через слой двуокиси кремния для удаления темного цвета, и двуокись кремния промывают 300 мл ДХМ. Растворитель выпаривают с получением 25 г продукта в виде беловатого твердого вещества.

Стадия 2А.

В 500-мл круглодонную колбу добавляют трет-бутил-3-(гидроксиметил)азетидин-1-карбоксилат (22,53 г, 120 ммоль) и 100 мл диметилацетамида (ДМАц). Колбу продувают азотом. Добавляют карбонат цезия (39,2 г, 120 ммоль). Добавляют 6-бром-4-фтор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол (24 г, 80 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при 70°C в течение 2 дней. Добавляют дополнительные 0,5 экв. трет-бутил-3-(гидроксиметил)азетидин-1-карбоксилата и карбоната цезия и реакционную смесь нагревают при 70°C в течение ночи до полного превращения. Реакционную смесь охлаждают до КТ и затем медленно выливают в перемешиваемую ледяную воду (700 мл). Полученную суспензию перемешивают в течение 20 мин и затем фильтруют и сушат с получением 32 г продукта. Продукт кристаллизуют из метанола-воды медленным добавлением воды в качестве антирастворителя до мутности. В течение времени образуется белая суспензия. Твердое вещество фильтруют и сушат с получением 28 г продукта с чистотой более 98%.

Стадия 2В.

Альтернативно, т-бутоксид калия добавляют к раствору трет-бутил-3-(гидроксиметил)азетидин-1-карбоксилата в ДМАц при 0°C. Через 60 мин добавляют 6-бром-4-фтор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол при 0°C и реакционную смесь нагревают до комнатной температуры с получением чистого полного превращения за менее чем 6 ч.

Стадия 3.

В 250-мл колбу Шленка добавляют трет-бутил-3-(((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат (10,0 г, 21,44 ммоль) и 80 мл диоксана. Добавляют (4-гидроксифенил)бороновую кислоту (4,44 г, 32,2 ммоль). Трехосновный безводный фосфат калия (13,65 г,

64,3 ммоль) добавляют с 20 мл воды и реакционную смесь продувают азотом. Добавляют продукт присоединения $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\text{-CH}_2\text{Cl}_2$ (0,876 г, 1,072 ммоль) и колбу с конденсатором повторно заполняют азотом три раза. Реакционную смесь нагревают при 110°C в течение 2 ч и 30 мин, чтобы показать полное превращение по ВЭЖХ. Реакционную смесь охлаждают до КТ, затем удаляют большую часть диоксана, добавляют 150 мл насыщенного хлорида аммония, затем 150 мл этилацетата. pH доводят до нейтрального 1М водн. HCl. Фазы разделяют и органический слой сушат с сульфатом натрия с последующим удалением растворителя. Неочищенный продукт растворяют в 150 мл ДХМ и загружают в 300 г SiG колонку, элюируют 20-50% этилацетатом в гексане. Чистые фракции объединяют и растворитель выпаривают. Добавляют 100 мл MeTГФ, затем добавляют кристаллическую затравку. В течение времени образуется суспензия. Добавляют 100 мл DIPPE, и суспензию перемешивают в течение ночи. Фильтрация и сушка дают 7,9 г чистого продукта (>99%).

Стадия 4.

В 50-мл круглодонную колбу добавляют трет-бутил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат (85 г, 177 ммоль) в 400 мл метанола. Добавляют моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты (101 г, 532 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при кт с получением около 90% превращения через 2 дня. Реакционную смесь перемешивают в течение еще 24 ч при комнатной температуре с получением около 96% превращения, добавляют 400 мл диизопропилового эфира и полученную суспензию перемешивают при комнатной температуре в течение ночи, и в течение ночи образуется кристаллическая соль. Фильтрация и сушка под азотом дает 100 г >99% чистого продукта в виде соли бис ПТСК.

Стадия 5.

В 100-мл круглодонную колбу добавляют (Е)-4-(диметиламино)бут-2-еновую кислоту, HCl (1,899 г, 11,46 ммоль) и 20 мл ДМФ.НСТU Добавляют гексафторфосфат о-(1h-6-хлорбензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетрамилурия (4,91 г, 11,46 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 20 мин. В отдельную колбу добавляют 4-(4-(азетидин-3-илметокси)-1Н-индазол-6-ил)фенол, 2ТФК (5,0 г, 9,55 ммоль) и 20 мл ДМФ. Полученный раствор охлаждают до 0°C, затем медленно добавляют ДИПЭА (5 мл, 38,2 ммоль, 3 экв.). Полученный выше раствор добавляют (в течение 5 мин) в предварительно активированную кислотную реакционную смесь и реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 15 мин. Один дополнительный эквивалент ДИПЭА добавляют по каплям. Полное превращение наблюдают по ВЭЖХ через 20 мин при комнатной температуре. Реакционную смесь выливают в 200 мл перемешиваемой воды. Липкое твердое вещество выпадает в осадок при pH около 7. pH осторожно доводят до около 8 водным аммиаком. Раствор экстрагируют три раза 100 мл MeTГФ. Объединенные органические слои сушат с сульфатом натрия с последующим удалением растворителя. Неочищенное свободное основание продукта растворяют в 25 мл 10% метанола в ДХМ, загружают в 125 г колонку с силикагелем и элюируют изократным 10% метанолом в ДХМ, содержащим 0,5% водного аммиака. Чистые фракции объединяют и растворитель выпаривают. Перекристаллизация из ацетона дает >98% чистый продукт (50% выход).

25 мг соединения 1 суспендируют в 1 мл воды. Полученную суспензию перемешивают в течение 2 дней при 50°C, фильтруют, промывают 2 мл воды и сушат в окружающих условиях в течение нескольких часов с получением формы 4.

Альтернативно, соединение 1 растворяют в этаноле и воде или метаноле и воде полным растворением в 10 объемах спирта с последующим медленным добавлением приблизительно 8-10 объемов воды до точки помутнения. Добавляют затравку формы 4, и в течение времени медленно образуется суспензия. Затем медленно добавляют еще воду (около 10 объемов) и твердое вещество фильтруют и сушат с получением формы 4.

Пример 1C: кристаллический (Е)-4-(диметиламино)-1-(3-(((6-(4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-ил)бут-2-ен-1-он, форма 3

Форма 3 является безводным свободным основанием кристаллической формы соединения 1.

150 мг соединения 1 суспендируют в 2 мл 1:1 смеси ацетонитрила и изопропанола. Полученную суспензию перемешивают в течение 1 дня при 50°C, фильтруют, промывают 2 мл 1:1 смеси ацетонитрила и изопропанола и сушат в окружающих условиях в течение нескольких часов с получением формы 3, которую определяют как кристаллическое безводное свободное основание.

Альтернативно, 200 мг соединения 1 в виде аморфного свободного основания растворяют в 2 мл ИПС при кт. Добавляют равное количество ацетонитрила. Добавляют еще соединение (0,5 г всего) до образования насыщенного раствора. Добавляют затравку, и смесь перемешивают в течение ночи. В течение времени образуется белая суспензия. Фильтрация и сушка дает 400 мг продукта в виде формы 3, который определяют как безводное свободное основание.

Пример 1D: Характеризация формы 3

Образцы формы 3 анализируют порошковой рентгеновской дифракцией (ПРД), дифференциальной сканирующей калориметрией (ДСК), термогравиметрическим анализом (ТГА) и динамической сорбцией влаги (ДСВ).

Порошковая рентгеновская дифракция

Изображение порошковой рентгеновской дифракции формы 3 показано на фиг. 9. Наблюдаемые ПРД положения пиков два-тэта и d-расстояния показаны ниже.

2-Тэта	d(Å)	Площадь	A%
4,82	18,32	16367	2,7
9,67	9,14	610151	100,0
11,61	7,61	140214	23,0
11,92	7,42	49009	8,0
12,98	6,81	21804	3,6
13,23	6,69	21840	3,6
15,69	5,64	88944	14,6
16,19	5,47	89861	14,7
16,45	5,38	74091	12,1
16,67	5,31	57780	9,5
17,61	5,03	158810	26,0
18,88	4,70	261799	42,9
19,39	4,57	26844	4,4
19,96	4,45	164339	26,9
20,14	4,40	125226	20,5
22,14	4,01	52100	8,5
23,33	3,81	74095	12,1
23,84	3,73	166452	27,3
24,06	3,70	200590	32,9
24,29	3,66	79151	13,0
25,31	3,52	119197	19,5
25,63	3,47	88838	14,6
27,06	3,29	62513	10,2
27,31	3,26	47507	7,8
30,10	2,97	18475	3,0
30,53	2,93	16406	2,7

Тепловой анализ

Типовая ДСК термограмма формы 3 кристаллической свободной формы в соответствии с данным изобретением показана на фиг. 10. Кривая дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), записанная со скоростью нагревания 10°C в минуту демонстрирует пик эндотермического теплового потока, идентифицированный как переход расплава с температурой начала при около 197,7°C и пиком при около 201,3°C. После плавления сразу происходит разложение.

Кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, записанной со скоростью нагревания 10°C в минуту, которая показывает максимум эндотермического теплового потока с пиком при около 201,3°C.

Кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, записанной со скоростью нагревания 10°C в минуту, которая показывает максимум эндотермического теплового потока при температуре от около 197,7 до около 204°C.

Типовая кривая ТГА формы 3 кристаллической свободной формы в соответствии с данным изобретением показана на фиг. 11. Кривая теплового гравиметрического анализа (ТГА) с фиг. 11 показывает отсутствие значительной потери массы при температурах ниже точки начала разложения при около 195°C.

Оценка динамической сорбции влаги

Типовая кривая ДСВ для формы 3 кристаллической свободной формы в соответствии с данным изобретением показана на фиг. 12.

Форма 3 демонстрирует 0,33% увеличение массы в интервале влажности от 5 до 90% относительной влажности. Форма 3 считается не гигроскопичной.

Пример 1Е: Характеризация формы 4

Образцы формы 4 анализируют порошковой рентгеновской дифракцией (ПРД), дифференциальной сканирующей калориметрией (ДСК), термогравиметрическим анализом (ТГА) и динамической сорбцией влаги (ДСВ).

Порошковая рентгеновская дифракция

Изображение порошковой рентгеновской дифракции формы 4 показано на фиг. 13. Наблюдаемые ПРД положения пиков два-тэта и d-расстояния показаны ниже.

2-Тэта	d(Å)	Площадь	A%
6,26	14,10	161835	73,90
11,86	7,46	51703	23,60
12,51	7,07	82712	37,80
13,16	6,72	72445	33,10
14,98	5,91	53903	24,60
16,55	5,35	218849	100,00
16,94	5,23	133498	61,00
17,61	5,03	28496	13,00
18,33	4,84	170874	78,10
18,78	4,72	35644	16,30
19,39	4,57	92940	42,50
19,57	4,53	86983	39,70
19,84	4,47	19121	8,70
21,45	4,14	22435	10,30
21,82	4,07	22934	10,50
22,57	3,94	62931	28,80
23,61	3,76	162063	74,10
24,24	3,67	135952	62,10
24,67	3,61	38471	17,60
25,10	3,54	55236	25,20
25,39	3,51	32363	14,80
27,19	3,28	27010	12,30
27,39	3,25	32148	14,70
28,55	3,12	24879	11,40
31,51	2,84	18975	8,70

Тепловой анализ

Типовая ДСК термограмма формы 4 кристаллической свободной формы показана на фиг. 14. Кривая дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), записанная со скоростью нагревания 10°C в минуту демонстрирует эндотерму десольватации с точной начала при около 60,9°C и пиком при около 103,6°C, и эндотермой плавления, характеризующейся точной начала при около 167,3°C. Соединение разлагается при плавлении, и эндотерма плавления и экзотерма разрушения налагаются друг на друга.

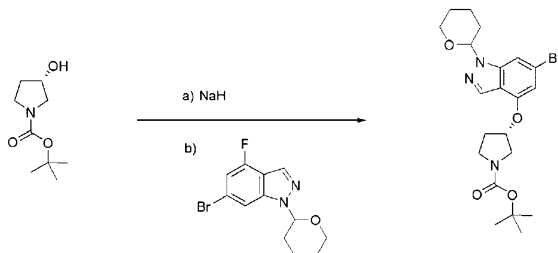
Типовая кривая ТГА формы 4 кристаллической свободной формы показана на фиг. 15. Кривая теплового гравиметрического анализа (ТГА) с фиг. 15 показывает потерю массы около 3,54% при 100°C. Соединение десольватируется при температуре начала около 50°C. Соединение разлагается при температуре начала около 165°C.

Оценка динамической сорбции влаги

Типовая кривая ДСВ для формы 4 кристаллической свободной формы показана на фиг. 16

Форма 3 демонстрирует около 5,01% увеличение массы в интервале влажности от 5% до 90% относительной влажности. Форма 4 считается умеренно гигроскопичной.

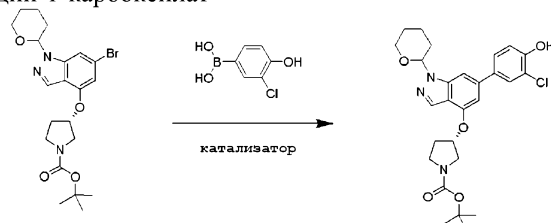
Получение 5: трет-бутил-(3S)-3-((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-карбоксилат



Гидрид натрия (0,201 г, 8,36 ммоль) добавляют к раствору (S)-N-вос-3-пиридинола (1,25 г, 6,69 ммоль) в ДМФ (12 мл) в атмосфере N₂ при 0°C и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 20 мин. Добавляют 6-бром-4-фтор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол (1,0 г, 3,34 ммоль) и реакци-

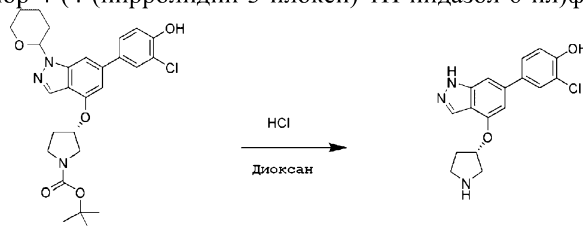
онную смесь перемешивают при кт в течение 1 ч. Добавляют воду (1 мл) и реакционную смесь концентрируют в вакууме. Неочищенный продукт очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 40% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-(3S)-3-((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-карбоксилата (1,40 г, 3,00 ммоль, 90% выход) (m/z): $[M+H]^+$ рассч для $C_{21}H_{28}BrN_3O_4$ 466,13, найдено 466,1

Получение 6: трет-бутил-(3S)-3-((6-(3-хлор-4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-карбоксилат



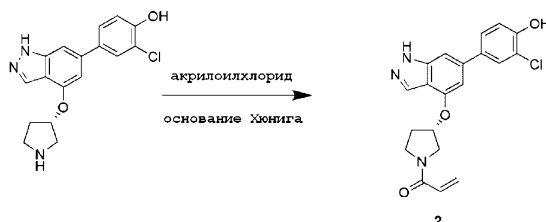
Ацетат палладия (0,135 г, 0,600 ммоль) добавляют к раствору 3-хлор-4-гидроксифенилбороновой кислоты (0,776 г, 4,50 ммоль), трет-бутил-(3S)-3-((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-карбоксилата (1,40 г, 3,00 ммоль), 1,1'-бис(ди-*т*-бутилфосфино)ферроцена (0,285 г, 0,600 ммоль) и фосфата калия (1,912 г, 9,01 ммоль) в 1,4-диоксане (12 мл) и воде (3,00 мл). Реакционную смесь дегазируют азотом в течение 10 мин и затем перемешивают при 110°C в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме до объема около 5 мл. Добавляют насыщенный водный раствор хлорида аммония (20 мл) и смесь экстрагируют метиленхлоридом (3×20 мл). Экстракты метиленхлорида объединяют, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 50% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-(3S)-3-((6-(3-хлор-4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-карбоксилата (1,35 г, 2,63 ммоль, 87% выход) в виде прозрачной желтой жидкости, (m/z): $[M+H]^+$ рассч для $C_{27}H_{32}ClN_3O_5$ 514,20, найдено 514,2.

Получение 7: (S)-2-хлор-4-(4-(пирролидин-3-илокси)-1Н-индазол-6-ил)фенол



4,0N HCl в диоксане (13,13 мл, 52,5 ммоль) добавляют к раствору трет-бутил-(3S)-3-((6-(3-хлор-4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-карбоксилата (1,35 г, 2,63 ммоль) в диоксане (6 мл) и реакционную смесь перемешивают при 60°C в течение 30 мин. Реакционную смесь концентрируют в вакууме с получением (S)-2-хлор-4-(4-(пирролидин-3-илокси)-1Н-индазол-6-ил)фенола в виде соли HCl (0,962 г, 2,63 ммоль, 100% выход), (m/z): $[M+H]^+$ рассч для $C_{17}H_{16}ClN_3O_2$ 330,09, найдено 330,2.

Пример 2: (S)-1-(3-((6-(3-хлор-4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-он

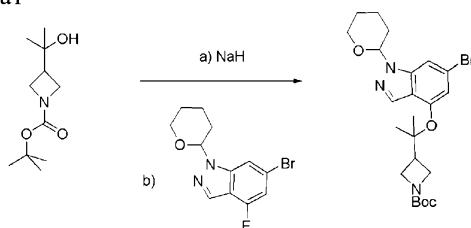


N,N-диизопропилэтиламин (4,59 мл, 26,3 ммоль) добавляют к раствору соли HCl (S)-2-хлор-4-(4-(пирролидин-3-илокси)-1Н-индазол-6-ил)фенола (0,962 г, 2,63 ммоль) в ДМФ (13,0 мл) при 0°C, затем акрилоилхлорид (0,277 мл, 3,41 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин, затем концентрируют до объема около 2 мл.

Неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке C18 с препаративной шкалой с применением градиента 20-80% ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислоты с получением (S)-1-(3-((6-(3-хлор-4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-она в виде соли ТФК (344 мг, 0,691 ммоль, 26,3% выход) (m/z): $[M+H]^+$ рассч для $C_{20}H_{18}ClN_3O_3$ 384,10, найдено 384,1.

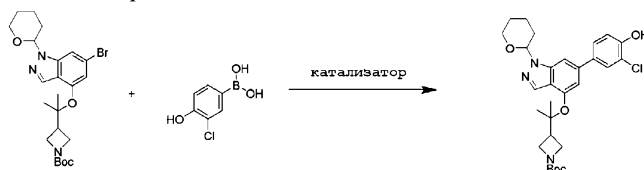
1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$) δ 13,03 (с, 1H), 10,33 (с, 1H), 7,98 (с, 1H), 7,74-7,67 (м, 1H), 7,57-7,49 (м, 1H), 7,24 (с, 1H), 7,07 (д, $J=0,5$ Гц, 1H), 6,80 (с, 1H), 6,69-6,56 (м, 1H), 6,18-6,11 (м, 1H), 5,71-5,62 (м, 1H), 4,01-3,60 (м, 5H), 2,35-2,14 (м, 2H)

Получение 8: трет-бутил-3-(2-(((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилат



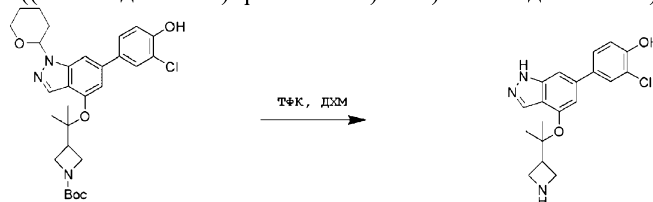
В сухую сцинтилляционную пробирку, продутую N_2 , добавляют трет-бутил-3-(2-гидроксипропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилат (374 мг, 1,74 ммоль), растворенный в 2,4 мл ДМФ, и раствор охлаждают до $0^\circ C$ 60 мас.%, гидрид натрия в минеральном масле (134 мг, 3,34 ммоль) медленно добавляют к перемешиваемому раствору и реакционную смесь нагревают до кт после добавления. Пенистую реакционную смесь перемешивают в течение 30 мин, затем снова охлаждают до $0^\circ C$. Раствор 6-бром-4-фтор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазола (400 мг, 1,34 ммоль) в 1 мл ДМФ медленно добавляют в сцинтилляционную пробирку, содержащую раствор органического натрия. После добавления реакционную смесь нагревают до кт и перемешивают в течение 2 ч, после чего ЖХМС показывает полное превращение исходного материала в желаемый продукт. Реакционную смесь гасят медленным добавлением 1 мл H_2O и 1 мл EtOAc, затем перемешивают в течение 5 мин. Двухфазный раствор затем переносят в делительную воронку и добавляют еще 5 мл H_2O . Смесь экстрагируют 3 раза 10 мл EtOAc и водный слой отбрасывают. Объединенные органические фракции затем промывают 3×10 мл 1:1 H_2O насыщенным раствором соли для удаления остаточного ДМФ. Органический слой затем сушат над Na_2SO_4 , фильтруют и концентрируют до светло-желтого масла. Масло затем очищают флэш-хроматографией на колонке с применением градиента 0-40% EtOAc гексан. Продукт выделяют чистым в виде прозрачного бесцветного вязкого масла (288 мг, 44% выход).

Получение 9: трет-бутил-3-(2-(((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилат



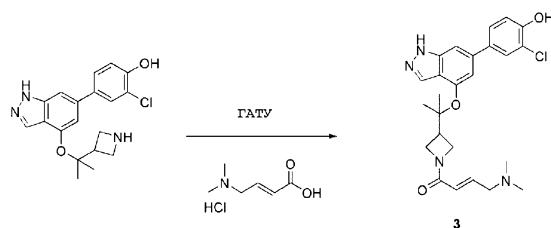
1:1 смесь ацетата палладия (26,2 мг, 0,116 ммоль) и 1,1'-бис(ди-*t*-бутилфосфино)ферроцена (55,3 мг, 0,116 ммоль) добавляют к раствору 3-хлор-4-гидроксibenзолбороновой кислоты (151 мг, 0,874 ммоль), трет-бутил-3-(2-(((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилата (288 мг, 0,582 ммоль) и фосфата калия (371 мг, 1,747 ммоль) в 1,4-диоксане (2,0 мл) и воде (0,50 мл). Реакционную смесь дегазируют азотом в течение 10 мин и затем перемешивают при $110^\circ C$ в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме до объема около 5 мл. Добавляют насыщенный водный раствор хлорида аммония (5 мл) и смесь экстрагируют этилацетатом (2×5 мл). Экстракты этилацетата объединяют, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 40% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-3-(2-(((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилата (230 мг, 0,424 ммоль, 73% выход) (m/z) [$M+H$] $^+$ расщ для $C_{29}H_{36}N_3O_5$ 542,24, найдено 542,3

Получение 10: 4-(4-((2-азетидин-3-ил)пропан-2-ил)окси)-1-Н-индазол-6-ил)-2-хлорфенол



Трет-бутил-3-(2-(((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилат (230 мг, 0,424 ммоль) растворяют в дихлорметане (1 мл) и медленно добавляют ТФК (1 мл). Прозрачный раствор перемешивают при кт в течение 5 ч, после чего ЖХМС показывает хорошее превращение в желаемый продукт. Реакционную смесь концентрируют с получением 4-(4-((2-азетидин-3-ил)пропан-2-ил)окси)-1-Н-индазол-6-ил)-2-хлорфенола в виде соли ТФК (100% выход) (m/z): [$M+H$] $^+$ расщ для $C_{19}H_{20}N_3O_2$ 358,13, найдено 358,1.

Пример 3А: (Е)-1-(3-(2-((6-(3-хлор-4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-ил)-4-(диметиламино)бут-2-ен-1-он



ГАТУ (гексафторфосфат 2-(7-аза-1Н-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурия, 100 мг, 0,263 ммоль) добавляют к раствору гидрохлорида (Е)-4-(диметиламино)бут-2-еновой кислоты (34 мг, 0,263 ммоль) в ДМФ (1 мл). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 5 мин, затем добавляют соль ТФК 4-(4-((2-азетидин-3-ил)пропан-2-ил)окси)-1-Н-индазол-6-ил)-2-хлорфенола (118 мг, 0,251 ммоль), затем ДИПЭА (0,438 мл, 2,507 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин и затем концентрируют в вакууме с получением желтой жидкости. Неочищенную жидкость очищают СЖХ (сверхкритической жидкостной хроматографией) с препаративной шкалой с применением метанола с жидкой двуокисью углерода с получением (Е)-1-(3-(2-((6-(3-хлор-4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-ил)-4-(диметиламино)бут-2-ен-1-она (41,3 мг, 0,084 ммоль, 33% выход), (m/z): $[M+H]^+$ рассч для $C_{25}H_{29}ClN_4O_3$ 469,20, найдено 469,2.

1H ЯМР (400 МГц, $DMCO-d_6$) δ 13,07 (с, 1Н), 10,33 (с, 1Н), 7,95 (с, 1Н), 7,62 (д, $J=2,3$ Гц, 1Н), 7,47 (дд, $J=8,5, 2,3$ Гц, 1Н), 7,34 (с, 1Н), 7,04 (д, $J=8,5$ Гц, 1Н), 6,85 (д, $J=1,1$ Гц, 1Н), 6,63-6,53 (м, 1Н), 6,39 (д, $J=15,3$ Гц, 1Н), 4,37-4,23 (м, 2Н), 4,11-3,91 (м, 2Н), 3,69 (д, $J=6,4$ Гц, 2Н), 3,02-2,90 (м, 1Н), 2,62 (с, 9Н), 1,32 (с, 9Н).

Пример 3В: Кристаллический (Е)-1-(3-(2-((6-(3-хлор-4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-ил)-4-(диметиламино)бут-2-ен-1-он, форма 1

Форма 1 является безводным свободным основанием кристаллической формы соединения 3.

80 мг соединения 3 в виде аморфного свободного основания растворяют в 0,5 мл этанола. Полученную смесь перемешивают в течение одного дня при комнатной температуре с получением осадка. Твердое вещество выделяют фильтрацией, промывают 1 мл этанола и сушат в окружающих условиях в течение нескольких часов с получением формы 1.

Альтернативно, в 50 мл круглодонную колбу добавляют соединение 3, которое очищено SiG (1,3 г, 2,77 ммоль), добавляют 10 мл ацетона и смесь перемешивают при кт. Добавляют затравку кристаллического свободного основания формы 1. В течение времени образуется густая белая суспензия. Фильтрация и сушка дает 1 г кристаллического свободного основания формы 1 с чистотой >98%.

Пример 3В: Кристаллический (Е)-1-(3-(2-((6-(3-хлор-4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-ил)-4-(диметиламино)бут-2-ен-1-он, форма 2

Форма 2 является свободным основанием гидрата кристаллической формы соединения 3.

55 мг аморфного свободного основания соединения 3 растворяют в 0,25 мл метанола. На этой стадии воду добавляют в качестве антирастворителя в соотношении около 1:2 метанол:вода. Полученную смесь обрабатывают ультразвуком в течение нескольких минут при комнатной температуре с получением осадка. Полученную суспензию перемешивают в течение 1 дня при комнатной температуре, фильтруют, промывают 1 мл метанола и сушат с получением формы 2.

Альтернативно, соединение 3 растворяют в этаноле и воде или метаноле и воде полным растворением в 10 объемах спирта с последующим медленным добавлением приблизительно 8-10 объемов воды до точки замутнения. Добавляют затравку формы 2, и в течение времени медленно образуется суспензия. Затем медленно добавляют еще воду (около 10 объемов), и полученное твердое вещество фильтруют и сушат с получением формы 2.

Пример 3С: Характеризация формы 1

Образцы формы 1 анализируют порошковой рентгеновской дифракцией (ПРД), дифференциальной сканирующей калориметрией (ДСК), термогравиметрическим анализом (ТГА) и динамической сорбцией влаги (ДСВ).

Порошковая рентгеновская дифракция.

Изображение порошковой рентгеновской дифракции формы 1 показано на фиг. 1. Наблюдаемые ПРД положения пиков два-тэта и d-расстояния показаны ниже.

2-Тэта	d(Å)	Площадь	A%
5,65	15,63	343682	100,0
7,12	12,40	17888	5,2
10,02	8,82	13064	3,8
11,16	7,92	60848	17,7
13,10	6,75	13327	3,9
14,22	6,22	343837	100,0
14,82	5,97	158470	46,1
15,16	5,84	338146	98,3
16,55	5,35	84525	24,6
17,06	5,19	188182	54,7
19,31	4,59	251362	73,1
20,08	4,42	57430	16,7
21,08	4,21	29843	8,7
21,65	4,10	45528	13,2
22,51	3,95	88807	25,8
22,98	3,87	75161	21,9
24,43	3,64	95427	27,8
25,02	3,56	74549	21,7
25,72	3,46	24251	7,1
26,80	3,32	23046	6,7
27,06	3,29	26069	7,6
28,31	3,15	10766	3,1
30,08	2,97	45168	13,1
30,31	2,95	38502	11,2
32,08	2,79	22050	6,4

Тепловой анализ

Типовая ДСК термограмма формы 1 кристаллической свободной формы в соответствии с данным изобретением показана на фиг. 2. Кривая дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), записанная со скоростью нагревания 10°C в минуту демонстрирует пик эндотермического теплового потока, идентифицированный как переход расплава с температурой начала при около 154,9°C и пиком при около 162,9°C. После плавления сразу происходит разложение.

Кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, записанной со скоростью нагревания 10°C в минуту, которая показывает максимум эндотермического теплового потока с пиком при около 162,9°C. Кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, записанной со скоростью нагревания 10°C в минуту, которая показывает максимум эндотермического теплового потока с пиком при 162,9±3°C.

Кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, записанной со скоростью нагревания 10°C в минуту, которая показывает максимум эндотермического теплового потока при температуре от около 154,9 до около 171°C.

Типовая кривая ТГА формы 1 кристаллической свободной формы показана на фиг. 3. Кривая теплового гравиметрического анализа (ТГА) с фигуры 3 показывает незначительную потерю массы около 0,14% при 100°C. Соединение разлагается при точке начала разложения около 175°C.

Оценка динамической сорбции влаги

Типовая кривая ДСВ для формы 1 кристаллической свободной формы показана на фиг. 4.

Форма 1 демонстрирует 1,62% увеличение массы в интервале влажности от 5% до 90% относительной влажности. Форма 1 считается слегка гигроскопичной.

Пример 3D: Характеризация формы 2

Образцы формы 2 анализируют порошковой рентгеновской дифракцией (ПРД), дифференциальной сканирующей калориметрией (ДСК), термогравиметрическим анализом (ТГА) и динамической сорбцией влаги (ДСВ).

Порошковая рентгеновская дифракция

Изображение порошковой рентгеновской дифракции формы 2 показано на фиг. 5. Наблюдаемые ПРД положения пиков два-тэта и d-расстояния показаны ниже.

2-Тэта	d(Å)	Площадь	A%
6,90	12,80	248788	52,1
9,15	9,66	73363	15,4
10,00	8,84	92849	19,4
11,18	7,91	42354	8,9
12,76	6,93	34590	7,2
13,33	6,64	33198	6,9
13,82	6,40	75603	15,8
14,43	6,13	20656	4,3
15,51	5,71	93338	19,5
16,04	5,52	19890	4,2
17,00	5,21	58922	12,3
17,90	4,95	339924	71,1
18,31	4,84	477815	100,0
20,90	4,25	169039	35,4
22,06	4,03	68934	14,4
22,51	3,95	110745	23,2
25,00	3,56	23916	5,0
26,92	3,31	52661	11,0
27,26	3,27	63506	13,3
27,61	3,23	22650	4,7
29,37	3,04	15298	3,2
30,53	2,93	24930	5,2
30,92	2,89	22089	4,6

Тепловой анализ

Типовая ДСК термограмма формы 2 кристаллической свободной формы показана на фиг. 6. Кривая дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), записанная со скоростью нагрева 10°C в минуту, демонстрирует эндотерму десольватации с точкой начала при около $52,7^{\circ}\text{C}$ и пиком при около $84,4^{\circ}\text{C}$ и эндотермой плавления с точкой начала при около $160,0^{\circ}\text{C}$ и пиком при около $167,6^{\circ}\text{C}$. После плавления сразу происходит разложение.

Типовая кривая ТГА формы 2 кристаллической свободной формы в соответствии с данным изобретением показана на фиг. 7. Кривая теплового гравиметрического анализа (ТГА) с фиг. 7 показывает потерю массы около 6,73% при 75°C . Соединение десольватирует при температуре начала около 25°C . Соединение разлагается при температуре начала около 185°C .

Оценка динамической сорбции влаги

Типовая кривая ДСВ для формы 2 кристаллической свободной формы в соответствии с данным изобретением показана на фиг. 8. Форма 2 превращается в гидрат (форма 2b) при ОВ выше 65%. Дегидратация происходит при ОВ ниже 15%. Общее поглощение влаги при 5%-90% ОВ составляет 7,99%.

Пример 3Е: Характеризация формы 2b

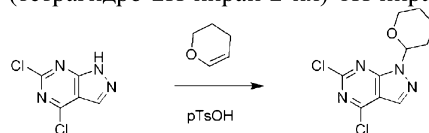
Образцы формы 2b анализируют порошковой рентгеновской дифракцией (ПРД).

Порошковая рентгеновская дифракция.

Изображение порошковой рентгеновской дифракции формы 2b показано на фиг. 17. Наблюдаемые ПРД положения пиков два-тэта и d-расстояния показаны ниже.

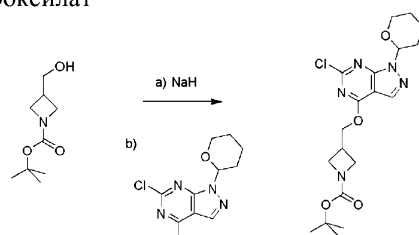
2-Тэта	d(Å)	Площадь	А%
7,61	11,60	182433	39,1
10,33	8,56	128795	27,6
11,25	7,86	13807	3
12,71	6,96	102263	21,9
13,23	6,69	34318	7,4
13,66	6,48	86861	18,6
13,90	6,37	60997	13,1
15,02	5,89	53064	11,4
15,27	5,80	166039	35,6
15,88	5,58	163970	35,2
16,33	5,42	87102	18,7
16,76	5,29	364312	78,2
17,90	4,95	346920	74,4
18,26	4,85	105152	22,6
20,67	4,29	465993	100
21,37	4,16	104882	22,5
21,92	4,05	69905	15
22,31	3,98	133265	28,6
22,90	3,88	42178	9,1
23,22	3,83	20810	4,5
23,61	3,76	39278	8,4
24,74	3,60	160353	34,4
25,78	3,45	67865	14,6
26,23	3,40	30059	6,5
26,73	3,33	120802	25,9
27,57	3,23	17553	3,8
29,10	3,07	75111	16,1
29,39	3,04	97911	21
30,72	2,91	66141	14,2
30,94	2,89	71606	15,4
31,69	2,82	14912	3,2
32,06	2,79	33582	7,2
33,76	2,65	16247	3,5
34,35	2,61	18479	4

Получение 11: 4,6-дихлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-d]пиримидина



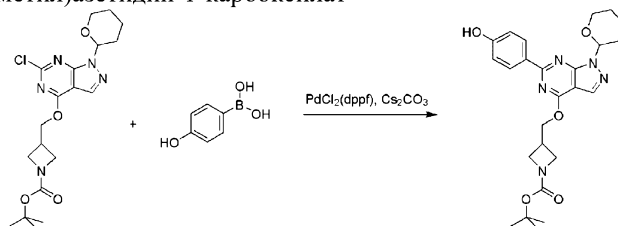
4,6-дихлор-1Н-пиразоло[3,4-d]пиримидин (2,50 г, 13,23 ммоль) добавляют в колбу и растворяют в 1,4-диоксане (52,9 мл). Затем добавляют моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты (pTsOH, 0,25 г, 1,32 ммоль) к прозрачному бледно-желтому раствору, затем 3,4-дигидро-2h-пиран (1,8 мл, 19,84 ммоль), и реакционную смесь нагревают до 40°C и перемешивают в течение ночи. Полученную смесь затем охлаждают и концентрируют в вакууме. Неочищенный продукт очищают флэш-хроматографией на колонке с применением градиента 0-100% EtOAc:гексан с получением 4,6-дихлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-d]пиримидина (2,6 г, 9,52 ммоль, 72,0% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₁₀H₁₀Cl₂N₄O 274,0, найдено 188,9 (потеря фрагмента ТГП).

Получение 12: трет-бутил-3-(((6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат



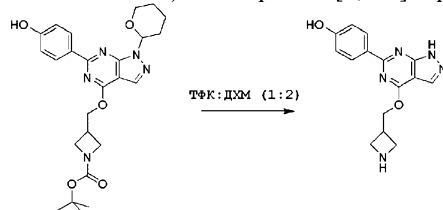
В сухую круглодонную колбу добавляют 1-вос-азетидин-3-ил-метанол (1,96 г, 10,47 ммоль) и растворяют в ДМФ (20,0 мл). Перемешиваемый раствор охлаждают до 0°C и затем добавляют гидрид натрия (0,762 г, 19,04 ммоль). Реакционную смесь нагревают до комнатной температуры и перемешивают в течение 30 мин с получением бледно-розовой пенистой смеси. Смесь охлаждают до 0°C и раствор 4,6-дихлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-*d*]пиримидина (2,6 г, 9,52 ммоль) в ДМФ (10 мл) добавляют через канюлю. Реакционную смесь нагревают до комнатной температуры и перемешивают в течение 3 ч. Реакционную смесь затем гасят 120 мл H₂O и экстрагируют 3 раза 30 мл EtOAc. Органический раствор затем промывают 3 раза 100 мл раствором насыщенного раствора соли:H₂O (1:1). Органический слой сушат над Na₂SO₄, фильтруют и концентрируют до бледно-желтого масла. Неочищенный продукт очищают флэш-хроматографией на колонке с применением градиента 0-50% EtOAc:гексан с получением трет-бутил-3-(((6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилата (1,95 г, 4,60 ммоль, 48% выход).

Получение 13: трет-бутил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат



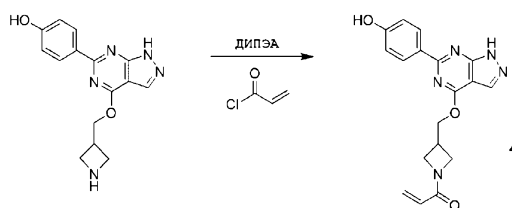
В круглодонной колбе трет-бутил-3-(((6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат (1,95 г, 4,60 ммоль) растворяют в 1,4-диоксане (23,0 мл). Добавляют 4-гидроксифенилбороновую кислоту (0,95 г, 6,90 ммоль), затем воду (7,7 мл). Добавляют дихлор[1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]палладий (0,56 г, 0,69 ммоль) и колбу оборудуют обратным конденсатором, помещают под азот, нагревают до 110°C и перемешивают в течение ночи. Реакционную смесь затем охлаждают до комнатной температуры и органический растворитель удаляют в вакууме. H₂O (20 мл) добавляют к остатку и экстрагируют три раза ДХМ (30 мл). Органический слой сушат над Na₂SO₄, фильтруют, и концентрируют до черного масла. Неочищенный продукт очищают флэш-хроматографией на колонке с применением градиента 0-100% EtOAc:гексан с получением трет-бутил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилата (2,03 г, 4,22 ммоль, 92% выход) в виде желтого/оранжевого масла, (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₅H₃₁N₅O₅ 482,2, найдено 482,2.

Получение 14: 4-(4-(азетидин-3-илметокси)-1Н-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-6-ил)фенол



В круглодонной колбе трет-бутил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-*d*]пиримидин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат (2,03 г, 4,22 ммоль) растворяют в ДХМ (10,0 мл) и медленно добавляют ТФК (5,0 мл) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 18 ч с получением оранжевого/фиолетового раствора. Реакционную смесь концентрируют в вакууме с получением серого/оранжевого твердого вещества. Указанное в заголовке соединение выделяют в виде соли ТФК со 100% выходом (1,25 г, 4,22 ммоль). (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₁₅H₁₅N₅O₂ 298,1, найдено 298,3.

Пример 4: 1-(3-(((6-(4-гидроксифенил)-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-ил)проп-2-ен-1-он

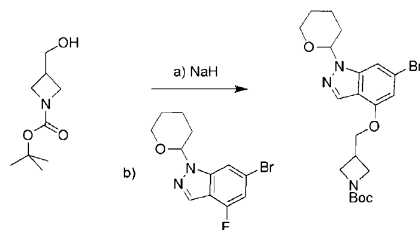


В круглодонной колбе, 4-(4-(азетидин-3-илметокси)-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-6-ил)фенол-трифторуксусную кислоту (1,25 г, 4,20 ммоль) растворяют в ДМФ (21,0 мл) и добавляют диизопропилэтиламин (3,67 мл, 21,0 ммоль). Реакционную смесь охлаждают до 0°C и перемешивают в течение 5 мин, затем медленно добавляют акрилоилхлорид (0,273 мл, 3,36 ммоль), затем перемешивают в течение 15 мин при 0°C.

Реакционную смесь нагревают до комнатной температуры и концентрируют в вакууме. Неочищенный продукт растворяют в 1:1 MeCN:H₂O и очищают препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой с применением градиента 20-80% MeCN:H₂O. Желаемые фракции объединяют и лиофилизируют с получением указанного в заголовке соединения (434 мг, 1,235 ммоль, 29% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₁₈H₁₇N₅O₃ 352,1, найдено 352,2.

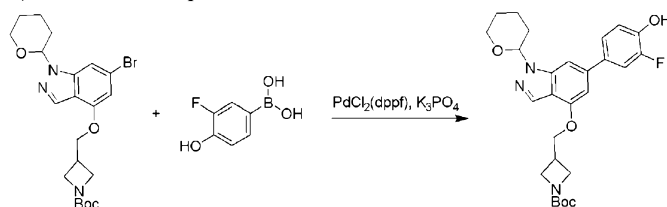
¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,32-8,23 (д назнач, 2H), 8,07 (с, 1H), 6,89-6,81 (д назнач, 2H), 6,30 (дд, J=17,0, 10,3 Гц, 1H), 6,07 (дд, J=17,0, 2,3 Гц, 1H), 5,63 (дд, J=10,3, 2,3 Гц, 1H), 4,81 (д, J=6,5 Гц, 2H), 4,36 (т, J=8,6 Гц, 1H), 4,12 (дд, J=8,6, 5,4 Гц, 1H), 4,06 (т, 1H), 3,82 (дд, J=10,2, 5,5 Гц, 1H), 3,24-3,10 (м, 1H).

Получение 15: трет-бутил-3-(((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат



1-Вос-азетидин-3-ил-метанол (3,44 г, 18,39 ммоль) добавляют в высушенную в печи колбу и растворяют в ДМФ (41,8 мл). Раствор охлаждают до 0°C и перемешивают в течение 10 минут, затем добавляют гидрид натрия (0,50 г, 20,89 ммоль). Пенистую смесь нагревают до комнатной температуры и перемешивают в течение 30 мин. Реакционную смесь затем охлаждают до 0°C, и раствор 6-бром-4-фтор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол (2,5 г, 8,36 ммоль) в ДМФ (10 мл) добавляют через канюлю. Реакционную смесь нагревают до комнатной температуры и перемешивают в течение 1,5 ч. Реакционную смесь гасят добавлением 120 мл H₂O и экстрагируют 3 раза 50 мл EtOAc. Органическую фазу объединяют и промывают 3 раза 100 мл раствора насыщенного раствора соли:H₂O (1:1). Органическую фазу затем собирают и сушат над Na₂SO₄, фильтруют и концентрируют до прозрачного бледно-желтого масла (3,9 г, 8,36 ммоль). Неочищенный продукт применяют без дальнейшей очистки, (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₁H₂₈BrN₃O₄ 466,14, найдено 466,1.

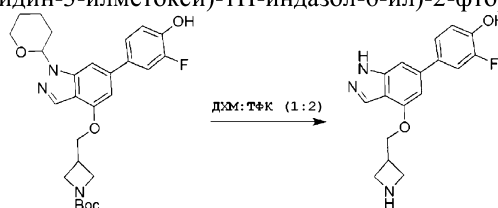
Получение 16: трет-бутил-3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат



Трет-бутил-3-(((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат (3,9 г, 8,36 ммоль) добавляют в колбу и растворяют в 1,4-диоксане (44,6 мл). Добавляют 3-фтор-4-гидроксифенилбороновую кислоту (1,96 г, 12,54 ммоль), затем воду (11,2 мл) и фосфат калия, трехосновный (5,33 г, 25,09 ммоль). Добавляют дихлор[1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]палладий (1,02 г, 1,25 ммоль), колбу оборудуют обратным конденсатором и помещают в атмосферу азота. Реакционную смесь нагревают до 110°C и перемешивают в течение 18 ч. После охлаждения до комнатной температуры органический растворитель удаляют в вакууме с получением черного масла. К маслу добавляют 10 мл H₂O и раствор экстрагируют 3 раза 40 мл ДХМ. Органическую фазу собирают и сушат над Na₂SO₄, фильтруют и концентрируют до черного масла. Масло очищают флэш-хроматографией на ко-

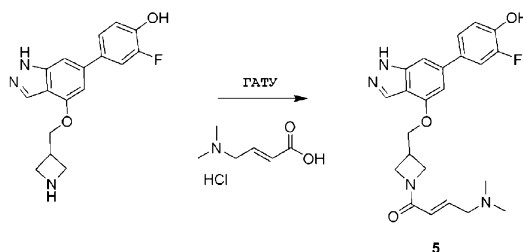
лонке с применением градиента 0-100% EtOAc Нех с получением трет-бутил-3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилата (2,58 г, 5,19 ммоль, 62% выход) в виде прозрачного желтого масла (m/z): $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{27}H_{32}FN_3O_5$ 498,2, найдено 498,2.

Получение 17: 4-(4-(азетидин-3-илметокси)-1Н-индазол-6-ил)-2-фторфенол



В 50-мл круглодонной колбе трет-бутил-3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат (2,58 г, 5,19 ммоль) растворяют в ДХМ (10,0 мл), ТФК (5,00 мл) медленно добавляют к прозрачному желтому раствору при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивают в течение 24 ч и полученный темно-желтый/фиолетовый раствор концентрируют в вакууме с получением соли ТФК 4-(4-(азетидин-3-илметокси)-1Н-индазол-6-ил)-2-фторфенола (3,46 г) в виде серого/желтого твердого вещества (100% выход) (m/z): $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{17}H_{16}FN_3O_2$ 314,1, найдено 314,2.

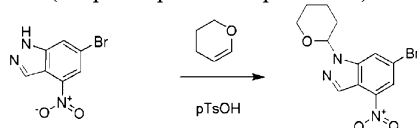
Пример 5: (Е)-4-(диметиламино)-1-(3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-ил)бут-2-ен-1-он



(2Е)-4-(диметиламино)бут-2-еновую кислоту (464 мг, 2,80 ммоль) и ГАТУ (976 мг, 2,57 ммоль) добавляют в круглодонную колбу, растворяют в ДМФ (5,5 мл) и перемешивают в течение 15 мин. Раствор 4-(4-(азетидин-3-илметокси)-1Н-индазол-6-ил)-2-фторфенола (1,0 г, 2,34 ммоль) в ДМФ (5,5 мл) затем медленно добавляют к перемешиваемой реакционной смеси, затем диизопропилэтиламин (2,0 мл, 11,70 ммоль) Реакционную смесь перемешивают в течение 24 ч и затем концентрируют в вакууме. Неочищенный продукт растворяют в 1:1 MeCN:H₂O и очищают препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой с применением градиента 20-80% MeCN:H₂O. Желаемые фракции объединяют и лиофилизируют с получением соли ТФК указанного в заголовке соединения (271 мг, 0,50 ммоль, 21% выход) (m/z): $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{23}H_{25}FN_4O_3$ 425,2, найдено 425,2.

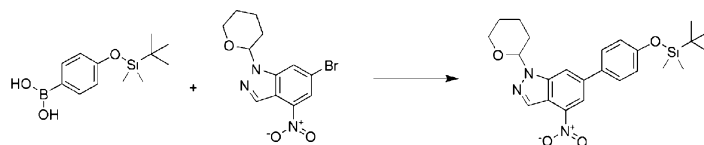
¹H ЯМР (400 МГц, MeOD-d₄) δ 7,94 (д, J=0,8 Гц, 1H), 7,39 (дд, J=12,5, 2,2 Гц, 1H), 7,35-7,28 (м, 1H), 7,24 (т, J=1,0 Гц, 1H), 7,03-6,93 (м, 1H), 6,80-6,68 (м, 2H), 6,53 (дт, J=15,2, 1,1 Гц, 1H), 4,53 (т, J=8,7 Гц, 1H), 4,47-4,34 (м, 2H), 4,35-4,22 (м, 2H), 4,09 (дд, J=10,8, 5,6 Гц, 1H), 3,93 (дд, J=7,2, 1,1 Гц, 2H), 3,27-3,19 (м, 1H), 2,88 (с, 6H)

Получение 18: 6-Бром-4-нитро-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол



Смесь 6-бром-4-нитро-1Н-индазола (3,00 г, 12,4 ммоль), 3,4-дигидро-2Н-пирана, 97% (3,40 мл, 37,2 ммоль) и моногидрата п-толуолсульфонової кислоты (pTsOH, 0,236 г, 1,24 ммоль) в ДХМ (41,3 мл) перемешивают при кт в течение ночи. Реакционную смесь фильтруют через слой целлита и концентрируют. Реакционную смесь принимают как 100% превращение (4,05 г) и переносят на следующую реакцию без дальнейшей очистки.

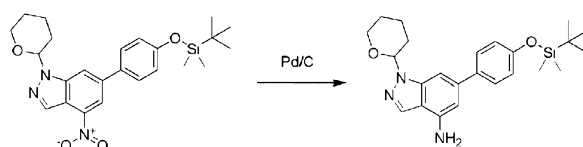
Получение 19: 6-(4-((трет-Бутилдиметилсилил)окси)фенил)-4-нитро-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол



Смесь 6-(4-((трет-Бутилдиметилсилил)окси)фенил)-4-нитро-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазола (1,00 г, 3,07 ммоль), 4-(трет-бутилдиметилсилилокси)фенилбороновой кислоты (1,16 г, 4,60

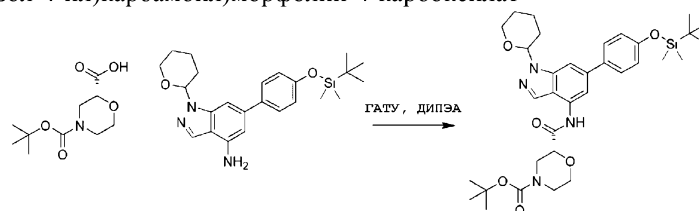
ммоль) и трехосновный фосфат калия (1,30 г, 6,13 ммоль) в диоксане (14,9 мл) и H₂O (4,98 мл) продувают N₂ в течение 10 мин. Затем добавляют [1,1'-бис(дифенилфосфин)ферроцен]дихлорпалладий(II) (0,224 г, 0,307 ммоль), после чего колбу герметично закрывают. Реакционную смесь нагревают до 110°C и перемешивают в течение 1 ч. После подтвержденного ЖХМС полного превращения в желаемый продукт реакцию смесь гасят 20 мл H₂O и 20 мл EtOAc. Оба слоя фильтруют через слой целлита и переносят в делительную воронку. Смесь экстрагируют 3 раза 20 мл EtOAc и водный слой отбрасывают. Объединенные органические фракции концентрируют и затем очищают флэш-хроматографией на колонке с применением градиента 0-10% EtOAc:гексан. Продукт выделяют чистым в виде бледно-желтого масла (1,03 г, 74,4% выход). (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₂₄H₃₁N₃O₄Si 454,61, найдено 454,3.

Получение 20: 6-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)фенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-амин



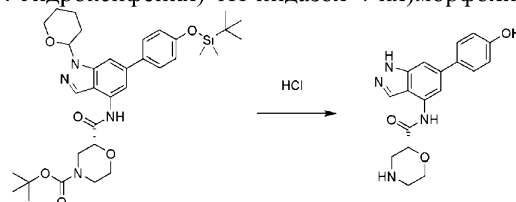
6-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)фенил)-4-нитро-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол (0,980 г, 2,16 ммоль) и 10% масс. палладий на угле (влажный) (0,980 г) растворяют в ТГФ (2,8 мл) и изопропиловом спирте (11,2 мл). Реакционный сосуд повторно заполняют N₂ в течение 5 мин, после чего его герметично закрывают и помещают в атмосферу водорода. Реакционную смесь оставляют перемешиваться при комнатной температуре в течение 3 ч. После того, как ЖХМС покажет полное превращение в желаемый продукт, реакцию смесь фильтруют. Фильтр затем промывают дополнительным ТГФ. После концентрации и очистки флэш-хроматографией на колонке (40 г) с применением градиента 0-25% EtOAc:гексан продукт выделяют (0,562 г, 61,5% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₂₄H₃₃N₃O₂Si 424,63, найдено 424,4.

Получение 21: трет-бутил-(2R)-2-((6-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)фенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)карбамоил)морфолин-4-карбоксилат



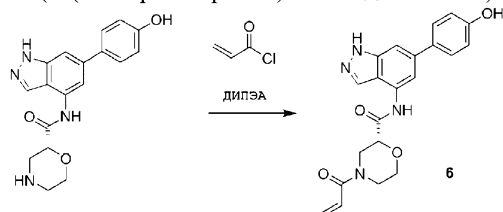
(R)-N-вос-2-морфолинкарбловую кислоту (0,819 г, 3,54 ммоль) и 3-оксид гексафторфосфата 1-[бис(диметиламино)метиле]-1Н-1,2,3-триазоло[4,5-б]пиридиния (ГАТУ, 2,69 г, 7,08 ммоль) растворяют в ДМФ (11,8 мл) и перемешивают при комнатной температуре в течение 5 мин. Затем добавляют 6-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)фенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-амин (1,00 г, 2,36 ммоль) и реакцию смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 2 ч. ЖХМС показывает полное превращение в желаемый продукт. Реакционную смесь гасят 10 мл H₂O и 10 мл ДХМ. После переноса в делительную воронку смесь экстрагируют три раза 10 мл ДХМ и водный слой отбрасывают. Объединенные органические фракции концентрируют и затем очищают флэш-хроматографией на колонке (40 г) с применением градиента 0-45% EtOAc гексан. Продукты выделяют в виде бледно-желтого масла (1,01 г, 67% выход) (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₃₄H₄₈N₄O₆Si 637,87, найдено 637,6.

Получение 22: (R)-N-(6-(4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)морфолин-2-карбоксамид



трет-Бутил-(2R)-2-((6-(4-((трет-бутилдиметилсилил)окси)фенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)карбамоил)морфолин-4-карбоксилат (1,00 г, 1,58 ммоль) растворяют в MeOH (2,0 мл). При перемешивании медленно добавляют раствор HCl в 4,0М диоксане (12,1 мл, 48,5 ммоль). Реакционную смесь нагревают до 60°C и перемешивают в течение 30 мин, после чего ЖХМС показывает полное превращение в желаемый продукт. Смесь концентрируют с получением продукта в виде оранжевого масла. Реакционную смесь принимают как 100% превращение (0,533 г) и переносят в следующую реакцию без дальнейшей очистки.

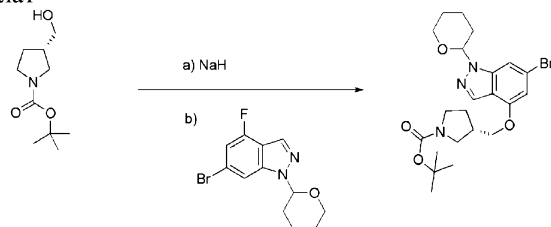
Пример 6. (R)-4-акрилоил-N-(6-(4-гидроксифенил)-1H-индазол-4-ил)морфолин-2-карбоксамид



(R)-N-(6-(4-гидроксифенил)-1H-индазол-4-ил)морфолин-2-карбоксамид (0,533 г, 1,58 ммоль) растворяют в ДМФ (7,9 мл). Добавляют N,N-диизопропилэтиламин (ДИПЭА, 2,75 мл, 15,8 ммоль), затем медленно добавляют акрилоилхлорид (0,0900 мл, 1,10 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 10 мин, затем превращение отслеживают ЖХМС. После подтверждения полного превращения ЖХМС реакционную смесь концентрируют и очищают препаративной ВЭЖХ с обращенной фазой с применением градиента 10-50% АЦН:Н₂O. Фракции желаемого продукта собирают и концентрируют лиофилизацией. Продукт выделяют (130 мг, 21% выход), (m/z): [M+H]⁺ расщ для C₂₁H₂₀N₄O₄ 393,42, найдено 393,4.

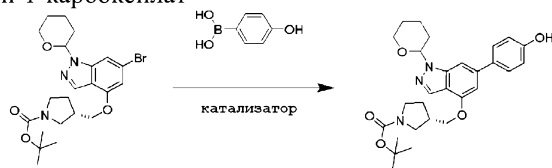
¹H ЯМР (400 МГц, Метанол-d₄) δ 8,13 (с, 1H), 7,74 (д, J=16,3 Гц, 1H), 7,56 (д, J=6,0 Гц, 2H), 7,51 (с, 1H), 6,91 (дд, J=8,7, 2,9 Гц, 3H), 6,30 (дт, J=16,8, 2,3 Гц, 1H), 5,84 (д, J=10,6 Гц, 1H), 4,45-4,25 (м, 2H), 4,21 (д, J= 11,8 Гц, 1H), 4,12-4,02 (м, 1H), 3,78 (т, J= 11,5 Гц, 1H), 3,53 (м, 1H), 3,29-2,99 (м, 1H).

Получение 23: трет-бутил-(3S)-3-(((6-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-карбоксилат



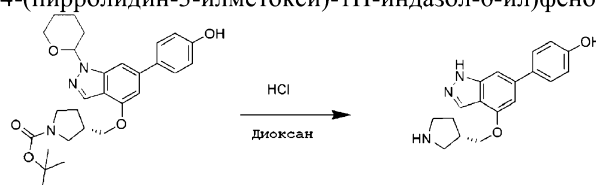
Гидрид натрия (0,072 г, 3,01 ммоль) добавляют к раствору (Ss)-N-вос-пирролидин-3-метанола (0,444 г, 2,21 ммоль) в ДМФ (6 мл) в атмосфере N₂ при 0°C и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 20 мин. Добавляют 6-бром-4-фтор-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол (0,600 г, 2,01 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 1 ч. Добавляют воду (1 мл) и реакционную смесь концентрируют в вакууме. Неочищенный продукт очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 40% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-(3S)-3-(((6-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-карбоксилата (0,964 г, 1,87 ммоль, 93% выход), (m/z): [M+H]⁺ расщ для C₂₂H₃₀BrN₃O₄ 480,15, найдено 480,1.

Получение 24: трет-бутил-(3S)-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-карбоксилат



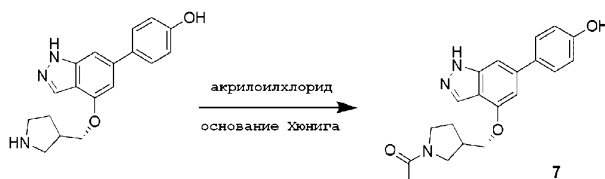
Ацетат палладия (0,084 г, 0,375 ммоль) добавляют к раствору 4-гидроксифенилбороновой кислоты (0,388 г, 2,81 ммоль), трет-бутил-(3S)-3-(((6-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-карбоксилата (0,900 г, 1,87 ммоль), 1,1'-бис(ди-т-бутилфосфино)ферроцена (0,178 г, 0,375 ммоль) и фосфата калия (1,193 г, 5,62 ммоль) в 1,4-диоксане (12 мл) и воде (3,00 мл). Реакционную смесь дегазируют азотом в течение 10 мин и затем перемешивают при 110°C в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме до объема около 5 мл. Добавляют насыщенный водный раствор хлорида аммония (10 мл) и смесь экстрагируют метиленхлоридом (3×10 мл). Экстракты метиленхлорида объединяют, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 50% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-(3S)-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-карбоксилата (0,800 г, 1,62 ммоль, 87% выход) в виде прозрачной желтой жидкости, (m/z): [M+H]⁺ расщ для C₂₈H₃₅N₃O₅ 494,27, найдено 494,2.

Получение 25: (S)-4-(4-(пирролидин-3-илметокси)-1H-индазол-6-ил)фенол



4,0N HCl в диоксане (8,10 мл, 32,4 ммоль) добавляют к раствору трет-бутил-(3S)-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-карбоксилата (0,800 г, 1,62 ммоль) в диоксане (6 мл) и реакционную смесь перемешивают при 60°C в течение 30 мин. Реакционную смесь концентрируют в вакууме с получением ((S)-4-(4-(пирролидин-3-илметокси)-1H-индазол-6-ил)фенола в виде соли HCl (0,501 г, 1,62 ммоль, 100% выход). (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₁₈H₁₉N₃O₂ 310,16, найдено 310,3.

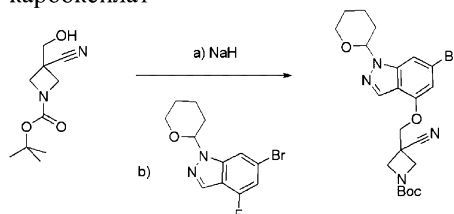
Пример 7: (S)-1-(3-(((6-(3-хлор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-он



N,N-диизопропилэтиламин (2,83 мл, 16,2 ммоль) добавляют к раствору соли HCl (S)-4-(4-(пирролидин-3-илметокси)-1H-индазол-6-ил)фенола (0,560 г, 1,62 ммоль) в ДМФ (5 мл) при 0°C, затем добавляют акрилоилхлорид (0,171 мл, 2,11 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин, затем концентрируют до объема около 2 мл. Неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке C18 с препаративной шкалой с применением градиента 30-90% ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислоты с получением (S)-1-(3-(((6-(4-гидроксифенил)-1H-индазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-она в виде соли ТФК (226 мг, 0,473 ммоль, 29,2% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₂₁H₂₁N₃O₃ 364,17, найдено 364,2.

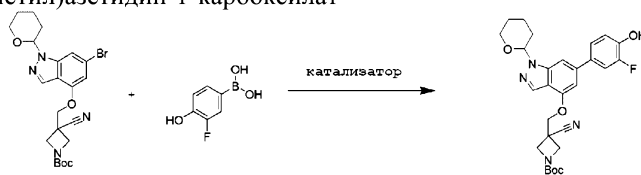
¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 13,00 (с, 1H), 10,31 (с, 1H), 8,04-7,94 (м, 1H), 7,59-7,48 (м, 1H), 7,18 (с, 1H), 6,89-6,79 (м, 1H), 6,76-6,70 (м, 1H), 6,65-6,54 (м, 1H), 6,13 (дд, J=16,6, 1,7 Гц, 1H), 5,69-5,62 (м, 1H), 4,25-3,78 (м, 4H), 3,76-3,28 (м, 2H), 2,88-2,63 (м, 1H), 2,22-1,72 (м, 2H).

Получение 26: трет-бутил-3-(2-(((6-бром-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилат



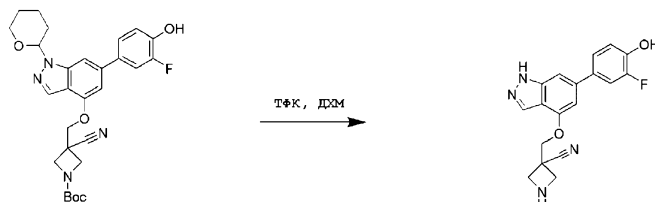
В сухую сцинтилляционную колбу, продутую N₂, добавляют трет-бутил-3-циано-3-(гидроксиметил)азетидин-1-карбоксилат (851 мг, 4,01 ммоль), растворенный в 5 мл ДМФ, и раствор охлаждают до 0°C. 60 мас.% гидрид натрия в минеральном масле (267 мг, 6,69 ммоль) медленно добавляют к перемешиваемому раствору и реакционную смесь нагревают до кт после добавления. Пенистую реакционную смесь перемешивают в течение 30 мин, затем снова охлаждают до 0°C. Раствор 6-бром-4-фтор-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазола (800 мг, 2,67 ммоль) в 2 мл ДМФ медленно добавляют в сцинтилляционную пробирку, содержащую раствор органического натрия. После добавления реакционную смесь нагревают до кт и перемешивают в течение 2 ч, после чего ЖХМС показывает полное превращение исходного материала в желаемый продукт. Реакционную смесь гасят медленным добавлением 2 мл H₂O и 2 мл EtOAc, затем перемешивают в течение 5 мин. Двухфазный раствор затем переносят в длительную воронку и добавляют еще 10 мл H₂O. Смесь экстрагируют 3 раза 20 мл EtOAc и водный слой отбрасывают. Объединенные органические фракции затем промывают 3×10 мл 1:1 H₂O:насыщенным раствором соли для удаления остаточного ДМФ. Органический слой затем сушат над Na₂SO₄, фильтруют и концентрируют до светло-желтого масла. Масло затем очищают флэш-хроматографией на колонке с применением градиента 0-40% EtOAc:гексан. Продукт выделяют чистым в виде прозрачного бесцветного вязкого масла (1,096 г, 83% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₂₂H₂₇BrN₄O₄ 491,13, найдено 491,1.

Получение 27: трет-бутил-3-циано-3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат



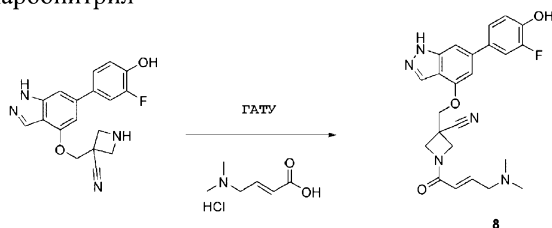
1:1 смесь ацетата палладия (25,1 мг, 0,112 ммоль) и 1,1'-бис(ди-*t*-бутилфосфино)ферроцена 98% (53,1 мг, 0,112 ммоль) добавляют к раствору 3-фтор-4-гидроксибензолбороновой кислоты (262 мг, 1,679 ммоль), трет-бутил-3-(2-(((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилата (550 мг, 1,119 ммоль) и фосфата калия (713 мг, 3,36 ммоль) в 1,4-диоксане (4,5 мл) и воде (1 мл). Реакционную смесь дегазируют азотом в течение 10 мин и затем перемешивают при 110°C в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме. Добавляют насыщенный водный раствор хлорида аммония (5 мл) и смесь экстрагируют этилацетатом (2×5 мл). Экстракты этилацетата объединяют, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 40% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-3-циано-3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилата (267 мг, 0,511 ммоль, 46% выход), (*m/z*): [*M*+*H*]⁺ рассч для C₂₈H₃₁FN₄O₅ 523,24, найдено 523,4.

Получение 28: 3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-3-карбонитрил



Трет-бутил-3-циано-3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат (267 мг, 0,511 ммоль) растворяют в дихлорметане (1 мл) и медленно добавляют ТФК (1 мл). Прозрачный раствор перемешивают при кт в течение 5 ч, после чего ЖХМС показывает хорошее превращение в желаемый продукт. Реакционную смесь концентрируют с получением 3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-3-карбонитрила в виде соли ТФК (100% выход) (*m/z*): [*M*+*H*]⁺ рассч для C₁₈H₁₅FN₄O₂ 339,13, найдено 339,2

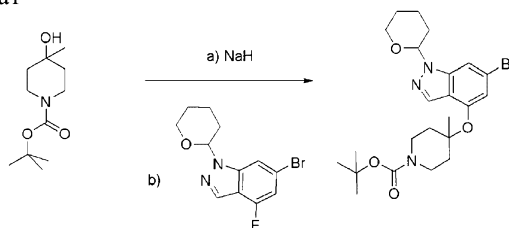
Пример 8: (Е)-1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)-3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-3-карбонитрил



ГАТУ (2-(7-аза-1Н-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурионий, 121 мг, 0,318 ммоль) добавляют к раствору гидрохлорида (Е)-4-(диметиламино)бут-2-еновой кислоты (41,1 мг, 0,318 ммоль) в ДМФ (2 мл). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 5 мин, затем добавляют соль ТФК 3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-3-карбонитрила (160 мг, 0,354 ммоль), затем ДИПЭА (0,618 мл, 3,54 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин и затем концентрируют в вакууме с получением желтой жидкости. Неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке Zorbax Bonus-RP (2,1×30 мм, 1,8 мкм) с препаративной шкалой с применением 15-75% ацетонитрила в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением (Е)-1-(4-(диметиламино)бут-2-еноил)-3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)метил)азетидин-3-карбонитрила (56,2 мг, 0,121 ммоль, 34% выход) (*m/z*): [*M*+*H*]⁺ рассч для C₂₄H₂₄FN₅O₃ 450,19, найдено 450,0.

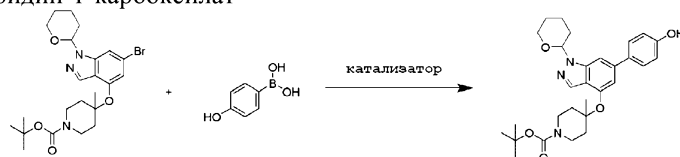
¹Н ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*₆) δ 9,94 (с, 1Н), 9,77 (с, 1Н), 7,85 (с, 1Н), 7,47 (дд, *J*= 12,8, 2,2 Гц, 1Н), 7,31 (дд, *J*=8,4, 1,7 Гц, 1Н), 7,22 (с, 1Н), 6,99-6,90 (м, 1Н), 6,78 (с, 1Н), 6,59-6,48 (м, 1Н), 6,31 (д, *J*=15,4 Гц, 1Н), 4,67-4,60 (м, 3Н), 4,40 (д, *J*=9,1 Гц, 1Н), 4,27 (д, *J*= 10,5 Гц, 1Н), 4,12 (д, *J*= 10,4 Гц, 1Н), 3,78 (д, *J*=6,8 Гц, 2Н), 2,66 (с, 6Н)

Получение 29: трет-бутил-4-((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)-4-метилпиперидин-1-карбоксилат



В сухую сцинтилляционную пробирку, продувную N_2 , добавляют 1-бис-4-метилпиперидин-4-ол (567 мг, 2,63 ммоль), растворенный в 3 мл ДМФ, и раствор охлаждают $0^\circ C$ 60 мас.%, гидрид натрия в минеральном масле (175 мг, 4,39 ммоль) медленно добавляют к перемешиваемому раствору и реакционную смесь нагревают до кт после добавления. Пенистую реакционную смесь перемешивают в течение 30 мин, затем снова охлаждают до $0^\circ C$. Раствор 6-бром-4-фтор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазола (525 мг, 1,755 ммоль) в 1 мл ДМФ медленно добавляют в сцинтилляционную пробирку, содержащую раствор органического натрия. После добавления реакционную смесь нагревают до кт и перемешивают в течение 2 ч, после чего ЖХМС показывает полное превращение исходного материала в желаемый продукт. Реакционную смесь гасят медленным добавлением 2 мл H_2O и 2 мл EtOAc, затем перемешивают в течение 5 мин. Двухфазный раствор затем переносят в делительную воронку и добавляют еще 10 мл H_2O . Смесь экстрагируют 3 раза 20 мл EtOAc и водный слой отбрасывают. Объединенные органические фракции затем промывают 3×10 мл 1:1 H_2O насыщенным раствором соли для удаления остаточного ДМФ. Органическую фазу затем сушат над Na_2SO_4 , фильтруют и концентрируют до слегка желтого масла. Масло затем очищают флэш-хроматографией на колонке с применением градиента 0-40% EtOAc гексан. Продукт выделяют чистым в виде прозрачного бесцветного вязкого масла (389 мг, 45% выход) (m/z): $[M+H]^+$ рассч для $C_{23}H_{32}BrN_3O_4$ 494,17, найдено 494,4.

Получение 30: трет-бутил-4-((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)-4-метилпиперидин-1-карбоксилат



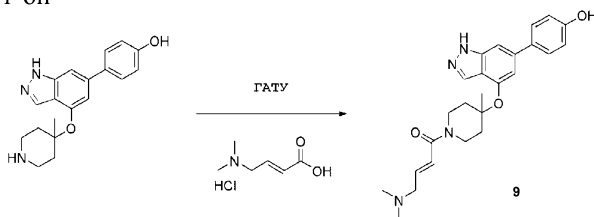
1:1 смесь ацетата палладия (9,1 мг, 0,040 ммоль) и 1,1'-бис(ди-*t*-бутилфосфино)ферроцена 98% (19,2 мг, 0,040 ммоль) добавляют к раствору 4-гидроксифенолбороновой кислоты (42 мг, 0,30 ммоль), трет-бутил-4-((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)-4-метилпиперидин-1-карбоксилата (100 мг, 0,202 ммоль) и фосфата калия, трехосновного, 97%, безводного (129 мг, 0,607 ммоль) в 1,4-диоксане (2 мл) и воде (0,5 мл). Реакционную смесь дегазируют азотом в течение 10 мин и затем перемешивают при $110^\circ C$ в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме. Добавляют насыщенный водный раствор хлорида аммония (5 мл) и смесь экстрагируют этилацетатом (2×5 мл). Экстракты этилацетата объединяют, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают комбифлэш-хроматографией на колонке (12 г) с применением 40% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-4-((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)-4-метилпиперидин-1-карбоксилата (96 мг, 0,189 ммоль, 94% выход), (m/z): $[M+H]^+$ рассч для $C_{29}H_{37}N_3O_5$ 509,28, найдено 508,3.

Получение 31: 4-(4-((4-метилпиперидин-4-ил)окси)-1Н-индазол-6-ил)фенол



Трет-бутил-4-((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)-4-метилпиперидин-1-карбоксилат (96 мг, 0,189 ммоль) растворяют в 1,4-диоксане (1 мл) и медленно добавляют 4N HCl в 1,4-диоксане (1,18 мл, 4,73 ммоль). Прозрачный раствор перемешивают при кт в течение 5 ч, после чего ЖХМС показывает хорошее превращение в желаемый продукт. Реакционную смесь концентрируют с получением 4-(4-((4-метилпиперидин-4-ил)окси)-1Н-индазол-6-ил)фенола в виде соли HCl (100% выход), (m/z): $[M+H]^+$ рассч для $C_{19}H_{21}N_3O_2$ 324,17, найдено 324,3.

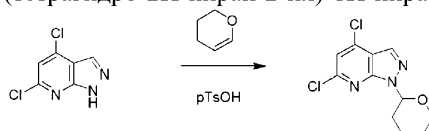
Пример 9: (Е)-4-(диметиламино)-1-(4-(((6-(4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)-4-метилпиперидин-1-ил)бут-2-ен-1-он



ГАТУ (гексафторфосфат 2-(7-аза-1Н-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурония, 72 мг, 0,189 ммоль) добавляют к раствору гидрохлорида (Е)-4-(диметиламино)бут-2-еновой кислоты (24 мг, 0,186 ммоль) в ДМФ (1 мл). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 5 мин, затем добавляют HCl соль 4-(4-(((4-метилпиперидин-4-ил)окси)-1Н-индазол-6-ил)фенола (68,0 мг, 0,189 ммоль), затем ДИПЭА (0,330 мл, 1,890 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин и затем концентрируют в вакууме с получением желтой жидкости. Неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке Zorbax Bonus-RP (2,1×30 мм, 1,8 микрон) с препаративной шкалой с применением 5-65% ацетонитрила в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением (Е)-4-(диметиламино)-1-(4-(((6-(4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)-4-метилпиперидин-1-ил)бут-2-ен-1-она (39,0 мг, 0,063 ммоль, 34% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₅H₃₀N₄O₃ 435,24, найдено 435,2.

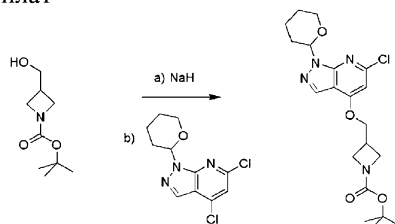
¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,99 (с, 1H), 9,66 (с, 1H), 8,02 (д, J=0,9 Гц, 1H), 7,52-7,44 (м, 2H), 7,27 (с, 1H), 6,90 (д, J=15,0 Гц, 1H), 6,86-6,78 (м, 3H), 6,58-6,47 (м, 1H), 3,99-3,86 (м, 1H), 3,83 (д, J=7,2 Гц, 2H), 3,78-3,55 (м, 2H), 2,74 (с, 6H), 1,40 (с, 3H).

Получение 32: 4,6-дихлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин



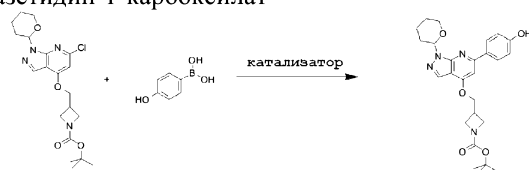
3,4-дигидро-2Н-пиран (2,0 г, 24,07 ммоль) добавляют к раствору 4,6-дихлор-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридина (2,50 г, 13,23 ммоль) в метиленхлориде (30 мл), затем добавляют п-толуолсульфоновой кислоты (0,275 г, 1,60 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 1 ч. Добавляют воду (50 мл) и смесь экстрагируют метиленхлоридом (3×50 мл). Экстракты метиленхлорида объединяют, промывают насыщенным раствором соли (1×50 мл), сушат над сульфатом натрия и концентрируют с получением прозрачной желтой жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 10% EtOAc в гексане с получением 4,6-дихлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридина (3,0 г, 11,1 ммоль, 67% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₁₁H₁₁Cl₂N₃O 272,04, найдено 272,21.

Получение 33: трет-бутил-3-(((6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат



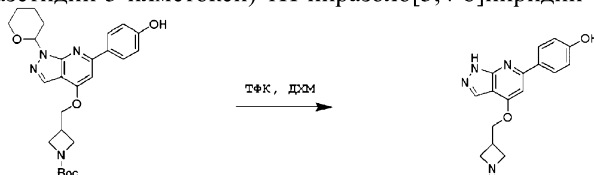
NaH (60% дисперсия в минеральном масле, 160 мг, 4,0 ммоль) добавляют к раствору 1-босазетидин-3-ил-метанола (760 мг, 4,0 ммоль) в ДМФ (5 мл) и диэтиловом эфире (5 мл) при 0°C, и реакционную смесь перемешивают при 0°C в течение 15 мин. Добавляют 4,6-дихлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин (1,0 г, 3,7 ммоль), и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 1 ч. Добавляют воду (10 мл), и реакционную смесь экстрагируют метиленхлоридом (3×10 мл). Экстракты метиленхлорида объединяют, промывают насыщенным раствором соли (1×10 мл), сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением прозрачной желтой жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 30% EtOAc в гексане с получением трет-бутил-3-(((6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилата (1,1 г, 2,60 ммоль, 70% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₀H₂₇ClN₄O₄ 423,18, найдено 423,25.

Получение 34: трет-бутил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат



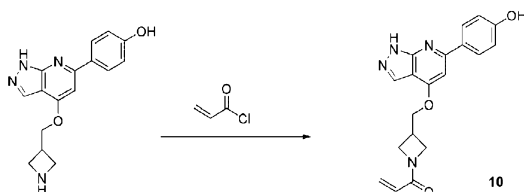
Раствор карбоната натрия (500 мг, 4,72 ммоль) в воде (4 мл) добавляют к 4-гидроксифенилбороновой кислоте (392 мг, 2,84 ммоль) и трет-бутил-3-(((6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилату (1,0 г, 2,36 ммоль) в диоксане (20 мл), и реакционную смесь дегазируют азотом в течение 10 мин. Добавляют $\text{PdCl}_2(\text{dppf}) \cdot \text{ДХМ}$ (196 мг, 0,24 ммоль) и реакционную смесь дегазируют дополнительно в течение 5 мин и затем перемешивают при 110°C в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждают до КТ и затем фильтруют через слой Целита. Отфильтрованный продукт промывают метиленхлоридом и фильтраты объединяют и промывают водой (1×10 мл), насыщенным раствором соли (1×10 мл), сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением прозрачной коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 50% EtOAc в гексане с получением трет-бутил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилата (1,02 г, 2,12 ммоль, 76% выход), (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_5$ 481,25, найдено 481,65.

Получение 35: 4-(4-(азетидин-3-илметокси)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-ил)фенол



ТФК (4,0 мл) медленно добавляют к раствору трет-бутил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилата (500 мг, 1,04 ммоль) в метиленхлориде (10 мл) при 0°C и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 3 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме и полученное твердое вещество растирают с 5% метанолом:метиленхлоридом с получением указанного в заголовке соединения в виде соли ТФК (330 мг, 0,804 ммоль, 77% выход), (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ рассчитано для $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_2$ 297,14, найдено 297,15.

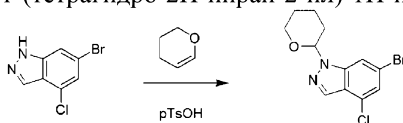
Пример 10. 1-(3-(((6-(4-Гидроксифенил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-ил)проп-2-ен-1-он



К раствору соли ТФК 4-(4-(азетидин-3-илметокси)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-ил)фенола (35,5 мг, 0,087 ммоль) в ДМФ (1 мл) добавляют ДИПЭА (0,151 мл, 0,865 ммоль), затем добавляют акрилоилхлорид (7,0 мкл, 0,087 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин и затем концентрируют в вакууме с получением желтой жидкости. Неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке Zorbax Bonus-RP (2,1×30 мм, 1,8 микрон) с препаративной шкалой с применением 5-75% ацетонитрила в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением 1-(3-(((6-(4-гидроксифенил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-ил)проп-2-ен-1-она (13,4 мг, 0,028 ммоль, 33% выход), (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$ расщ для $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_3$ 351,15, найдено 351,1.

^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 13,02 (с, 1Н), 9,80 (с, 1Н), 7,98 (д, J=8,9 Гц, 3Н), 7,13 (с, 1Н), 6,85 (д, J=8,7 Гц, 2Н), 6,32 (дд, J=17,0, 10,3 Гц, 1Н), 6,09 (дд, J=17,0, 2,3 Гц, 1Н), 5,64 (дд, J=10,3, 2,3 Гц, 1Н), 4,55 (д, J=6,7 Гц, 1Н), 4,38 (т, J=8,5 Гц, 1Н), 4,15-4,02 (м, 2Н), 3,80 (дд, J=10,0, 5,4 Гц, 2Н), 3,22-3,07 (м, 1Н).

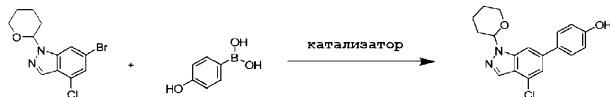
Получение 36: 6-бром-4-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол



3,4-дигидро-2Н-пиран (19,79 мл, 216,5 ммоль) добавляют к раствору 6-бром-4-хлор-1Н-индазола (10,0 г, 43,3 ммоль) в этилацетате (200 мл) при 0°C, затем моногидрат п-толуолсульфоновой кислоты (1,64 г, 8,66 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при 50°C в течение 4 ч. Добавляют насыщен-

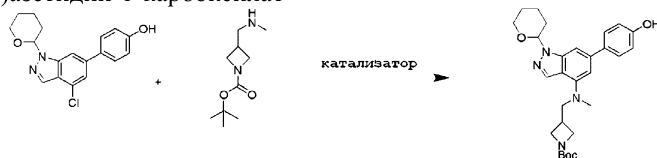
ный водный бикарбонат натрия (100 мл) и смесь экстрагируют этилацетатом (3×100 мл). Экстракты этилацетата объединяют, промывают водой (1×100 мл), насыщенным раствором соли (1×100 мл), сушат над сульфатом натрия и концентрируют с получением желтого твердого вещества. Неочищенную жидкость очищают растиранием в н-пентане с получением 6-бром-4-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазола (13,0 г, 41,2 ммоль, 95% выход), (m/z): $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{12}H_{12}BrClN_2O$ 314,99, найдено 314,93.

Получение 37: 4-(4-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-6-ил)фенол



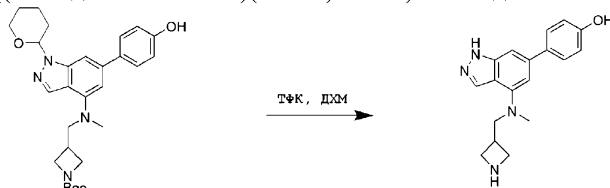
Раствор карбоната натрия (8,77 г, 82,8 ммоль), 4-гидроксифенилбороновой кислоты (6,85 г, 49,7 ммоль) и 6-бром-4-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазола (13,0 г, 41,4 ммоль) в диоксане (200 мл) и воде (50 мл) дегазируют азотом в течение 15 мин. Добавляют $PdCl_2(dppf)$ ДХМ (3,37 г, 4,14 ммоль), и реакционную смесь дегазируют еще в течение 5 мин и затем перемешивают при 125°C в течение 2 ч. Реакционную смесь охлаждают до КТ, добавляют этилацетат и реакционную смесь фильтруют через слой Целита. Добавляют воду (100 мл) и смесь экстрагируют этилацетатом. Экстракты этилацетата объединяют, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением прозрачной коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением градиента 0-30% EtOAc в гексане с получением 4-(4-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-6-ил)фенола (7,5 г, 22,9 ммоль, 55% выход), (m/z): $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{18}H_{17}ClN_2O_2$ 329,11, найдено 329,08.

Получение 38: трет-бутил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)(метил)амино)метил)азетидин-1-карбоксилат



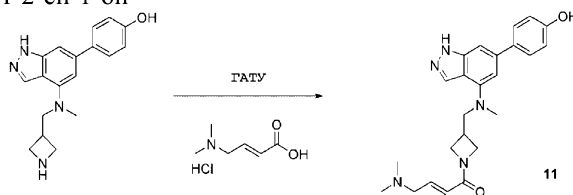
1:2 смесь ацетата палладия (68,3 мг, 0,304 ммоль) и 2-(ди-*т*-бутилфосфино)бифенила (182,0 мг, 0,608 ммоль) добавляют к раствору 4-(4-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-6-ил)фенола (500 мг, 1,521 ммоль), трет-бутил-3-((метиламино)метил)азетидин-1-карбоксилата (457 мг, 2,281 ммоль) и трет-бутоксид натрия, >99,9% (731 мг, 7,60 ммоль) в толуоле (15 мл). Реакционную смесь дегазируют азотом в течение 10 мин и затем перемешивают при 110°C в течение 16 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме до объема около 5 мл. Добавляют насыщенный водный раствор хлорида аммония (5 мл), и смесь экстрагируют этилацетатом (2×5 мл). Экстракты этилацетата объединяют, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают комбифлэш-хроматографией на колонке (24 г) с применением 50% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)(метил)амино)метил)азетидин-1-карбоксилата (368 мг, 0,747 ммоль, 49% выход), (m/z): $[M+H]^+$ расщ для $C_{28}H_{36}N_4O_4$ 493,28, найдено 493,4.

Получение 39: 4-(4-((азетидин-3-илметил)(метил)амино)-1Н-индазол-6-ил)фенол



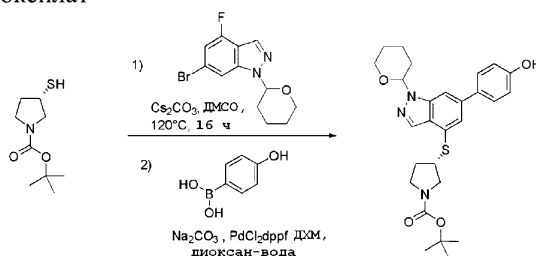
Трет-бутил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)(метил)амино)метил)азетидин-1-карбоксилат (368 мг, 0,747 ммоль) растворяют в дихлорметане (1,5 мл) и медленно добавляют ТФК (1,5 мл). Прозрачный раствор перемешивают при кт в течение 5 ч, после чего ЖХМС показывает хорошее превращение в желаемый продукт. Реакционную смесь концентрируют с получением 4-(4-((азетидин-3-илметил)(метил)амино)-1Н-индазол-6-ил)фенола в виде соли ТФК (100% выход), (m/z): $[M+H]^+$ расщ для $C_{18}H_{20}N_4O$ 309,17, найдено 309,2.

Пример 11: (Е)-4-(диметиламино)-1-(3-(((6-(4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)(метил)амино)метил)азетидин-1-ил)бут-2-ен-1-он



ГАТУ (гексафторфосфат 2-(7-аза-1Н-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилюрония, 59,5 мг, 0,157 ммоль) добавляют к раствору гидрохлорида (Е)-4-(диметиламино)бут-2-еновой кислоты (34 мг, 0,263 ммоль) в ДМФ (1 мл). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 5 мин, затем добавляют соль ТФК 4-4-((азетидин-3-илметил)(метил)амино)-1Н-индазол-6-ил)фенола (63 мг, 0,149 ммоль), затем ДИ-ПЭА (0,260 мл, 1,491 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин и затем концентрируют в вакууме с получением желтой жидкости. Неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке Zorbax Bonus-RP (2,1×30 мм, 1,8 мкм) с препаративной шкалой с применением 5-65% ацетонитрила в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением (Е)-4-(диметиламино)-1-(3-(((6-(4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)(метил)амино)метил)азетидин-1-ил)бут-2-ен-1-она (47,6 мг, 0,086 ммоль, 96% выход), (m/z): [M+H]⁺ расщ для C₂₄H₂₉N₅O₂ 420,24, найдено 420,2.

Получение 40: трет-бутил-(3S)-3-((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)тио)пирролидин-1-карбоксилат



К перемешиваемому раствору 6-бром-4-фтор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазола (600 мг, 2,0 ммоль) и трет-бутил-(S)-3-меркаптопирролидин-1-карбоксилата (488 мг, 2,20 ммоль) в ДМСО (5 мл) добавляют Cs₂CO₃ (1,30 мг, 4,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при 120°C в течение 16 ч. Добавляют воду и реакционную смесь экстрагируют EtOAc (3×50 мл). Экстракты EtOAc объединяют, промывают водой, затем насыщенным раствором соли, сушат над безводным сульфатом натрия, фильтруют и концентрируют в вакууме с получением неочищенного промежуточного продукта в виде прозрачной вязкой жидкости.

К перемешиваемому раствору неочищенного промежуточного соединения в диоксане (20 мл) и воде (4 мл) добавляют 4-гидроксифенилбороновую кислоту (240 мг, 1,74 ммоль) и Na₂CO₃ (461 мг, 4,35 ммоль) и реакционную смесь дегазируют азотом в течение 15 мин. Добавляют Pd(dppf)Cl₂.ДХМ (118 мг, 0,0145 ммоль) и реакционную смесь дегазируют еще в течение 5 мин и затем перемешивают при 110°C в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждают до КТ, добавляют воду и реакционную смесь экстрагируют этилацетатом (3×50 мл). Экстракты этилацетата объединяют, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением прозрачной коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением градиента 30-50% EtOAc в гексане с получением трет-бутил-(3S)-3-((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)тио)пирролидин-1-карбоксилата (600 мг, 1,21 ммоль, 61%). (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₇H₃₃ClN₃O₄S 496,23, найдено 496,42.

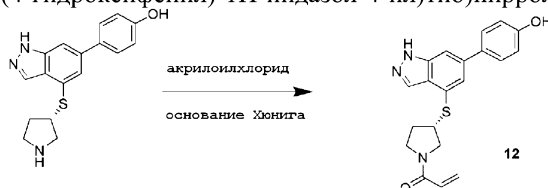
Получение 41: (S)-4-(4-(пирролидин-3-илтио)-1Н-индазол-6-ил)фенол



4,0N HCl в диоксане (10,0 мл, 40,0 ммоль) добавляют к раствору трет-бутил-(3S)-3-((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)тио)пирролидин-1-карбоксилата (400 мг, 0,808 ммоль) в метаноле (6 мл) и реакционную смесь перемешивают при 40°C в течение 16 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме и полученный остаток очищают хроматографией на колонке С18 с препаративной шкалой с применением градиента 20-80% ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением с получением (S)-4-(4-(пирролидин-3-илтио)-1Н-индазол-6-ил)фенола в виде соли ТФК (175 мг, 0,411 ммоль, 51% выход), (m/z): [M+H]⁺ расщ для C₁₇H₁₇N₃OS 312,12, найдено

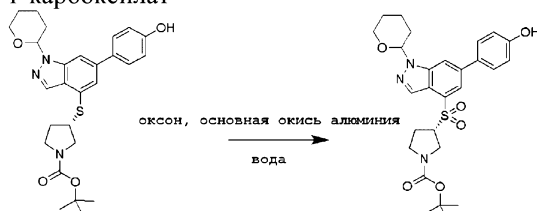
312,22.

Пример 12: (S)-1-(3-((6-(4-гидроксифенил)-1H-индазол-4-ил)тио)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-он



N,N-диизопропилэтиламин (0,079 мл, 0,450 ммоль) добавляют к раствору соли ТФК (S)-4-(4-(пирролидин-3-илтио)-1H-индазол-6-ил)фенола (38,5 мг, 0,091 ммоль) в ДМФ (0,2 мл) при 0°C, затем акрилоилхлорид (8,0 мкл, 0,099 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин и неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке C18 с препаративной шкалой с применением градиента ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислоты с получением (S)-1-(3-((6-(4-гидроксифенил)-1H-индазол-4-ил)тио)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-она в виде соли ТФК (17,1 мг, 0,046 ммоль, 51% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₂₀H₁₉N₃O₂S 366,13, найдено 366,1.

Получение 42: трет-бутил-(3S)-3-((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)сульфонил)пирролидин-1-карбоксилат



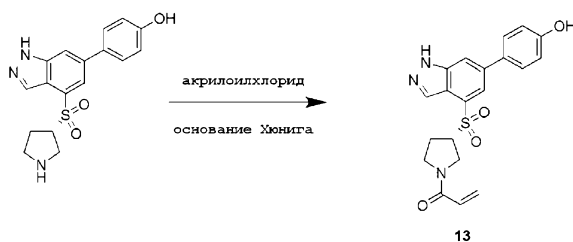
Основную окись алюминия (200 мг) и оксон (744 мг, 2,42 ммоль) добавляют к раствору трет-бутил-(3S)-3-((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)тио)пирролидин-1-карбоксилата (400 мг, 0,80 ммоль) в хлороформе (50 мл) и воде (1 мл) и реакционную смесь перемешивают при 65°C в течение 12 ч. Реакционную смесь фильтруют через слой Целита и отфильтрованный продукт промывают хлороформом. Фильтраты объединяют, добавляют воду и смесь экстрагируют хлороформом (3×100 мл). Экстракты хлороформа объединяют, промывают насыщенным раствором соли, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 30% EtOAc в гексане с получением трет-бутил-(3S)-3-((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)сульфонил)пирролидин-1-карбоксилата (200 мг, 0,379 ммоль, 47% выход) (m/z) [M+H]⁺ рассчитано для C₂₇H₃₃ClN₃O₆ 528,22, найдено 528,48.

Получение 43: (S)-4-(4-(пирролидин-3-илсульфонил)-1H-индазол-6-ил)фенол



4,0N HCl в диоксане (10,0 мл, 40,0 ммоль) добавляют к раствору (3S)-3-((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)сульфонил)пирролидин-1-карбоксилата (200 мг, 0,379 ммоль) в метаноле (2 мл) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 8 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме и полученный остаток растирают с диэтиловым эфиром с получением ((S)-4-(4-(пирролидин-3-илсульфонил)-1H-индазол-6-ил)фенола в виде соли HCl (140 мг, 0,369 ммоль, 97% выход) (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₁₇H₁₇N₃O₃S 344,11, найдено 344,04.

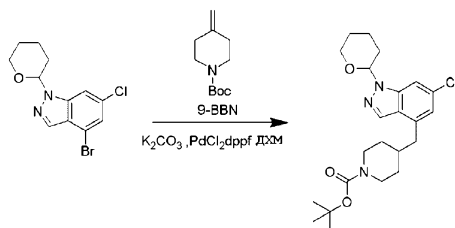
Пример 13. ((S)-1-(3-((6-(4-Гидроксифенил)-1H-индазол-4-ил)сульфонил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-он



N,N-диизопропилэтиламин (0,079 мл, 0,450 ммоль) добавляют к раствору соли HCl (((S)-4-(4-(пирролидин-3-илсульфонил)-1H-индазол-6-ил)фенола (31,0 мг, 0,082 ммоль) в ДМФ (0,2 мл) при 0°C, затем акрилоилхлорид (8,0 мкл, 0,099 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 10

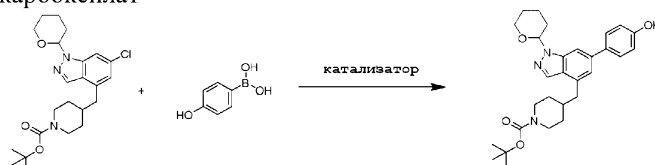
мин и неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке C18 с препаративной шкалой с применением градиента ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением ((S)-1-(3-((6-(4-гидроксифенил)-1H-индазол-4-ил)сульфонил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-она в виде соли ТФК (3,1 мг, 0,0061 ммоль, 7% выход) (m/z): $[M+H]^+$ рассч для $C_{20}H_{19}N_3O_4S$ 398,12, найдено 398,0.

Получение 44: трет-бутил-4-((6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)метил)пиперидин-1-карбоксилат



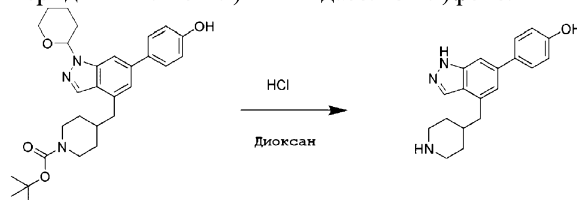
0,5 М раствор 9-BBN в ТГФ (7,92 мл, 3,96 ммоль) добавляют к трет-бутил-4-метиленипиперидин-1-карбоксилату (468 мг, 2,37 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при 80°C в течение 2 ч. Реакционную смесь охлаждают до КТ и затем канюлируют в заранее полученный раствор 4-бром-6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазола (500 мг, 1,58 ммоль), карбоната калия (548 мг, 3,96 ммоль) и $Pd(dppf)Cl_2 \cdot DCM$ (129 мг, 0,15 ммоль) в ДМФ (10,0 мл) и H_2O (2,0 мл). Реакционную смесь перемешивают при 80°C в течение 16 ч. Реакционную смесь фильтруют через слой Целита и отфильтрованный продукт промывают этилацетатом. Фильтраты объединяют, добавляют воду (100 мл) и смесь экстрагируют этилацетатом (2×150 мл). Экстракты этилацетата объединяют, промывают насыщенным раствором соли, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 30% EtOAc в гексане с получением трет-бутил-4-((6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)метил)пиперидин-1-карбоксилата (460 мг, 1,06 ммоль, 67% выход), (m/z): $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{23}H_{32}ClN_3O_3$ 434,22, найдено 434,47.

Получение 45: трет-бутил-4-((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)метил)пиперидин-1-карбоксилат



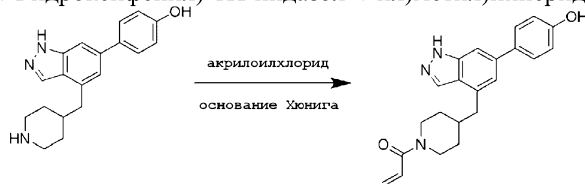
4-Гидроксифенилбороновую кислоту (195 мг, 1,41 ммоль) добавляют к суспензии трет-бутил-4-((6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)метил)пиперидин-1-карбоксилата (410 мг, 0,94 ммоль) в диоксане (10,0 мл) и воде (2,0 мл), затем фосфат калия (401 мг, 1,88 ммоль) и реакционную смесь дегазируют азотом в течение 15 мин. Комплекс хлорида 2'-(диметиламино)-2-бифенилпалладия(II) с динорборнилфосфином (52 мг, 0,07 ммоль) добавляют и реакционную смесь нагревают микроволнами при 100°C в течение 1 ч. Реакционную смесь охлаждают до кт и затем фильтруют через слой Целита. Добавляют воду (100 мл) к фильтрату, затем экстрагируют этилацетатом (3×100 мл). Экстракты этилацетата объединяют, промывают водой, насыщенным раствором соли, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 50% EtOAc в гексане с получением трет-бутил-4-((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)метил)пиперидин-1-карбоксилата (300 мг, 0,610 ммоль, 65%). (m/z): $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{29}H_{37}N_3O_4$ 492,29, найдено 492,46.

Получение 46: 4-(4-(пиперидин-4-илметил)-1Н-индазол-6-ил)фенол



4,0N HCl в диоксане (10,0 мл, 40,0 ммоль) добавляют к раствору трет-бутил-4-((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)метил)пиперидин-1-карбоксилата (300 мг, 0,610 ммоль) в метаноле (2 мл) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 8 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме, и полученный остаток растирают с диэтиловым эфиром с получением 4-(4-(пиперидин-4-илметил)-1Н-индазол-6-ил)фенола в виде соли HCl (195 мг, 0,567 ммоль, 93% выход), (m/z): $[M+H]^+$ рассч для $C_{19}H_{21}N_3O$ 308,18, найдено 308,10.

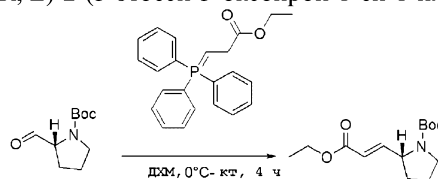
Пример 14. 1-(4-(((6-(4-Гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)метил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-он



14

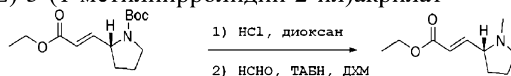
N,N-диизопропилэтиламин (0,079 мл, 0,450 ммоль) добавляют к раствору соли HCl 4-(4-(пиперидин-4-илметил)-1Н-индазол-6-ил)фенола (27,5 мг, 0,080 ммоль) в ДМФ (0,2 мл) при 0°C, затем акрилоилхлорид (8,0 мкл, 0,099 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 10 мин и неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке C18 с препаративной шкалой с применением градиента ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением 1-(4-(((6-(4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)метил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-он в виде соли ТФК (7,2 мг, 0,015 ммоль, 19% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₂₂H₂₃N₃O₂ 362,19, найдено 362,1.

Получение 47: трет-бутил-(R, E)-2-(3-этокси-3-оксопроп-1-ен-1-ил)пирролидин-1-карбоксилат



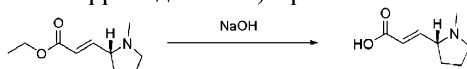
Этил-3-(трифенилфосфоранилиден)пропаноат (3,64 г, 10,0 ммоль) добавляют к раствору трет-бутил-(R, E)-2-формилпирролидин-1-карбоксилата (2,0 г, 10,0 ммоль) в метиленхлориде (40 мл) при 0°C и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 4 ч. Добавляют воду (200 мл) и реакционную смесь экстрагируют метиленхлоридом (2×100 мл). Экстракты метиленхлорида объединяют, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 5% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-(R, E)-2-(3-этокси-3-оксопроп-1-ен-1-ил)пирролидин-1-карбоксилата (1,70 г, 6,31 ммоль, 63% выход).

Получение 48: этил-(R, E)-3-(1-метилпирролидин-2-ил)акрилат



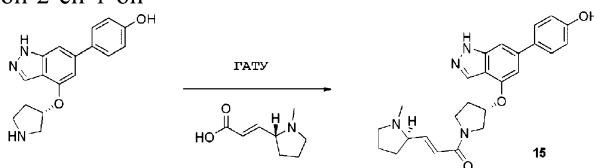
4М HCl в диоксане (7,20 мл, 28,8 ммоль) добавляют к раствору ТФК (10,90 мл), медленно добавляют к раствору трет-бутил-(R, E)-2-(3-этокси-3-оксопроп-1-ен-1-ил)пирролидин-1-карбоксилата (1,70 г, 6,31 ммоль) в диоксане (40 мл) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме с получением неочищенного промежуточного соединения. 37% раствор формальдегида в воде (4,19 мл, 41,4 ммоль) добавляют к раствору неочищенного промежуточного соединения в метиленхлориде (50 мл) при 0°C, затем добавляют триацетоксиборгидрид натрия (5,26 г, 24,8 ммоль), и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 16 ч. Добавляют ледяную воду (20 мл) и реакционную смесь экстрагируют метиленхлоридом (2×100 мл). Экстракты метиленхлорида объединяют, промывают насыщенным раствором соли, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением этил-(R, E)-3-(1-метилпирролидин-2-ил)акрилата (0,900 г, 4,915 ммоль, 78% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₁₀H₁₇NO₂ 184,14, найдено 184,0.

Получение 49: (R, E)-3-(1-метилпирролидин-2-ил)акриловая кислота



Гидроксид натрия (294 мг, 7,36 ммоль) добавляют к раствору этил-(R, E)-3-(1-метилпирролидин-2-ил)акрилата (0,900 г, 4,915 ммоль, 78% выход) в 2:1 ТГФ/воде (15 мл), и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 4 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме с получением этил-(R, E)-3-(1-метилпирролидин-2-ил)акриловой кислоты (668 мг, 4,30 ммоль, 88% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₈H₁₃NO₂ 156,10, найдено 156,26.

Пример 15. (E)-1-((S)-3-(((6-(4-Гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-ил)-3-((R)-1-метилпирролидин-2-ил)проп-2-ен-1-он

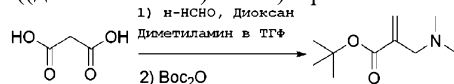


15

Раствор ГАТУ (0,031 г, 0,083 ммоль) в ДМФ (0,1 мл) добавляют к этил-(R, E)-3-(1-метилпирролидин-2-ил)акриловой кислоте (14,0 мг, 0,090 ммоль), затем добавляют раствор гидрохлори-

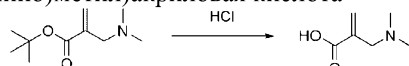
да (S)-4-(4-(пирролидин-3-илокси)-1H-индазол-6-ил)фенола (0,025 г, 0,075 ммоль) и ДИПЭА (0,065 мл, 0,375 ммоль), реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин и неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке C18 с препаративной шкалой с применением градиента ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением ((E)-1-((S)-3-((6-(4-гидроксифенил)-1H-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-ил)-3-((R)-1-метилпирролидин-2-ил)проп-2-ен-1-она в виде соли ТФК (7,8 мг, 0,014 ммоль, 19% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₂₅H₂₈N₄O₃ 433,23, найдено 433,1.

Получение 50: трет-бутил-2-((диметиламино)метил)акрилат



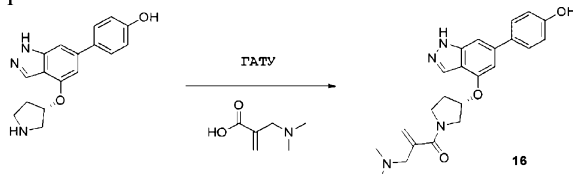
Параформальдегид (1,20 г, 43,2 ммоль) добавляют к раствору малоновой кислоты (2,0 г, 19,3 ммоль) в 1,4-диоксане (20 мл), затем 2М раствор диметиламина в ТГФ (9,60 мл, 19,2 ммоль), и реакционную смесь перемешивают при 70°C в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме и неочищенный продукт перекристаллизовывают с применением диэтилового эфира и ацетона с получением промежуточного соединения в виде белого твердого вещества. Промежуточное белое твердое вещество растворяют в t-BuOH (100 мл), и ди-трет-бутилдикарбонат (4,60 мл, 20,7 ммоль) добавляют в реакционную смесь, затем 4-диметиламинопиридин (511 мг, 4,18 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 4 ч. Добавляют метиленхлорид (500 мл) и реакционную смесь промывают водой (2×500 мл), сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме. Неочищенный остаток очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 2% метанола в метиленхлориде с получением трет-бутил-2-((диметиламино)метил)акрилата (220 мг, 1,19 ммоль, 6% выход).

Получение 51: 2-((диметиламино)метил)акриловая кислота



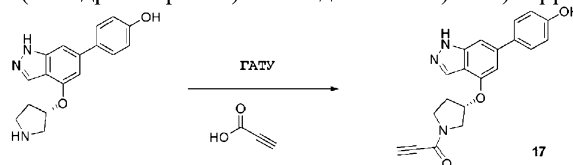
1N водный раствор HCl (5,0 мл, 5 ммоль) добавляют к трет-бутил-2-((диметиламино)метил)акрилату (220 мг, 1,19 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при 100°C в течение 15 мин. Реакционную смесь концентрируют в вакууме и полученный остаток подвергают азеотропной перегонке с толуолом и затем растирают с диэтиловым эфиром с получением 2-((диметиламино)метил)акриловой кислоты в виде соли HCl (119 мг, 0,719 ммоль, 60% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₆H₁₁NO₂ 130,09, найдено 130,22.

Пример 16: (S)-2-((диметиламино)метил)-1-(3-((6-(4-гидроксифенил)-1H-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-он



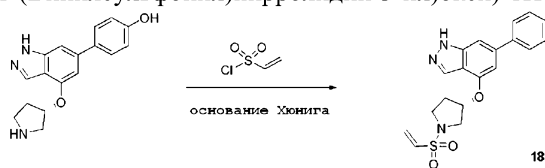
Раствор ГАТУ (0,031 г, 0,083 ммоль) в ДМФ (0,1 мл) добавляют к гидрохлориду 2-((диметиламино)метил)акриловой кислоты (14,9 мг, 0,090 ммоль), затем добавляют раствор гидрохлорида (S)-4-(4-(пирролидин-3-илокси)-1H-индазол-6-ил)фенола (0,025 г, 0,075 ммоль) и ДИПЭА (0,065 мл, 0,375 ммоль), реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин и неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке C18 с препаративной шкалой с применением градиента ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением (S)-2-((диметиламино)метил)-1-(3-((6-(4-гидроксифенил)-1H-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-она в виде соли ТФК (2,6 мг, 0,005 ммоль, 7% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₂₃H₂₆N₄O₃ 407,21, найдено 407,1.

Пример 17. (S)-1-(3-((6-(4-Гидроксифенил)-1H-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-ил)проп-2-ин-1-он



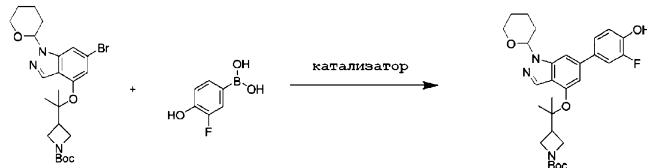
Раствор ГАТУ (0,031 г, 0,083 ммоль) в ДМФ (0,1 мл) добавляют к пропионовой кислоте (6,0 мг, 0,090 ммоль), затем добавляют раствор гидрохлорида (S)-4-(4-(пирролидин-3-илокси)-1H-индазол-6-ил)фенола (0,025 г, 0,075 ммоль) и ДИПЭА (0,065 мл, 0,375 ммоль), реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин и неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке C18 с препаративной шкалой с применением градиента ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением (S)-1-(3-((6-(4-гидроксифенил)-1H-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-ил)проп-2-ин-1-она в виде соли ТФК (2,4 мг, 0,005 ммоль, 7% выход) (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₂₀H₁₇N₃O₃ 348,14, найдено 348,0.

Пример 18. (S)-4-(4-((1-(Винилсульфонил)пирролидин-3-ил)окси)-1Н-индазол-6-ил)фенол



N,N-диизопропилэтиламин (0,052 мл, 0,301 ммоль) добавляют к раствору гидрохлорида (S)-4-(4-(пирролидин-3-илокси)-1Н-индазол-6-ил)фенола (0,020 г, 0,060 ммоль) в ДМФ (0,2 мл) при 0°C, затем добавляют этенсульфонилхлорид (8,4 мл, 0,066 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 10 мин и неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке С18 с препаративной шкалой с применением градиента ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением (S)-4-(4-((1-(винилсульфонил)пирролидин-3-ил)окси)-1Н-индазол-6-ил)фенола в виде соли ТФК (8,2 мг, 0,016 ммоль, 27% выход) (m/z) [M+H]⁺ рассч для C₁₉H₁₉N₃O₄ 386,12, найдено 386,3.

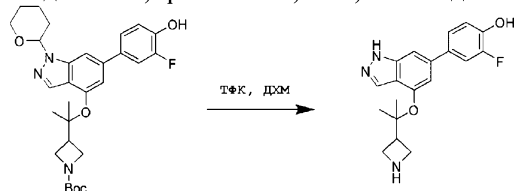
Получение 52: трет-Бутил-3-(2-((6-фтор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилат



Карбонат цезия (6,33 г, 19,42 ммоль) добавляют к раствору трет-бутил-3-(2-((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилата (3,20 г, 6,47 ммоль) и 3-фтор-4-гидроксibenзолбороновой кислоты (1,514 г, 9,71 ммоль) в 1,4-диоксане (20,71 мл) и воде (5,18 мл) и реакционную смесь дегазируют азотом в течение 10 мин.

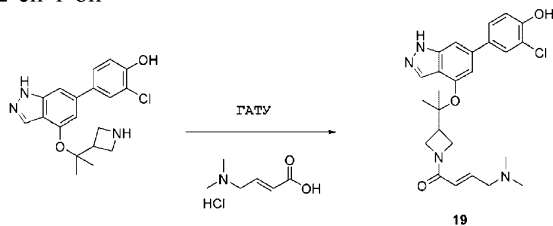
Добавляют дихлор [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]палладия(II) (0,793 г, 0,971 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при 110°C в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме до объема около 5 мл. Добавляют насыщенный водный раствор хлорида аммония (20 мл) и смесь экстрагируют метиленхлоридом (2×20 мл). Экстракты метиленхлорида объединяют, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 50% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-3-(2-((6-фтор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилата (2,30 г, 4,38 ммоль, 68% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₂₉H₃₇N₃O₅ 526,27, найдено 526,3.

Получение 53: 4-(4-((2-азетидин-3-ил)пропан-2-ил)окси)-1-Н-индазол-6-ил)-2-фторфенол



Трет-бутил-3-(2-((6-фтор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилат (3,10 г, 5,90 ммоль) растворяют в дихлорметане (10 мл) и медленно добавляют ТФК (10 мл). Прозрачный раствор перемешивают при кт в течение 2 ч, после чего ЖХМС показывает хорошее превращение в желаемый продукт. Реакционную смесь концентрируют с получением 4-(4-((2-азетидин-3-ил)пропан-2-ил)окси)-1-Н-индазол-6-ил)-2-фторфенола в виде соли ТФК (100% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₁₉H₂₁FN₃O₂ 342,16, найдено 342,3.

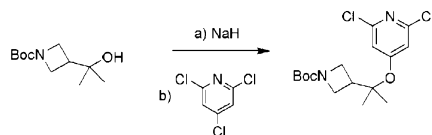
Пример 19. (Е)-1-(3-(2-((6-(3-Фтор-4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-ил)-4-(диметиламино)бут-2-ен-1-он



ГАТУ (гексафторфосфат 2-(7-аза-1Н-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилурония, 2,92 г, 7,07 ммоль) добавляют к раствору гидрохлорида (Е)-4-(диметиламино)бут-2-еновой кислоты (1,07 г, 6,48 ммоль) в ДМФ (10 мл). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 10 мин, затем добавляют соль ТФК 4-(4-((2-азетидин-3-ил)пропан-2-ил)окси)-1-Н-индазол-6-ил)-2-фторфенола (2,01 г, 5,89 ммоль), затем ДИПЭА (3,08 мл, 17,7 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин и затем концентрируют в вакууме с получением желтой жидкости. Неочищенную жидкость очищают

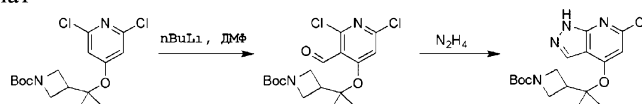
хроматографией на колонке C18 с препаративной шкалой с применением градиента 20-80% ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением (Е)-4-(диметиламино)-1-(3-(2-((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1Н-индазол-4-ил)окси)пропан-2-ил)циклобутил)бут-2-ен-1-она в виде соли ТФК (1,65 г, 3,65 ммоль, 61,9% выход), (m/z): $[M+H]^+$ расщ для $C_{25}H_{30}FN_4O_3$ 453,23, найдено 453,3.

Получение 54: трет-бутил-3-(2-((2,6-дихлорпиридин-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилат



Раствор трет-бутил-3-(2-гидроксипропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилата (6,5 г, 30,21 ммоль) в ДМСО (10 мл) добавляют по каплям к раствору 60% гидрида натрия в минеральном масле (1,65 г, 41,20 ммоль) в ДМСО (15 мл) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 10 мин. Раствор 2,4,6-трихлорпиридина (5,0 г, 27,62 ммоль) в ДМСО (25 мл) добавляют по каплям к полученной суспензии, и реакционную смесь перемешивают при 60°C в течение 16 ч. Реакционную смесь гасят с применением насыщенного водного раствора хлорида аммония и экстрагируют этилацетатом. Экстракты этилацетата объединяют, промывают водным насыщенным раствором хлорида натрия, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением неочищенной жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 5% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-3-(2-((2,6-дихлорпиридин-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилата (2,10 г, 5,80 ммоль, 21,1% выход), (m/z): $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{16}H_{23}Cl_2N_2O_3$ 361,11, найдено 361,11.

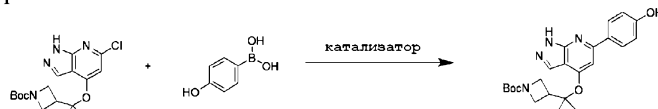
Получение 55: трет-бутил-3-(2-((6-хлор-1Н-пиразоло[3,4-b]пиридин-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилат



2М раствор nBuLi в гексане (3,05 мл, 6,11 ммоль) добавляют по каплям к раствору трет-бутил-3-(2-((2,6-дихлорпиридин-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилата (2,0 г, 5,55 ммоль) в ТГФ (40 мл) при -78°C. ДМФ (0,64 мл, 8,33 ммоль) добавляют одной порцией, и реакционную смесь перемешивают при -78°C в течение 10 мин. Добавляют 5% уксусную кислоту в диэтиловом эфире и смесь затем разбавляют водой. Водный слой экстрагируют этилацетатом (3 раза). Экстракты этилацетата объединяют, промывают насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением неочищенного промежуточного трет-бутил-3-(2-((2,6-дихлор-3-формилпиридин-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилата.

Гидрат гидразина (1,0 мл, 20,56 ммоль) добавляют по каплям к раствору неочищенного трет-бутил-3-(2-((2,6-дихлор-3-формилпиридин-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилата в ТГФ (40 мл) при 0°C, и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 2 ч. Добавляют триэтиламин (1,45 мл, 10,28 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при 60°C в течение 16 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме, полученный остаток разбавляют водой и экстрагируют этилацетатом. Экстракты этилацетата объединяют, промывают насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением неочищенной жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 20% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-3-(2-((6-хлор-1Н-пиразоло[3,4-b]пиридин-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилата (1,20 г, 3,27 ммоль, 58,9% выход) (m/z) $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{17}H_{23}ClN_4O_3$ 367,15, найдено 367,00.

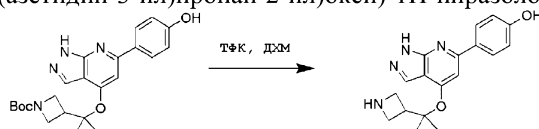
Получение 56: трет-бутил-3-(2-((6-(4-гидроксифенил)-1Н-пиразоло[3,4-b]пиридин-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилат



Карбонат натрия (636 мг, 6,00 ммоль) добавляют к раствору трет-бутил-3-(2-((6-хлор-1Н-пиразоло[3,4-b]пиридин-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилата (1,1 г, 3,00 ммоль) в 4 л диоксане/воде (15 мл), затем добавляют фенолбороновую кислоту (496 мг, 3,60 ммоль) и реакционную смесь дегазируют аргоном в течение 10 мин. Добавляют аддукт дихлор[1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]палладия(II) с дихлорметаном (245 мг, 0,3 ммоль), реакционную смесь дегазируют аргоном в течение 5 мин и реакционную смесь перемешивают под микроволнами при 130°C в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляют водой и экстрагируют этилацетатом. Экстракты этилацетата объединяют, промывают насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением неочищенной жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 50% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-3-(2-((6-(4-гидроксифенил)-1Н-пиразоло[3,4-b]пиридин-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилата (650 мг,

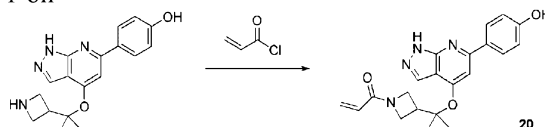
1,53 ммоль, 51,0% выход) (m/z) $[M+H]^+$ рассч для $C_{23}H_{29}N_4O_4$ 425,22, найдено 425,21.

Получение 57: 4-(4-((2-(азетидин-3-ил)пропан-2-ил)окси)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-ил)фенол



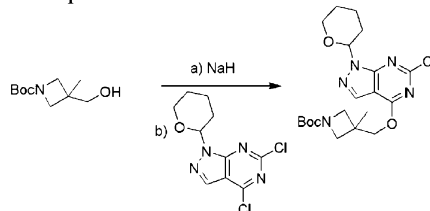
Трет-бутил-3-(2-((6-(4-гидроксифенил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-карбоксилат (630 мг, 1,48 ммоль) растворяют в дихлорметане (10 мл) и медленно добавляют ТФК (6,3 мл). Прозрачный раствор перемешивают при кт в течение 4 ч, после чего ЖХМС показывает хорошее превращение в желаемый продукт. Реакционную смесь концентрируют в вакууме и остаток растирают с ацетонитрилом и диэтиловым эфиром с получением 4-(4-((2-(азетидин-3-ил)пропан-2-ил)окси)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-ил)фенола в виде соли ТФК (100% выход), (m/z): $[M+H]^+$ рассч для $C_{18}H_{21}N_4O_2$ 325,17, найдено 325,13.

Пример 20: 1-(3-(2-((6-(4-гидроксифенил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-ил)проп-2-ен-1-он



Диизопропилэтиламин (0,298 мл, 1,711 ммоль) добавляют к раствору соли ТФК 4-(4-((2-(азетидин-3-ил)пропан-2-ил)окси)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-ил)фенола (150 мг, 0,342 ммоль) в ДМФ (3,00 мл) при 0°C, затем добавляют акрилоилхлорид (0,031 мл, 0,376 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин. Реакционную смесь концентрируют в вакууме с получением коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке С18 с препаративной шкалой с применением градиента 10-70% ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением 1-(3-(2-((6-(4-гидроксифенил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)пропан-2-ил)азетидин-1-ил)проп-2-ен-1-она в виде соли ТФК (80,5 мг, 0,163 ммоль, 47,8% выход). (m/z): $[M+H]^+$ рассч для $C_{21}H_{23}N_4O_3$ 379,18, найдено 379,3.

Получение 58: трет-бутил-3-(((6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-4-ил)окси)метил)-3-метилазетидин-1-карбоксилат



Гидрид натрия (211 мг, 8,79 ммоль) добавляют к раствору трет-бутил-3-(гидроксиметил)-3-метилазетидин-1-карбоксилата (973 мг, 4,83 ммоль) в ДМФ (4,4 мл) при 0°C и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 30 мин. Реакционную смесь затем добавляют по каплям к раствору 4,6-дихлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидина (1,20 г, 4,39 ммоль) в ДМФ (4,4 мл) при 0°C и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 2 ч. Реакционную смесь гасят добавлением воды (1 мл) и полученную смесь концентрируют в вакууме с получением светло-коричневой жидкости. Добавляют воду (10 мл) и смесь экстрагируют этилацетатом (3×20 мл). Экстракты этилацетата объединяют, промывают насыщенным водным раствором хлорида натрия (5 мл) и сушат над сульфатом натрия с получением коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 40% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-3-(((6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-4-ил)окси)метил)-3-метилазетидин-1-карбоксилата (1,06 г, 4,39 ммоль, 54,9% выход) (m/z) $[M+H]^+$ рассч для $C_{20}H_{29}ClN_5O_4$ 438,19, найдено 438,6.

Получение 59: трет-бутил-3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-4-ил)окси)метил)-3-метилазетидин-1-карбоксилат



Трехосновный фосфат калия (218 мг, 1,03 ммоль) добавляют к раствору трет-бутил-3-(((6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-4-ил)окси)метил)-3-метилазетидин-1-карбоксилата (150 мг, 0,343 ммоль) в 4:1 диоксане/воде (1,71 мл), затем добавляют 3-фтор-4-гидроксифенилбороновую кислоту (80,0 мг, 0,514 ммоль) и реакционную смесь дегазируют азотом в течение 10 мин. Добавляют ацетат палладия (15,4 мг, 0,069 ммоль) и 1,1'-бис(ди-*t*-бутилфосфино)ферроцен (32,5 мг, 0,069 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при 110°C в течение ночи. Реакционную

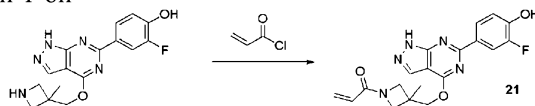
смесь концентрируют в вакууме до объема около 5 мл. Добавляют насыщенный водный раствор хлорида аммония (20 мл) и смесь экстрагируют этилацетатом (3×20 мл). Экстракты этилацетата объединяют, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 40% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-4-ил)окси)метил)-3-метилазетидин-1-карбоксилата (65 мг, 0,343 ммоль, 37,0% выход) (m/z) $[M+H]^+$ расщ для $C_{26}H_{33}FN_5O_5$ 514,25, найдено 514,7.

Получение 60: 2-фтор-4-(4-((3-метилазетидин-3-ил)метокси)-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-6-ил)фенол



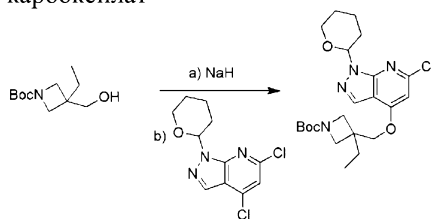
Трет-бутил-3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-4-ил)окси)метил)-3-метилазетидин-1-карбоксилат (65 мг, 0,127 ммоль) растворяют в дихлорметане (0,56 мл), добавляют ТФК (0,56 мл) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 4 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме с получением 2-фтор-4-(4-((3-метилазетидин-3-ил)метокси)-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-6-ил)фенола в виде соли ТФК (100% выход), (m/z): $[M+H]^+$ расщ для $C_{16}H_{17}FN_5O_2$ 330,14, найдено 330,3.

Пример 21. 1-(3-(((6-(3-Фтор-4-гидроксифенил)-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-4-ил)окси)метил)-3-метилазетидин-1-ил)проп-2-ен-1-он



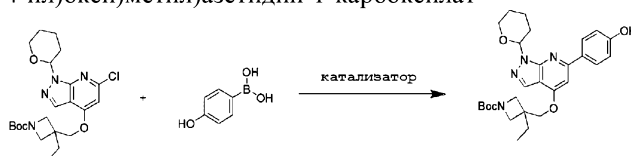
Диизопропилэтиламин (0,210 мл, 1,20 ммоль) добавляют к раствору соли ТФК 2-фтор-4-(4-((3-метилазетидин-3-ил)метокси)-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-6-ил)фенола (53,2 мг, 0,12 ммоль) в ДМФ (0,60 мл) при 0°C, затем добавляют акрилоилхлорид (9,75 мкл, 0,120 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин. Реакционную смесь концентрируют в вакууме с получением неочищенной жидкости. Неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке С18 с препаративной шкалой с применением градиента 10-60% ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением 1-(3-(((6-(3-фтор-4-гидроксифенил)-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-4-ил)окси)метил)-3-метилазетидин-1-ил)проп-2-ен-1-он в виде соли ТФК (10,5 мг, 0,120 ммоль, 21,7% выход). (m/z): $[M+H]^+$ расщ для $C_{19}H_{19}FN_5O_3$ 384,15, найдено 384,3.

Получение 61: трет-бутил-3-(((6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиримидин-4-ил)окси)метил)-3-этилазетидин-1-карбоксилат



60 мас.% гидрида натрия в минеральном масле (353 мг, 8,82 ммоль) добавляют к раствору трет-бутил-3-этил-3-(гидроксиметил)азетидин-1-карбоксилата (1,1 г, 4,85 ммоль) в ДМФ (10 мл) при 0°C и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 40 мин. Раствор 4,6-дихлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиримидина (1,20 г, 4,41 ммоль) в ДМФ (5 мл) при 0°C и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 1 ч. Реакционную смесь гасят добавлением воды и смесь экстрагируют этилацетатом. Экстракты этилацетата объединяют, промывают водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия и затем сушат над сульфатом натрия с получением неочищенного остатка. Неочищенный остаток очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 5% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-3-(((6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиримидин-4-ил)окси)метил)-3-этилазетидин-1-карбоксилата (900 мг, 4,39 ммоль, 45,2% выход). (m/z): $[M+H]^+$ расщ для $C_{22}H_{32}ClN_4O_4$ 451,21, найдено 451,13.

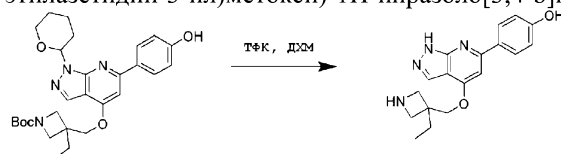
Получение 62: трет-бутил-3-этил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиримидин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат



Раствор фенолбороновой кислоты (413 мг, 2,99 ммоль) и карбоната натрия (421 мг, 3,98 ммоль) в воде (2 мл) добавляют к раствору трет-бутил-3-(((6-хлор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)метил)-3-этилазетидин-1-карбоксилата (900 мг, 1,99 ммоль) в диоксане (8 мл), и реакционную смесь дегазируют аргоном в течение 5 мин.

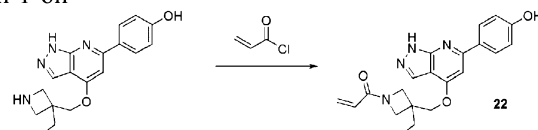
Добавляют аддукт дихлор[1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]палладия(II) с дихлорметаном (162 мг, 0,19 ммоль), реакционную смесь дегазируют аргоном в течение 5 мин и реакционную смесь перемешивают при 110°C в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляют этилацетатом и фильтруют через Целит. Добавляют воду, слой этилацетата отделяют и водный слой экстрагируют этилацетатом. Экстракты этилацетата объединяют, промывают насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением неочищенной жидкости. Неочищенную жидкость очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 30% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-3-этил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилата (800 мг, 1,57 ммоль, 79,0% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₂₈H₃₇N₄O₅ 509,28, найдено 509,29.

Получение 63: 4-(4-((3-этилазетидин-3-ил)метокси)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-ил)фенол



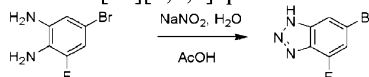
Трет-бутил-3-этил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-карбоксилат (800 мг, 1,57 ммоль) растворяют в дихлорметане (10 мл) и добавляют ТФК (10 мл) при 0°C и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 3 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме и полученный остаток растирают с диэтиловым эфиром. Неочищенный остаток растворяют в минимуме ацетонитрила и осаждают с диэтиловым эфиром с получением 4-(4-((3-этилазетидин-3-ил)метокси)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-ил)фенола в виде соли ТФК (287 мг, 0,885 ммоль, 56,3% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₁₈H₂₁N₄O₂ 325,17, найдено 325,07.

Пример 22: 1-(3-этил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-ил)проп-2-ен-1-он



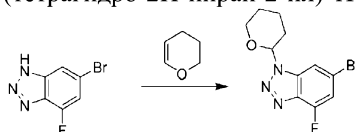
Диизопропилэтиламин (0,246 мл, 1,41 ммоль) добавляют к раствору соли ТФК 4-(4-((3-этилазетидин-3-ил)метокси)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-6-ил)фенола (124 мг, 0,283 ммоль) в ДМФ (2,0 мл) при 0°C, затем добавляют акрилоилхлорид (25 мкл, 0,311 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин. Реакционную смесь концентрируют в вакууме с получением коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке С18 с препаративной шкалой с применением градиента 20-80% ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением 1-(3-этил-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1Н-пиразоло[3,4-б]пиридин-4-ил)окси)метил)азетидин-1-ил)проп-2-ен-1-она в виде соли ТФК (44,8 мг, 0,118 ммоль, 41,9% выход), (m/z): [M+H]⁺ рассч для C₂₁H₂₃N₄O₃ 379,18, найдено 379,3.

Получение 64: 6-бром-4-фтор-1Н-бензо[с1][1,2,3]триазол



Раствор нитрита натрия (1,85 г, 26,8 ммоль) в воде (50 мл) добавляют к раствору 5-бром-3-фторбензол-1,2-диамина (5,00 г, 24,4 ммоль) в воде (50 мл) и уксусной кислоте (18,0 мл) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 15 мин и затем при 85°C в течение 1 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме, к полученному остатку добавляют воду. Смесь экстрагируют этилацетатом (2×300 мл), экстракты этилацетата объединяют, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением 6-бром-4-фтор-1Н-бензо[с1][1,2,3]триазола (5,0 г, 23,1 ммоль, 94,0% выход), (m/z): [M-H]⁻ рассч для C₆H₃BrFN₃ 213,94, найдено 213,94.

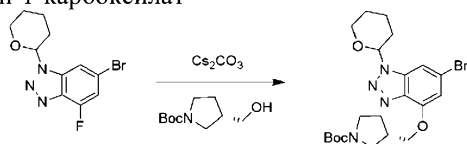
Получение 65: 6-бром-4-фтор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-бензо[с1][1,2,3]триазол



п-Толуолсульфоновую кислоту (796 мг, 4,62 ммоль) добавляют к раствору 6-бром-4-фтор-1Н-бензо[с1][1,2,3]триазола (5,0 г, 23,1 ммоль) в тетрагидрофуране (200 мл), затем добавляют 3,4-дигидро-2Н-пиран (7,7 г, 92,6 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 4 ч. Реакционную

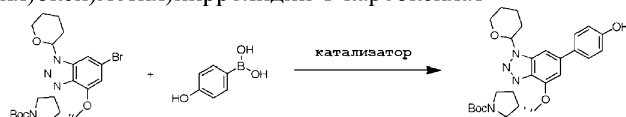
смесь концентрируют в вакууме и полученный остаток очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 10% этилацетата в гексане с получением 6-бром-4-фтор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-бензо[d][1,2,3]триазола (3,8 г, 12,7 ммоль, 55,4% выход) (m/z) $[M+H]^+$ рассч для $C_{11}H_{12}BrFN_3O$ 300,01, найдено 300,09.

Получение 66: трет-бутил-(3S)-3-(((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-бензо[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-карбоксилат



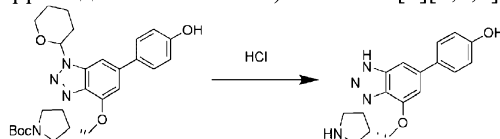
Карбонат цезия (1,50 г, 4,64 ммоль) добавляют к раствору трет-бутил-(S)-3-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбоксилата (564 мг, 2,80 ммоль) в ДМСО (15 мл) при 0°C, затем добавляют 6-бром-4-фтор-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-бензо[d][1,2,3]триазол (700 мг, 2,34 ммоль), и реакционную смесь перемешивают при 80°C в течение 3 часов. Добавляют воду, и смесь экстрагируют этилацетатом (3×). Экстракты этилацетата объединяют, промывают водой и водным раствором хлорида натрия, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением неочищенного остатка. Неочищенный остаток очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 30% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-(3S)-3-(((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-бензо[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-карбоксилата (500 мг, 1,04 ммоль, 45,6% выход) (m/z) $[M+H]^+$ рассч для $C_{21}H_{30}BrN_4O_4$ 481,15, найдено 481,2.

Получение 67: трет-бутил-(3S)-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-бензо[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-карбоксилат



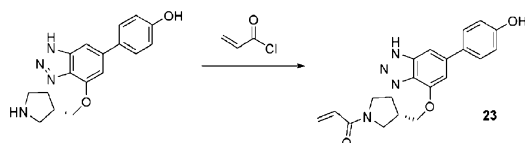
Фенолбороновую кислоту (192 мг, 1,40 ммоль) добавляют к раствору трет-бутил-(3S)-3-(((6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-бензо[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-карбоксилата (450 мг, 0,93 ммоль) в диоксане (10 мл) и воде (2 мл), затем добавляют фосфат калия (394 мг, 1,86 ммоль) и реакционную смесь дегазуют аргонном в течение 15 мин. Добавляют комплекс хлорида 2'-(диметиламино)-2-бифенилпалладия(II) с динорборнилфосфином (52 мг, 0,093 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при 110°C в течение 40 мин под микроволнами. Реакционную смесь фильтруют через Целит. Добавляют воду и смесь экстрагируют этилацетатом (3×). Экстракты этилацетата объединяют, промывают насыщенным водным раствором хлорида натрия, сушат над сульфатом натрия и концентрируют в вакууме с получением неочищенного остатка. Остаток очищают флэш-хроматографией на колонке с применением 30% этилацетата в гексане с получением трет-бутил-(3S)-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-бензо[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-карбоксилата (300 мг, 0,607 ммоль, 65,0% выход) (m/z) $[M+H]^+$ рассч для $C_{27}H_{35}N_4O_5$ 495,26, найдено 495,06.

Получение 68: (S)-4-(4-(пирролидин-3-илметокси)-1Н-бензо[d][1,2,3]триазол-6-ил)фенол



4М хлористоводородную кислоту в диоксане (10,0 мл, 40 ммоль) добавляют к раствору ((3S)-3-(((6-(4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-бензо[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-карбоксилата (230 мг, 0,465 ммоль) в метаноле (2 мл) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 5 ч. Реакционную смесь концентрируют в вакууме и полученный остаток растирают с диэтиловым эфиром с получением (S)-4-(4-(пирролидин-3-илметокси)-1Н-бензо[d][1,2,3]триазол-6-ил)фенола в виде гидрохлорида (225 мг, 0,649 ммоль, 85,0% выход) (m/z): $[M+H]^+$ рассч для $C_{17}H_{19}N_4O_2$ 311,15, найдено 311,06.

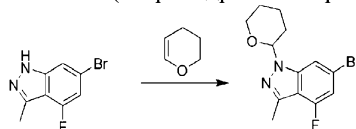
Пример 23: (S)-1-(3-(((6-(4-гидроксифенил)-1Н-бензо[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-он



Диизопропилэтиламин (0,083 мл, 0,475 ммоль) добавляют к раствору гидрохлорида (S)-4-(4-(пирролидин-3-илметокси)-1Н-бензо[d][1,2,3]триазол-6-ил)фенола (32,9 мг, 0,095 ммоль) в ДМФ (0,475 мл) при 0°C, затем добавляют акрилоилхлорид (7,7 мкм, 0,095 ммоль) и реакционную смесь перемешивают.

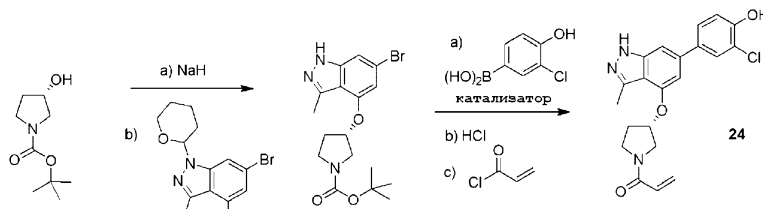
вают при кт в течение 15 мин. Реакционную смесь концентрируют в вакууме с получением коричневой жидкости. Неочищенную жидкость очищают хроматографией на колонке C18 с препаративной шкалой с применением градиента 5-75% ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением (S)-1-(3-(((6-(4-гидроксифенил)-1H-бензо[d][1,2,3]триазол-4-ил)окси)метил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-она в виде соли ТФК (2,5 мг, 0,068 ммоль, 7,2% выход) (m/z): $[M+H]^+$ расщ для $C_{20}H_{21}N_4O_3$ 365,16, найдено 365,1.

Получение 69: 6-бром-4-фтор-3-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол



п-Толуолсульфоновую кислоту (236 мг, 1,24 ммоль) добавляют к раствору 6-бром-4-фтор-3-метил-1H-индазола (2,84 г, 12,4 ммоль) в дихлорметане (41 мл), затем 3,4-дигидро-2H-пиран (3,13 г, 37,2 ммоль), и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 3 дней. Реакционную смесь фильтруют через слой силикагеля и фильтрат концентрируют в вакууме с получением 6-бром-4-фтор-3-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазола (3,3 г, 10,5 ммоль, 85% выход), (m/z): $[M+Na]^+$ расщ для $C_{13}H_{14}BrFN_2NaO$ 335,02, найдено 335,4.

Пример 24. (S)-1-(3-((6-(3-Хлор-4-гидроксифенил)-3-метил-1H-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-он



60 мас.% гидрида натрия в минеральном масле (319 мг, 7,98 ммоль) добавляют к раствору (S)-1-бос-3-гидрокси-пирролидина (1,3 г, 6,94 ммоль) в ДМФ (16 мл) при 0°C и реакционную смесь перемешивают при кт в течение 20 мин. Добавляют 6-бром-4-фтор-3-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол (1,00 г, 3,19 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при кт в течение ночи. Реакционную смесь гасят добавлением воды и смесь концентрируют в вакууме с получением неочищенного промежуточного трет-бутил-(3S)-3-((6-бром-3-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-карбоксилата.

3-Хлор-4-гидроксифенилбороновую кислоту (0,484 г, 2,81 ммоль) и трехосновный фосфат калия (1,19 г, 5,62 ммоль) добавляют к раствору неочищенного трет-бутил-(3S)-3-((6-бром-3-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-карбоксилата в 2:1 диоксане/воде (9,5 мл) и реакционную смесь дегазируют азотом в течение 10 мин. Добавляют метансульфонат (2-дихлоргексилфосфино-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)[2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]палладия(II), XPhos-G3-палладийцикл (95 мг, 0,112 ммоль) и реакционную смесь перемешивают при 110°C в течение 3 ч под микроволнами. Добавляют воду, и смесь экстрагируют этилацетатом.

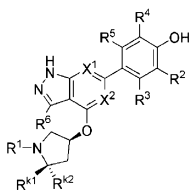
Экстракты этилацетата объединяют и концентрируют в вакууме с получением неочищенного промежуточного трет-бутил-(3S)-3-((6-(3-хлор-4-гидроксифенил)-3-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-карбоксилата.

4,0 N HCl в диоксане (3,75 мл, 15,0 ммоль) добавляют к раствору неочищенного трет-бутил-(3S)-3-((6-(3-хлор-4-гидроксифенил)-3-метил-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-карбоксилата в метаноле (0,5 мл) и реакционную смесь перемешивают при 60°C в течение 30 мин. Реакционную смесь концентрируют в вакууме с получением неочищенного промежуточного (S)-2-хлор-4-(3-метил-4-(пирролидин-3-илокси)-1H-индазол-6-ил)фенола.

N,N-диизопропилэтиламин (4,59 мл, 26,3 ммоль) добавляют к раствору неочищенного промежуточного (S)-2-хлор-4-(3-метил-4-(пирролидин-3-илокси)-1H-индазол-6-ил)фенола в метилхлориде (3,75 мл), затем добавляют акрилоилхлорид (60,9 мкл, 0,750 ммоль). Реакционную смесь перемешивают при кт в течение 30 мин, затем концентрируют в вакууме с получением неочищенного остатка. Неочищенный остаток очищают хроматографией на колонке C18 с препаративной шкалой с применением градиента 0-40% ацетонитрил в воде с 0,05% трифторуксусной кислотой с получением (S)-1-(3-((6-(3-хлор-4-гидроксифенил)-3-метил-1H-индазол-4-ил)окси)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-она в виде соли ТФК (7,6 мг, 0,015 ммоль, 0,98% выход). (m/z): $[M+H]^+$ расщ для $C_{21}H_{21}ClN_3O_3$ 398,13, найдено 398,3.

Соединения из табл. 1-12 получают подобными методами синтеза.

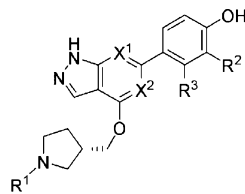
Таблица 1



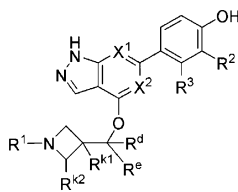
Пр. №	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	X ¹	X ²	R ¹¹	R ¹²	Формула	Расчет, [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
1-1		H	H	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₁₃ H ₂₀ N ₄ O ₃	407,20	407
1-2		H	H	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₁₁ H ₁₇ N ₄ O ₃	350,13	350
1-3		Cl	H	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₂₃ H ₂₅ ClN ₄ O ₃	441,15	441,1
1-4		F	H	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₂₂ H ₂₃ FN ₄ O ₃	425,19	425,1
1-5		F	H	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₂₆ H ₂₅ FN ₄ O ₃	368,12	368
1-6		H	H	H	H	H	N	N	H	H	C ₁₈ H ₁₉ N ₅ O ₃	352,12	352,3
1-7		H	H	H	H	H	CH	N	H	H	C ₁₇ H ₁₉ N ₅ O ₃	408,19	408,2
1-8		H	H	H	H	H	CH	N	H	H	C ₁₈ H ₁₉ N ₅ O ₃	351,12	351,2
1-9		H	H	H	H	H	N	CH	H	H	C ₁₈ H ₁₉ N ₅ O ₃	351,12	351,1
1-10		H	H	H	H	H	CH	CH	Me	H	C ₁₈ H ₂₁ N ₄ O ₃	421,20	421,3
1-11		H	H	H	H	H	CH	CH	Me	H	C ₂₁ H ₂₁ N ₅ O ₃	364,14	364,2
1-12		H	H	H	H	H	CH	CH	H	Me	C ₁₈ H ₁₉ N ₄ O ₃	364,14	364
1-13		F	F	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₅ O ₃	386,11	386
1-14		F	H	F	H	H	CH	CH	H	H	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₅ O ₃	386,11	386
1-15		F	Cl	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₁₉ H ₁₇ ClFN ₅ O ₃	402,08	402
1-16		F	H	H	Me	H	CH	CH	H	H	C ₂₁ H ₂₃ FN ₄ O ₃	382,13	382,1
1-17		H	F	H	H	H	CH	CH	H	H	C ₂₀ H ₂₃ FN ₄ O ₃	368,12	368,0
1-18		H	F	H	F	H	CH	CH	H	H	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₅ O ₃	386,11	386,0
1-19		F	H	H	F	H	CH	CH	H	H	C ₂₀ H ₁₇ F ₂ N ₅ O ₃	386,11	386,0

1-20		H	H	H	H	Me	CH	CH	H	H	$C_{21}H_{21}N_3O_3$	364,14	364,0
1-21		H	H	H	H	NHMe	CH	CH	H	H	$C_{21}H_{22}N_3O_3$	379,15	379,0
1-22		H	H	H	H	CH ₃ -OMe	CH	CH	H	H	$C_{22}H_{22}N_3O_4$	394,15	394,0
1-23		F	H	H	H	Me	CH	CH	H	H	$C_{21}H_{19}FN_3O_3$	382,13	382,0
1-24		H	H	H	H	H	N	N	Me	H	$C_{19}H_{17}N_3O_3$	366,13	366,0
1-25		H	H	H	H	CHF ₂	N	N	H	H	$C_{19}H_{15}F_2N_3O_3$	402,11	402,0
1-26		H	H	H	H	H	N	CH	Me	H	$C_{20}H_{20}N_4O_3$	365,14	365,0
1-27		F	H	H	H	H	CH	N	H	H	$C_{19}H_{17}FN_3O_3$	369,11	369,2
1-28		F	H	H	H	H	CH	N	H	H	$C_{22}H_{19}FN_3O_3$	426,17	426,1
1-29		F	H	H	Me	H	CH	CH	H	H	$C_{24}H_{21}FN_3O_3$	439,19	439,1
1-30		F	H	H	F	Me	CH	CH	H	H	$C_{21}H_{15}F_3N_3O_3$	400,12	400,4
1-31		H	H	H	H	Me	N	CH	H	H	$C_{20}H_{20}N_4O_3$	365,14	365,0
1-32		Cl	H	H	H	Me	N	CH	H	H	$C_{20}H_{19}ClN_4O_3$	399,10	399,0
1-33		F	H	H	H	Me	N	CH	H	H	$C_{20}H_{18}FN_4O_3$	383,13	383,0
1-34		H	H	H	H	Me	CH	N	H	H	$C_{20}H_{20}N_4O_3$	365,14	365,0
1-35		Cl	H	H	H	Me	CH	N	H	H	$C_{20}H_{19}ClN_4O_3$	399,10	399,0
1-36		F	H	H	H	Me	CH	N	H	H	$C_{20}H_{18}FN_4O_3$	383,13	383,0
1-37		Cl	H	H	H	Me	N	N	H	H	$C_{19}H_{17}ClN_4O_3$	400,09	400,0
1-38		F	H	H	H	Me	N	N	H	H	$C_{19}H_{16}FN_4O_3$	384,12	384,0
1-39		H	H	H	H	SMe	CH	CH	H	H	$C_{22}H_{21}N_3O_3S$	396,11	396,4
1-40		F	H	H	H	SMe	CH	CH	H	H	$C_{22}H_{19}FN_3O_3S$	414,11	414,0
1-41		Cl	H	H	H	SMe	CH	CH	H	H	$C_{22}H_{19}ClN_3O_3S$	430,08	430,0
1-42		H	H	H	H	NMe ₂	CH	CH	H	H	$C_{21}H_{22}N_4O_3$	393,17	393,0
1-43		H	H	H	H	CF ₃	CH	CH	H	H	$C_{21}H_{18}F_3N_3O_3$	418,11	418,4
1-44		H	H	H	H	OMe	CH	CH	H	H	$C_{21}H_{23}N_3O_4$	380,14	380,0
1-45		H	H	H	H	CN	CH	CH	H	H	$C_{21}H_{19}N_4O_3$	375,12	375,0
1-46		Cl	H	H	H	OMe	CH	CH	H	H	$C_{21}H_{21}ClN_3O_3$	409,08	409,0
1-47		H	H	H	H	Cl	CH	CH	H	H	$C_{20}H_{19}ClN_3O_3$	384,09	384,1
1-48		H	H	H	H	Cl	CH	CH	H	H	$C_{23}H_{22}ClN_4O_3$	441,15	441,8

Таблица 2



Р. №	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
2-1		H	H	CH	CH	C ₂₄ H ₂₀ N ₄ O ₂	421, 20	421, 2
2-2		Cl	H	CH	CH	C ₂₄ H ₁₉ N ₄ O ₂ Cl	455, 16	455, 1
2-3		Cl	H	CH	CH	C ₂₄ H ₂₀ ClN ₃ O ₃	398, 10	398, 2
2-4		F	H	CH	CH	C ₂₄ H ₁₉ FN ₄ O ₃	439, 19	439, 3
2-5		F	H	CH	CH	C ₂₃ H ₁₈ FN ₄ O ₃	382, 13	382, 1
2-6		H	H	N	CH	C ₂₆ H ₂₀ N ₄ O ₃	365, 14	365, 0
2-7		H	H	N	N	C ₁₃ H ₁₃ N ₅ O ₂	366, 13	366, 0
2-8		H	H	CH	N	C ₂₆ H ₂₀ N ₄ O ₃	365, 14	365, 0
2-9		Cl	H	CH	N	C ₂₄ H ₂₀ ClN ₅ O ₃	456, 16	456, 2
2-10		F	H	CH	N	C ₂₀ H ₁₈ FN ₄ O ₃	383, 13	383, 0
2-11		Cl	H	N	N	C ₁₉ H ₁₈ ClN ₅ O ₃	400, 09	400, 1
2-12		H	H	N	CH	C ₂₆ H ₂₀ N ₄ O ₂	365, 14	365, 0
2-13		F	H	CH	N	C ₂₃ H ₁₈ FN ₄ O ₃	440, 19	440, 3
2-14		Cl	H	CH	N	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₅ O ₃	399, 10	399, 0
2-15		F	H	N	N	C ₁₃ H ₁₂ FN ₅ O ₃	384, 12	384, 1
2-16		Cl	H	N	CH	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₄ O ₃	399, 10	399, 1
2-17		F	H	N	CH	C ₂₃ H ₁₉ FN ₄ O ₃	383, 13	383, 1

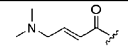
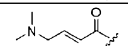
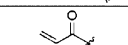
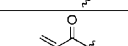
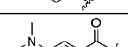
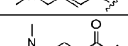
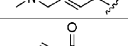
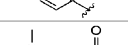
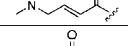
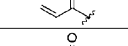
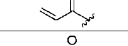
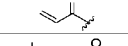
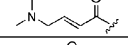
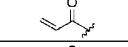
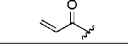
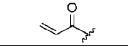
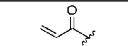
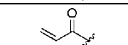
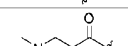
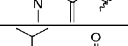
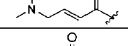
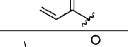
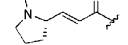


Пр. №	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	R ^{k1}	R ^{k2}	R ^d	R [*]	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найде но [M+H] ⁺
3-1		H	H	CH	CH	H	H	H	H	C ₂₀ H ₂₃ N ₃ O ₃	350,13	350,2
3-2		Cl	H	CH	CH	H	H	H	H	C ₂₃ H ₂₅ ClN ₄ O ?	441,15	441,3
3-3		Cl	H	CH	CH	H	H	H	H	C ₂₀ H ₂₃ ClN ₃ O ?	384,09	384,1
3-4		F	H	CH	CH	H	H	H	H	C ₂₀ H ₁₉ FN ₃ O ₃	368,12	368,2
3-5		H	H	CH	CH	F	H	H	H	C ₂₃ H ₂₅ FN ₄ O ₃	425,18	425,1
3-6		H	H	CH	CH	F	H	H	H	C ₂₀ H ₁₉ FN ₃ O ₃	368,12	368,2
3-7		H	H	CH	CH	Me	H	H	H	C ₂₄ H ₂₃ N ₄ O ₃	421,20	421,1
3-8		H	H	CH	CH	Me	H	H	H	C ₂₂ H ₂₁ N ₃ O ₃	364,14	364,1
3-9		Cl	H	CH	CH	Me	H	H	H	C ₂₄ H ₂₇ ClN ₄ O ?	455,16	456,1
3-10		Cl	H	CH	CH	Me	H	H	H	C ₂₄ H ₂₇ ClN ₃ O ?	398,10	398,1
3-11		F	H	CH	CH	Me	H	H	H	C ₂₅ H ₂₇ FN ₄ O ₃	439,19	439,2
3-12		F	H	CH	CH	Me	H	H	H	C ₂₄ H ₂₀ FN ₃ O ₃	382,13	382,1
3-13		H	H	CH	CH	Et	H	H	H	C ₂₆ H ₂₉ N ₄ O ₃	435,22	435,1
3-14		H	H	CH	CH	Et	H	H	H	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	378,16	378,1
3-15		Cl	H	CH	CH	Et	H	H	H	C ₂₅ H ₂₉ ClN ₄ O ?	469,18	469,1
3-16		Cl	H	CH	CH	Et	H	H	H	C ₂₅ H ₂₈ ClN ₃ O ?	412,12	412,1
3-17		F	H	CH	CH	Et	H	H	H	C ₂₆ H ₂₉ FN ₄ O ₃	453,21	453,3
3-18		F	H	CH	CH	Et	H	H	H	C ₂₅ H ₂₂ FN ₃ O ₃	396,15	396,1
3-19		H	H	CH	CH	CN	H	H	H	C ₂₄ H ₂₄ N ₅ O ₃	432,18	432,1

3-20		H	H	CH	CH	CN	H	H	H	$C_2H_{13}N_4O_3$	375, 12	375, 1
3-21		Cl	H	CH	CH	CN	H	H	H	$C_{24}H_{24}ClN_5O_3$	466, 14	466, 2
3-22		Cl	H	CH	CH	CN	H	H	H	$C_{21}H_{17}ClN_4O_3$	409, 08	409, 1
3-23		F	H	CH	CH	CN	H	H	H	$C_{21}H_{17}FN_4O_3$	393, 11	393, 1
3-24		H	H	CH	CH	H	H	Me	Me	$C_{25}H_{32}N_4O_3$	435, 22	435, 0
3-25		H	H	CH	CH	H	H	Me	Me	$C_{22}H_{22}N_3O_3$	378, 16	378, 1
3-26		Cl	H	CH	CH	H	H	Me	Me	$C_{22}H_{22}ClN_3O_3$	412, 12	412, 2
3-27		F	H	CH	CH	H	H	Me	Me	$C_{25}H_{29}FN_4O_3$	453, 21	453, 2
3-28		F	H	CH	CH	H	H	Me	Me	$C_{22}H_{22}FN_3O_3$	393, 15	396, 3
3-29		H	H	CH	N	H	H	H	H	$C_{13}H_{18}N_4O_3$	351, 12	351, 0
3-30		H	H	CH	CH	H	Me	H	H	$C_{24}H_{34}N_4O_3$	421, 20	421, 2
3-31		H	H	N	N	H	Me	H	H	$C_{15}H_{18}N_5O_3$	366, 13	366, 1
3-32		H	H	CH	CH	OMe	H	H	H	$C_{24}H_{28}N_4O_4$	437, 20	437, 3
3-33		H	H	CH	CH	OMe	H	H	H	$C_{22}H_{21}N_3O_4$	380, 14	380, 2
3-34		Cl	H	CH	N	H	H	H	H	$C_{22}H_{24}ClN_4O_3$	442, 14	442, 1
3-35		Cl	H	CH	N	H	H	H	H	$C_{19}H_{17}ClN_4O_3$	385, 08	385, 0
3-36		F	H	CH	N	H	H	H	H	$C_{22}H_{24}FN_3O_3$	426, 17	426, 0
3-37		F	H	CH	N	H	H	H	H	$C_{19}H_{17}FN_4O_3$	369, 11	369, 1
3-38		Cl	H	N	N	H	H	H	H	$C_{18}H_{16}ClN_5O_3$	386, 08	386, 2
3-39		F	H	N	N	H	H	H	H	$C_{18}H_{16}FN_5O_3$	370, 11	370, 1
3-40		F	H	CH	CH	F	H	H	H	$C_{23}H_{24}F_2N_4O_3$	443, 17	443, 1
3-41		F	H	CH	CH	F	H	H	H	$C_{20}H_{17}F_2N_3O_3$	386, 11	386, 2
3-42		Cl	H	CH	CH	F	H	H	H	$C_{23}H_{24}ClFN_4O_3$	459, 14	459, 1
3-43		Cl	H	CH	CH	F	H	H	H	$C_{20}H_{17}ClFN_3O_3$	402, 08	402, 0
3-44		H	H	CH	N	F	H	H	H	$C_{22}H_{24}FN_3O_3$	426, 17	426, 2

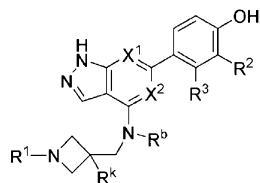
3-45		H	H	N	N	F	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ FN ₂ O ₃	370, 11	370, 1
3-46		H	H	N	CH	F	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ FN ₂ O ₃	369, 11	369, 3
3-47		Cl	H	CH	N	F	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ ClFN ₂ O ₃	403, 07	403, 0
3-48		F	H	CH	N	F	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ F ₂ N ₂ O ₃	444, 16	444, 0
3-49		F	H	CH	N	F	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ F ₂ N ₂ O ₃	387, 10	387, 0
3-50		Cl	H	N	N	F	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ ClFN ₂ O ₃	461, 13	461, 1
3-51		F	H	N	N	F	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ F ₂ N ₂ O ₃	445, 16	445, 2
3-52		Cl	H	N	CH	F	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ ClFN ₂ O ₃	460, 13	460, 1
3-53		F	H	N	CH	F	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ F ₂ N ₂ O ₃	444, 16	444, 2
3-54		F	H	N	CH	F	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ F ₂ N ₂ O ₃	387, 10	387, 1
3-55		H	H	CH	N	Me	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₃	422, 20	422, 2
3-56		H	H	CH	N	Me	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₃	365, 14	365, 2
3-57		H	H	N	N	Me	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₃	366, 13	366, 1
3-58		H	H	N	CH	Me	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₃	365, 14	365, 2
3-59		F	H	CH	N	Me	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ FN ₂ O ₃	383, 13	383, 3
3-60		Cl	H	N	N	H	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ ClN ₂ O ₃	443, 14	443, 1
3-61		H	H	CH	N	Et	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₃	436, 21	436, 1
3-62		H	H	CH	N	Et	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₃	379, 15	379, 0
3-63		H	H	N	N	Et	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₃	380, 15	380, 2
3-64		H	H	CH	N	Et	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₃	436, 21	436, 1
3-65		H	H	CH	N	Et	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₃	379, 15	379, 0
3-66		Cl	H	CH	N	Et	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ ClN ₂ O ₃	413, 11	413, 1
3-67		F	H	N	N	Et	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ FN ₂ O ₃	398, 14	398, 1
3-68		Cl	H	N	CH	Et	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ ClN ₂ O ₃	470, 17	470, 2
3-69		Cl	H	N	CH	Et	H	H	H	C ₁₀ H ₁₀ ClN ₂ O ₃	413, 11	413, 2

3-70		F	H	N	CH	Et	H	H	H	C ₂₁ H ₂₁ FN ₄ O ₁	397, 14	397, 2
3-71		Cl	H	CH	N	CN	H	H	H	C ₂₃ H ₂₃ ClN ₆ O ₂	467, 14	467, 0
3-72		Cl	H	CH	CH	OMe	H	H	H	C ₂₄ H ₂₇ ClN ₄ O ₄	471, 16	471, 2
3-73		Cl	H	CH	CH	OMe	H	H	H	C ₂₂ H ₂₆ ClN ₄ O ₄	414, 10	414, 2
3-74		F	H	CH	CH	OMe	H	H	H	C ₂₄ H ₂₇ FN ₄ O ₄	455, 19	455, 1
3-75		F	H	CH	CH	OMe	H	H	H	C ₂₁ H ₂₀ FN ₃ O ₄	398, 13	398, 2
3-76		H	H	N	N	OMe	H	H	H	C ₃₁ H ₃₁ N ₅ O ₄	382, 13	382, 1
3-77		H	H	N	N	H	H	H	Me	C ₃₁ H ₃₃ N ₅ O ₃	366, 13	366, 1
3-78		H	H	N	N	H	H	H	Me (S)	C ₃₁ H ₃₃ N ₅ O ₃	366, 13	366, 1
3-79		H	H	N	CH	H	H	H	H	C ₂₃ H ₂₃ N ₅ O ₃	408, 18	408, 1
3-80		Cl	H	N	CH	H	H	Me	Me	C ₂₃ H ₂₁ ClN ₄ O ₄	413, 11	413, 2
3-81		F	H	N	CH	H	H	Me	Me	C ₂₃ H ₂₁ FN ₄ O ₃	397, 14	397, 1
3-82		F	F	CH	CH	H	H	H	H	C ₂₃ H ₂₁ F ₂ N ₄ O ₃	443, 17	443, 7
3-83		OMe	H	CH	CH	H	H	H	H	C ₂₂ H ₂₁ N ₅ O ₄	380, 14	380, 0
3-84		H	H	CH	CH	H	H	H	H	C ₂₁ H ₁₉ N ₅ O ₃	348, 11	348, 1
3-85		H	H	CH	CH	H	H	H	H	C ₂₅ H ₂₅ N ₄ O ₃	433, 20	433, 1
3-86		Cl	H	N	CH	H	H	H	H	C ₁₉ H ₁₉ ClN ₄ O ₃	385, 08	385, 1
3-87		F	H	N	CH	H	H	H	H	C ₂₉ H ₁₇ FN ₄ O ₃	369, 11	369, 1
3-88		H	H	N	N	F	H	H	H	C ₂₁ H ₁₉ FN ₄ O ₃	427, 17	427, 2
3-89		H	H	N	CH	F	H	H	H	C ₂₂ H ₂₄ FN ₄ O ₃	426, 17	426, 2
3-90		H	H	CH	N	F	H	H	H	C ₂₉ H ₁₇ FN ₄ O ₃	369, 11	369, 1
3-91		Cl	H	CH	N	F	H	H	H	C ₂₂ H ₂₂ ClFN ₃ O ₃	460, 13	460, 0
3-92		Cl	H	N	N	F	H	H	H	C ₁₈ H ₁₅ ClFN ₃ O ₃	404, 07	404, 1
3-93		F	H	N	N	F	H	H	H	C ₁₆ H ₁₅ F ₂ N ₅ O ₃	388, 10	388, 1
3-94		Cl	H	N	CH	F	H	H	H	C ₁₉ H ₁₆ ClFN ₄ O ₃	403, 07	403, 1

3-95		Cl	H	CH	N	Me	H	H	H	$C_{23}H_{26}ClN_2O_3$	456, 16	456, 2
3-96		F	H	CH	N	Me	H	H	H	$C_{23}H_{26}FN_2O_3$	440, 19	440, 2
3-97		Cl	H	CH	N	Me	H	H	H	$C_{20}H_{24}ClN_2O_3$	399, 10	399, 2
3-98		F	H	N	CH	Me	H	H	H	$C_{20}H_{19}FN_2O_3$	383, 13	383, 2
3-99		Cl	H	CH	N	Et	H	H	H	$C_{24}H_{28}ClN_2O_3$	470, 17	470, 1
3-100		F	H	CH	N	Et	H	H	H	$C_{24}H_{28}FN_2O_3$	454, 20	454, 2
3-101		F	H	CH	N	Et	H	H	H	$C_{21}H_{21}FN_2O_3$	397, 14	397, 2
3-102		H	H	CH	N	CN	H	H	H	$C_{23}H_{24}N_3O_3$	433, 18	433, 2
3-103		H	H	CH	N	CN	H	H	H	$C_{20}H_{17}N_3O_3$	376, 12	376, 2
3-104		H	H	N	N	CN	H	H	H	$C_{18}H_{16}N_3O_3$	377, 11	377, 0
3-105		H	H	CH	N	CN	H	H	H	$C_{20}H_{17}N_2O_3$	376, 12	376, 2
3-106		F	H	CH	N	CN	H	H	H	$C_{22}H_{23}FN_2O_3$	451, 17	451, 1
3-107		Cl	H	CH	N	CN	H	H	H	$C_{20}H_{16}ClN_2O_3$	410, 08	410, 1
3-108		F	H	CH	N	CN	H	H	H	$C_{20}H_{16}FN_2O_3$	394, 11	394, 2
3-109		Cl	H	N	N	CN	H	H	H	$C_{19}H_{15}ClN_3O_3$	411, 07	411, 1
3-110		F	H	N	N	CN	H	H	H	$C_{19}H_{15}FN_3O_3$	395, 10	395, 1
3-111		F	H	N	CH	CN	H	H	H	$C_{20}H_{16}FN_2O_3$	394, 11	394, 1
3-112		H	H	N	N	H	H	H	H	$C_{22}H_{24}N_3O_3$	409, 18	409, 1
3-113		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{27}H_{30}N_2O_3$	435, 22	435, 1
3-114		H	H	CH	CH	H	Me	H	H	$C_{27}H_{32}N_2O_3$	364, 14	364, 1
3-115		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{25}H_{28}N_2O_3$	433, 20	433, 1
3-116		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{26}H_{32}N_2O_3$	449, 23	449, 2
3-117		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{29}H_{30}N_2O_3$	447, 22	

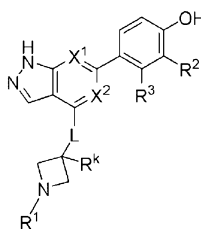
3-118		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{26}H_{32}N_4O_3$	449, 23	449, 2
3-119		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{27}H_{30}N_4O_4$	451, 21	451, 1
3-120		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{27}H_{34}N_4O_5$	495, 24	
3-121		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{26}H_{32}N_4O_5$	481, 22	
3-122		Cl	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{25}H_{25}ClN_4O_3$	441, 15	441, 1
3-123		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{24}H_{28}N_4O_3$	419, 16	419, 1
3-124		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{25}H_{28}N_4O_3$	433, 20	
3-125		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{26}H_{30}N_4O_3S$	479, 19	479, 2
3-126		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{25}H_{30}N_4O_3S$	467, 18	
3-127		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{27}H_{32}N_4O_4$	477, 23	
3-128		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{27}H_{32}N_4O_4$	477, 23	477, 2
3-129		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{25}H_{28}N_4O_4$	449, 20	449, 1
3-130		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{25}H_{28}N_4O_3S$	465, 17	465, 1
3-131		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{27}H_{32}N_4O_3S$	493, 20	493, 2
3-132		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{25}H_{28}N_4O_4$	449, 20	
3-133		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{26}H_{30}N_4O_4$	463, 21	463, 2
3-134		H	H	CH	CH	H	H	H	H	$C_{27}H_{32}N_4O_4$	477, 23	

Таблица 4



Пр. №	R ¹	R ²	R ³	R ^b	R ^c	X ¹	X ²	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
4-1		H	H	Me	H	CH	CH	C ₁₂ H ₂₂ N ₂ O ₂	363, 15	363, 1
4-2		H	H	H	Me	CH	CH	C ₁₂ H ₂₂ N ₂ O ₂	363, 15	363
4-3		H	H	H	H	CH	CH	C ₁₂ H ₂₂ N ₂ O ₂	349, 14	349, 1
4-4		Cl	H	Me	H	CH	CH	C ₂₄ H ₃₅ ClN ₂ O ₂	454, 18	454, 1
4-5		Cl	H	Me	H	CH	CH	C ₁₂ H ₂₁ ClN ₂ O ₂	397, 12	397, 0
4-6		F	H	Me	H	CH	CH	C ₂₄ H ₂₉ FN ₂ O ₂	438, 21	438, 1
4-7		F	H	Me	H	CH	CH	C ₁₂ H ₂₁ FN ₂ O ₂	401, 15	381, 0
4-8		H	H	Me	H	CH	N	C ₂₃ H ₃₃ N ₂ O ₂	421, 21	421, 2

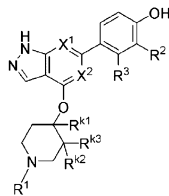
Таблица 5



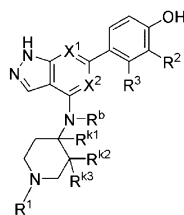
Пр. №	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	R ^k	L	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
5-1		H	H	CH	CH	H	O	C ₂₂ H ₂₄ N ₄ O ₃	393,17	393,4
5-2		H	H	CH	CH	H	O	C ₁₉ H ₂₇ N ₃ O ₃	336,11	336,2
5-3		Cl	H	CH	CH	H	O	C ₂₂ H ₂₂ ClN ₄ O ₃	427,13	427,1
5-4		Cl	H	CH	CH	H	O	C ₁₄ H ₁₇ ClN ₃ O ₃	370,07	370,1
5-5		F	H	CH	CH	H	O	C ₂₂ H ₂₃ FN ₄ O ₃	411,16	411,3
5-6		F	H	CH	CH	H	O	C ₁₉ H ₁₉ FN ₃ O ₃	354,10	354,2
5-7		H	H	CH	CH	H	NH	C ₁₃ H ₁₃ N ₄ O ₂	335,12	335,2
5-8		H	H	CH	CH	H	NMe	C ₂₇ H ₂₇ N ₄ O ₃	406,20	406,1
5-9		H	H	CH	CH	H	NMe	C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₂	349,14	349,1
5-10		H	H	CH	CH	CHF ₂	O	C ₂₃ H ₂₄ F ₂ N ₄ O ₃	443,17	443,1
5-11		H	H	CH	CH	Me	O	C ₂₇ H ₂₉ N ₄ O ₃	407,18	407,1
5-12		H	H	CH	CH	Me	O	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃	350,13	350,1
5-13		H	H	CH	CH		O	C ₂₅ H ₂₈ N ₄ O ₃	433,20	433,2
5-14		H	H	CH	CH	CHF ₂	O	C ₂₂ H ₁₈ F ₂ N ₄ O ₂	386,11	386,0
5-15		H	H	N	CH	H	O	C ₁₈ H ₁₆ N ₄ O ₃	337,11	337,1
5-16		Cl	H	CH	CH	CHF ₂	O	C ₂₃ H ₂₂ ClF ₂ N ₄ O ₃	477,13	477,1
5-17		F	H	CH	CH	CHF ₂	O	C ₂₃ H ₂₃ F ₃ N ₄ O ₃	461,16	461,2
5-18		Cl	H	CH	CH	Me	O	C ₂₃ H ₂₂ ClN ₄ O ₃	441,15	441,2
5-19		F	H	CH	CH	Me	O	C ₂₃ H ₂₃ FN ₄ O ₃	425,18	425,3

5-20		H	H	N	N	H	O	C ₁₇ H ₁₅ N ₃ O ₃	338,10	338,2
5-21		Cl	H	CH	CH	CHF ₂	O	C ₂₃ H ₁₆ ClF ₂ N ₃ O ₃	420,07	420,0
5-22		F	H	CH	CH	CHF ₂	O	C ₂₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₂	404,10	404,1
5-23		Cl	H	CH	CH	Me	O	C ₂₀ H ₁₄ ClN ₄ O ₂	384,09	384,2
5-24		F	H	CH	CH	Me	O	C ₂₀ H ₁₆ FN ₃ O ₃	368,12	368,1
5-25		H	H	CH	CH	CF ₃	O	C ₂₃ H ₂₁ F ₃ N ₄ O ₃	461,16	461,2
5-26		H	H	CH	CH	CF ₃	O	C ₂₃ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₃	404,10	404,1

Таблица 6

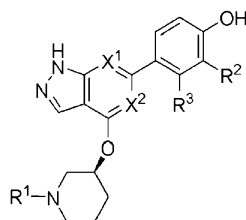


Пр. №	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	R ^{k1}	R ^{k2}	R ^{k3}	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
6-1		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₃	421,20	421,2
6-2		H	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	364,14	364,2
6-3		H	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	378,16	378,1
6-4		Cl	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₅ H ₂₉ ClN ₄ O ₃	469,18	469,2
6-5		Cl	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₂ H ₂₂ ClN ₃ O ₃	412,12	412,2
6-6		F	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₃ H ₂₉ FN ₄ O ₃	453,21	453,2
6-7		F	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₂ H ₂₂ FN ₃ O ₃	396,15	396,1
6-8		H	H	CH	CH	H	F	F	C ₂₁ H ₁₉ F ₂ N ₃ O ₃	400,12	400,0
6-9		H	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₅ H ₃₀ N ₄ O ₃	435,22	435,2
6-10		H	H	CH	CH	Me	H	H	C ₂₂ H ₂₃ N ₃ O ₃	378,16	378,1
6-11		H	H	N	CH	H	H	H	C ₂₀ H ₂₀ N ₄ O ₃	365,14	365,0
6-12		H	H	N	N	H	H	H	C ₁₉ H ₁₉ N ₅ O ₃	366,13	366,1
6-13		Cl	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₁ H ₂₀ ClN ₃ O ₃	398,10	398,1
6-14		F	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₁ H ₂₀ FN ₃ O ₃	382,13	382,1
6-15		H	H	CH	N	H	H	H	C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₃	365,14	365,1
6-16		F	H	CH	N	H	H	H	C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₃	383,13	383,0
6-17		Cl	H	N	CH	H	H	H	C ₂₁ H ₁₉ ClN ₃ O ₃	399,10	399,3
6-18		F	H	N	CH	H	H	H	C ₂₀ H ₁₉ FN ₄ O ₃	383,13	383,0
6-19		Cl	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₄ H ₂₇ ClN ₄ O ₃	455,16	455,2
6-20		F	H	CH	CH	H	H	H	C ₂₄ H ₂₇ FN ₄ O ₃	439,19	439,1
6-21		Cl	H	CH	N	H	H	H	C ₂₁ H ₁₉ ClN ₄ O ₃	399,10	399,1
6-22		Cl	H	N	N	H	H	H	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₃ O ₃	400,09	400,1
6-23		F	H	N	N	H	H	H	C ₁₉ H ₁₈ FN ₄ O ₃	384,12	384,0



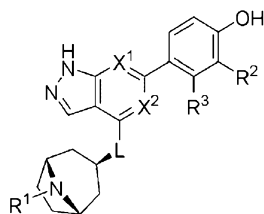
- 76 -

Таблица 8



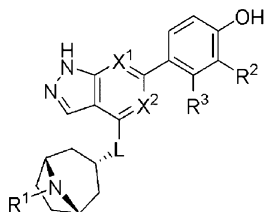
Пр. №	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
8-1		H	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	364, 14	364
8-2		Cl	H	CH	CH	C ₂₄ H ₂ ClN ₄ O ₃	455, 16	455, 1
8-3		Cl	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₀ ClN ₃ O ₃	398, 10	398, 0
8-4		F	H	CH	CH	C ₂₀ H ₂₇ FN ₄ O ₃	439, 19	439, 2
8-5		F	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₀ FN ₃ O ₃	382, 13	382, 0
8-6		H	H	N	CH	C ₂₀ H ₂₀ FN ₄ O ₃	365, 14	365, 1
8-7		H	H	CH	N	C ₂₀ H ₂ N ₄ O ₃	365, 14	365, 1
8-8		F	H	N	CH	C ₂ H ₁₉ FN ₄ O ₃	383, 13	383, 0
8-9		F	H	CH	N	C ₂₅ H ₂₆ FN ₃ O ₃	440, 19	440, 2
8-10		Cl	H	CH	N	C ₂₀ H ₁₉ ClN ₄ O ₃	399, 10	399, 1
8-11		F	H	CH	N	C ₂ H ₁₉ FN ₄ O ₃	383, 13	383, 1
8-12		Cl	H	N	N	C ₁₉ H ₈ ClN ₅ O ₃	400, 09	400, 2
8-13		F	H	N	N	C ₁ H ₁₈ FN ₅ O ₃	384, 12	384, 0
8-14		Cl	H	N	CH	C ₂₀ H ₁₉ ClN ₄ O ₃	399, 10	399, 0

Таблица 9



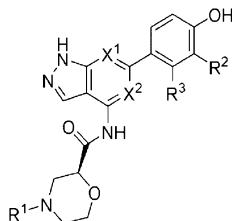
Пр. №	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	L	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
9-1		H	H	CH	CH	O	C ₂₃ H ₂₃ N ₃ O ₃	390, 16	390, 1
9-2		Cl	H	CH	CH	O	C ₂₇ H ₂₂ ClN ₃ O ₃	424, 12	424, 0
9-3		Cl	H	CH	CH	O	C ₂₆ H ₂₉ ClN ₄ O ₃	481, 18	481, 1
9-4		F	H	CH	CH	O	C ₂₃ H ₂₂ FN ₃ O ₃	408, 15	408, 1
9-5		F	H	CH	CH	O	C ₂₆ H ₂₉ FN ₄ O ₃	465, 21	465, 1
9-6		H	H	CH	N	O	C ₂₂ H ₂₂ N ₄ O ₃	391, 15	391, 1
9-7		Cl	H	CH	N	O	C ₂₂ H ₂₁ ClN ₄ O ₃	425, 11	425, 0
9-8		Cl	H	CH	N	O	C ₂₅ H ₂₈ ClN ₅ O ₃	482, 17	482, 1
9-9		H	H	CH	CH	NH	C ₂ H ₁₄ N ₄ O ₃	389, 17	389, 2
9-10		F	H	CH	N	O	C ₂₂ H ₂₁ FN ₄ O ₃	409, 14	409, 0
9-11		H	H	N	N	O	C ₂₇ H ₂₃ N ₅ O ₃	392, 15	392, 2

Таблица 10

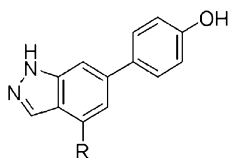


Пр. №	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	L	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
10-1		H	H	CH	CH	O	C ₂₆ H ₃₀ N ₄ O ₃	447, 22	447, 2
10-2		H	H	CH	CH	O	C ₂₃ H ₂₃ N ₃ O ₃	390, 16	390, 2
10-3		Cl	H	CH	CH	O	C ₂₆ H ₂₉ ClN ₄ O ₃	481, 18	481, 3
10-4		Cl	H	CH	CH	O	C ₂₃ H ₂₃ ClN ₃ O ₃	424, 12	424, 2
10-5		F	H	CH	CH	O	C ₂₆ H ₂₉ FN ₄ O ₃	465, 21	465, 2
10-6		F	H	CH	CH	O	C ₂₃ H ₂₃ FN ₃ O ₃	408, 15	408, 1
10-7		H	H	CH	CH	NH	C ₂₃ H ₂₄ N ₄ O ₂	389, 17	389, 3

Таблица 11

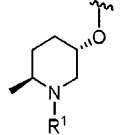

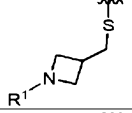

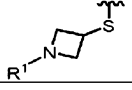

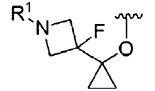
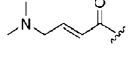
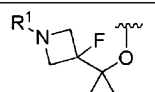

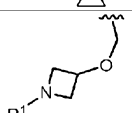
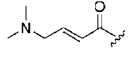
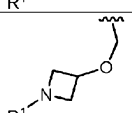

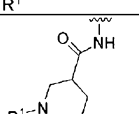

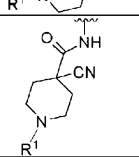

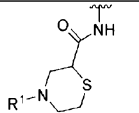







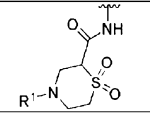

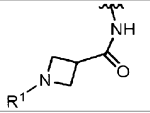

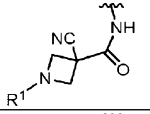

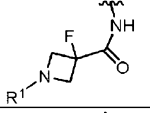

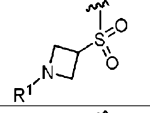

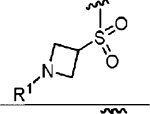

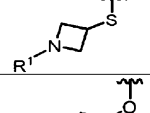

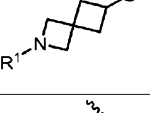

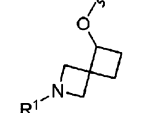

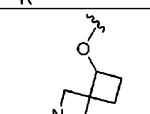

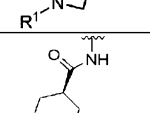

Пр. №	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
11-1		H	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₄	393, 12	393, 1
11-2		H	H	CH	CH	C ₂₄ H ₂₇ N ₅ O ₄	450, 18	450, 2



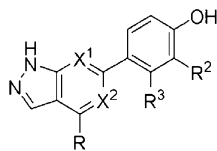
Пр. №	R	R ¹	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
12-1			C ₂₅ H ₂₆ N ₄ O ₂ S	423, 16	423, 1
12-2			C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₂ S	366, 10	366, 2
12-3			C ₂₅ H ₂₆ N ₄ O ₂ S	423, 16	423, 2
12-4			C ₂₁ H ₂₂ N ₃ O ₂ S	380, 12	380, 3
12-5			C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₂ S	437, 18	437, 2
12-6			C ₂₁ H ₂₂ N ₃ O ₂ S	380, 12	380, 2
12-7			C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₂ S	437, 18	437, 2
12-8			C ₂₁ H ₂₂ N ₃ O ₄ S	412, 11	412, 1
12-9			C ₂₁ H ₂₂ N ₃ O ₄ S	412, 11	412, 1
12-10 (рацемич.)			C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₂	348, 15	348, 2
12-11 (рацемич.)			C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₂	405, 21	405, 2
12-12 (рацемич.)			C ₂₂ H ₂₅ N ₃ O ₂	362, 16	362, 3
12-13 (рацемич.)			C ₂₅ H ₃₀ N ₄ O ₂	419, 22	419, 2
12-14			C ₂₅ H ₃₀ N ₄ O ₂	419, 22	419, 2
12-15			C ₂₂ H ₂₄ N ₄ O ₂	377, 17	377

12-16			$C_{22}H_{24}N_4O_2$	377, 17	377, 2
12-17			$C_{22}H_{24}N_4O_2$	377, 17	377, 3
12-18			$C_{23}H_{26}N_4O_2$	349, 14	349, 2
12-19			$C_{24}H_{28}N_4O_3$	421, 20	421, 3
12-20			$C_{21}H_{21}N_3O_3$	364, 14	364, 2
12-21			$C_{22}H_{21}N_3O$	376, 14	376, 4
12-22			$C_{23}H_{26}N_4O_3$	407, 18	407, 1
12-23			$C_{23}H_{16}N_3O_3$	350, 13	350, 1
12-24			$C_{23}H_{26}N_4O_3$	407, 18	407, 2
12-25			$C_{23}H_{16}N_3O_3$	350, 13	350, 2
12-26			$C_{23}H_{26}N_4O_3$	435, 22	435, 1
12-27			$C_{22}H_{24}N_3O_2$	378, 16	378, 1
12-28			$C_{23}H_{26}N_4O$	435, 22	435, 2
12-29			$C_{22}H_{22}N_3O_3$	378, 16	378, 2
12-30			$C_{22}H_{22}N_3O_3$	378, 16	378, 2
12-31			$C_{22}H_{22}N_3O_3$	378, 16	378, 2
12-32			$C_{22}H_{22}N_3O_3$	378, 16	378, 1

12-33			$C_{22}H_{23}N_3O_3$	378, 16	378, 2
12-34			$C_{20}H_{23}N_3O_2S$	366, 10	366, 1
12-35			$C_{19}H_{21}N_3O_2S$	352, 09	352, 3
12-36			$C_{25}H_{27}FN_4O_3$	451, 19	451, 2
12-37			$C_{22}H_{20}FN_3O_3$	394, 13	394, 2
12-38			$C_{23}H_{26}N_4O_3$	407, 18	407, 3
12-39			$C_{23}H_{19}N_3O_3$	350, 13	350, 1
12-40			$C_{22}H_{22}N_4O_3$	391, 15	391, 1
12-41			$C_{23}H_{21}N_5O_3$	416, 14	416, 1
12-42			$C_{21}H_{20}N_4O_3S$	409, 10	409, 1
12-43			$C_{21}H_{20}N_4O_3S$	409, 10	409, 3
12-44			$C_{21}H_{20}N_4O_3S$	409, 10	409, 3

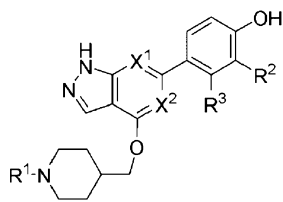
12-45			$C_{21}H_{20}N_4O_5S$	441, 09	441, 1
12-46			$C_{22}H_{18}N_4O$	363, 11	363, 1
12-47			$C_{21}H_{11}N_5O_3$	388, 11	388, 0
12-48			$C_{20}H_{17}FN_4O_3$	381, 10	381, 0
12-49			$C_{22}H_{24}N_4O_4S$	441, 14	441, 2
12-50			$C_{19}H_{17}N_4O_4S$	384, 08	384, 0
12-51			$C_{22}H_{24}N_4O_2S$	409, 15	409, 3
12-52			$C_{22}H_{28}N_4O_3$	433, 20	433, 2
12-53			$C_{22}H_{28}N_4O_3$	433, 20	433, 5
12-54			$C_{22}H_{21}N_3O$	376, 14	376, 5
12-55			$C_{22}H_{16}N_4O_3$	391, 15	391, 1

12-56			$C_{22}H_{22}N_4O_3$	391, 15	391, 0
12-57			$C_{23}H_{24}N_4O_3$	405, 16	405, 2
12-58			$C_{22}H_{21}FN_4O_3$	409, 14	409, 3
12-59			$C_{22}H_{22}N_4O_3$	391, 15	391, 1
12-60			$C_{22}H_{22}N_4O_4$	407, 14	407, 1
12-61			$C_{22}H_{22}N_4O_4$	407, 14	407, 1
12-62			$C_{23}H_{24}N_4O_4$	421, 16	421, 1
12-63			$C_{21}H_{20}N_4O_4$	393, 12	393, 1
12-64			$C_{21}H_{20}N_4O_3S$	409, 10	409, 1
12-65			$C_{24}H_{27}N_5O_3S$	466, 16	466, 1
12-66			$C_{21}H_{20}N_4O_3S$	409, 10	409, 1
12-67			$C_{23}H_{24}FN_5O_3$	438, 16	438, 1
12-68			$C_{21}H_{20}N_4O_3$	377, 13	377, 1
12-69			$C_{20}H_{18}N_4O_3$	363, 11	363, 0



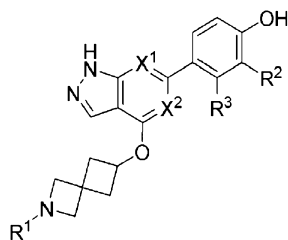
Пр. №	R	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
13-1			Cl	H	N	CH	C ₁₆ H ₁₇ ClN ₂ O ₂ S	401,06	401,1
13-2			Cl	H	CH	CH	C ₂₁ H ₁₉ ClN ₄ O ₄	427,09	427,0
13-3			F	H	CH	CH	C ₂₁ H ₁₉ FN ₄ O ₄	411,12	411,0
13-4			H	H	CH	CH	C ₂₃ H ₂₆ N ₄ O ₂ S	423,16	423,1
13-5			F	H	CH	CH	C ₂₃ H ₂₅ FN ₄ O ₂ S	441,15	441,2
13-6			Cl	H	CH	CH	C ₂₇ H ₂₆ ClN ₄ O ₂ S	457,12	457,1
13-7			F	H	CH	CH	C ₂₆ H ₁₈ FN ₃ O ₂ S	384,09	384,1
13-8			Cl	H	CH	CH	C ₂₆ H ₁₈ ClN ₃ O ₂ S	400,07	400,1
13-9			H	H	N	CH	C ₁₉ H ₁₉ N ₆ O ₂ S	367,10	367,0
13-10			H	H	CH	CH	C ₂₀ H ₂₁ N ₅ O ₃	380,15	380,2
13-11			H	H	N	CH	C ₂₁ H ₂₂ N ₅ O ₃	379,15	379,0
13-12			H	H	N	CH	C ₂₁ H ₂₂ N ₅ O ₃	379,15	379,0

13-13			H	H	N	CH	$C_{21}H_{22}N_4O_3$	379, 15	379, 0
13-14			H	Cl	CH	CH	$C_{21}H_{20}ClN_2O_3$	398, 10	398, 3
13-15			H	H	CH	CH	$C_{21}H_{21}N_3O_3$	364, 14	364, 5
13-16			H	H	N	N	$C_{20}H_{13}N_5O_2$	378, 13	378, 5
13-17			Cl	H	N	N	$C_{20}H_{16}ClN_4O_3$	412, 09	412, 4
13-18			F	H	N	N	$C_{20}H_{16}FN_5O_3$	396, 12	396, 2
13-19			H	H	N	CH	$C_{20}H_{19}N_5O_4$	394, 12	394, 1
13-20			Cl	H	CH	N	$C_{20}H_{16}ClN_5O_4$	428, 08	428, 0
13-21			F	H	CH	N	$C_{20}H_{16}FN_5O_4$	412, 11	412, 1
13-22			Cl	H	N	CH	$C_{20}H_{16}ClN_5O_4$	428, 08	428



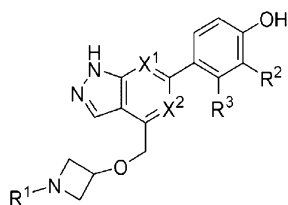
Пр. №	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
14-1		Cl	H	CH	CH	C ₂₂ H ₂₂ ClN ₃ O ₃	412, 12	412, 0
14-2		H	H	N	CH	C ₂₁ H ₂₂ N ₄ O ₃	379, 15	379, 1
14-3		Cl	H	CH	CH	C ₂₅ H ₂₉ ClN ₄ O ₃	469, 18	469, 1
14-4		F	H	CH	CH	C ₂₅ H ₂₉ FN ₄ O ₃	453, 21	453, 1
14-5		F	H	CH	CH	C ₂₂ H ₂₂ FN ₃ O ₃	396, 15	396, 1
14-6		H	H	CH	N	C ₂₁ H ₂₂ N ₄ O ₃	379, 15	379, 1
14-7		Cl	H	CH	N	C ₂₁ H ₂₁ ClN ₄ O ₃	413, 11	413, 0
14-8		F	H	CH	N	C ₂₁ H ₂₁ FN ₄ O ₃	397, 14	397, 1
14-9		F	H	N	CH	C ₂₁ H ₂₁ FN ₄ O ₃	397, 14	397, 1
14-10		Cl	H	CH	N	C ₂₄ H ₂₈ ClN ₅ O ₃	470, 17	470, 1
14-11		F	H	CH	N	C ₂₄ H ₂₈ FN ₅ O ₃	454, 20	454, 1
14-12		H	H	N	N	C ₂₀ H ₂₁ N ₅ O ₃	380, 15	380, 2

Таблица 15



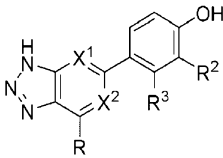
Пр. №	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
15-1		Cl	H	CH	CH	C ₂₂ H ₂₀ ClN ₃ O ₃	410, 10	409, 9
15-2		F	H	CH	CH	C ₂₂ H ₂₀ FN ₃ O ₃	394, 13	393, 4
15-3		H	H	N	N	C ₂₀ H ₁₉ N ₃ O ₃	378, 13	378, 1
15-4		Cl	H	CH	CH	C ₂₅ H ₂₇ ClN ₄ O ₃	467, 16	467, 1
15-5		F	H	CH	CH	C ₂₅ H ₂₇ FN ₄ O ₃	451, 19	451, 1
15-6		H	H	CH	N	C ₂₄ H ₂₇ N ₃ O ₃	434, 20	434, 1
15-7		H	H	CH	N	C ₂₁ H ₂₀ N ₄ O ₃	377, 14	377, 2
15-8		H	H	N	CH	C ₂₁ H ₁₉ N ₄ O ₃	377, 14	377, 0
15-9		Cl	H	N	N	C ₂₀ H ₁₈ ClN ₃ O ₃	412, 09	412, 2
15-10		F	H	N	N	C ₂₀ H ₁₈ FN ₃ O ₃	396, 12	396, 1

Таблица 16



пр. №	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
16-1		Cl	H	CH	CH	C ₂₃ H ₂₅ ClN ₄ O ₃	441, 15	441, 2
16-2		Cl	H	CH	CH	C ₂₆ H ₁₈ ClN ₃ O ₃	384, 09	384, 1
16-3		F	H	CH	CH	C ₂₀ H ₁₈ FN ₃ O ₃	368, 12	368, 2
16-4		H	H	N	CH	C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₃	351, 12	351, 0
16-5		H	H	CH	N	C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₃	351, 12	351, 0
16-6		H	H	CH	N	C ₂₂ H ₂₆ N ₅ O ₃	408, 18	408, 1
16-7		F	H	CH	CH	C ₂₃ H ₂₅ FN ₄ O ₃	425, 18	425, 2

Таблица 17



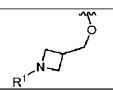

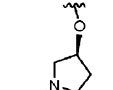

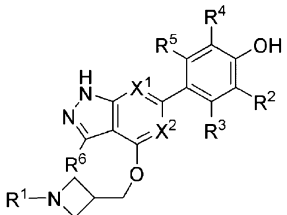
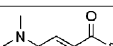
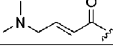
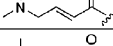
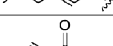



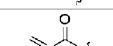






Пр. №	R	R ¹	R ²	R ³	X ¹	X ²	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
17-1			H	H	CH	CH	C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₃	351, 12	351, 0
17-2			H	H	CH	CH	C ₁₉ H ₁₈ N ₄ O ₃	351, 12	351, 2

Таблица 18



Пр. №	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	X ¹	X ²	Формула	Рассч. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
18-1		Cl	H	H	H	Me	CH	CH	C ₂₄ H ₂₂ ClN ₄ O ₃	455, 16	455, 0
18-2		H	F	H	F	H	CH	CH	C ₂₃ H ₁₄ F ₂ N ₄ O ₃	443, 17	443, 2
18-3		F	H	H	F	H	CH	CH	C ₂₃ H ₁₄ F ₂ N ₄ O ₃	443, 17	443, 0
18-4		H	H	H	H	Me	CH	CH	C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₃	421, 2	421, 0
18-5		H	H	H	H	Me	CH	CH	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	364, 14	364
18-6		Cl	H	H	H	Me	CH	CH	C ₂₁ H ₂₀ ClN ₃ O ₃	398, 10	398, 0
18-7		F	H	H	H	Me	CH	CH	C ₂₁ H ₁₉ FN ₃ O ₃	382, 13	382, 0
18-8		Me	H	H	H	H	CH	CH	C ₂₄ H ₂₈ N ₄ O ₃	421, 2	421, 0
18-9		Me	H	H	H	H	CH	CH	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃	364, 14	364, 0
18-10		H	H	H	H	SMe	CH	CH	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₃ S	396, 11	396, 0
18-11		H	H	H	H	NMe ₂	CH	CH	C ₂₂ H ₂₄ N ₄ O ₃	393, 17	393, 0
18-12		H	H	H	H	CF ₃	CH	CH	C ₂₆ H ₂₅ F ₃ N ₄ O ₃	475, 17	475, 0
18-13		H	H	H	H	CF ₃	CH	CH	C ₂₁ H ₁₈ F ₃ N ₃ O ₃	418, 11	418, 0
18-14		H	H	H	H	Cl	CH	CH	C ₂₆ H ₁₀ ClN ₄ O ₃	384, 09	384, 2

Биологические исследования

Соединения в соответствии с данным изобретением охарактеризованы в одном или более из следующих биологических исследований:

Исследование 1: Биохимические исследования JAK и Tyk2 киназ

Панель из четырех биохимических исследований LanthaScreen JAK (JAK1, 2, 3 и Tyk2) проводят в обычном киназном реакционном буфере (50 мМ HEPES, pH 7,5, 0,01% Brij-35, 10 мМ MgCl₂ и 1 мМ ЭГТК). Реконструированные GST-меченные JAK ферменты и GFP-меченный STAT1 пептидный субстрат получают от Life Technologies.

Серийно или отдельно разведенные соединения предварительно инкубируют с каждым из четырех JAK ферментов и субстрате в белых 384-луночных микропланшетах (Corning) при температуре окружающей среды в течение 1 ч. Затем добавляют АТФ для начала киназных реакций в общем объеме 10 мкл с 1% ДМСО. Конечные концентрации фермента для JAK1, 2, 3 и Tyk2 составляют 4,2, 0,1, 1 и 0,25 нМ соответственно; соответствующие применяемые концентрации K_m АТФ составляют 25, 3, 1,6 и 10 мкМ; а концентрация субстрата составляет 200 нМ для всех четырех исследований. Киназные реакции

проходят в течение 1 ч при температуре окружающей среды, затем добавляют 10 мкл препарата ЭДТК (конечная концентрация 10 мМ) и Tb-анти-pSTAT1 (pTyr701) антитело (Life Technologies, конечная концентрация 2 нМ) в TR-FRET буфере для разведения (Life Technologies). Планшеты инкубируют при температуре окружающей среды в течение 1 ч, затем считывают на ридере EnVision (Perkin Elmer). Записывают сигналы соотношения эмиссии (520 нм/495 нм) и используют для расчета значений процента ингибирования на основе контроля ДМСО и фонового контроля.

Для анализа доза-ответ, данные процента ингибирования наносят на график с концентрациями соединения, и значения IC_{50} определяют из 4-параметрической глубокой модели подгонки с применением программы Prism (GraphPad Software). Результаты выражают как pIC_{50} (отрицательный логарифм IC_{50}) и затем превращают в pKi (отрицательный логарифм константы диссоциации, Ki) с применением уравнения Cheng-Prusoff.

Исследование 2: Клеточное JAK3 исследование эффективности: ингибирование IL-2 стимулированных pSTAT5 в Tall-1 Т-клетках

Эффективность тестируемых соединений в ингибировании стимулированного интерлейкином-2 (IL-2) фосфорилирования STAT5 измеряют в колонии человеческих Т-клеток Tall-1 (DSMZ) с применением AlphaLisa. Так как IL-2 подает сигналы через JAK3, это исследование является мерой определения JAK3 клеточной эффективности.

Фосфорилированный STAT5 измеряют через набор AlphaLISA SureFire Ultra pSTAT5 (Tyr694/699) (PerkinElmer).

Человеческие Т-клетки из колонии клеток Tall-1 культивируют при 37°C в 5% CO₂ увлажненном инкубаторе в RPMI (Life Technologies) с добавлением 15% термоинактивированной фетальной телячьей сыворотки (FTC, Life Technologies), 2 мМ Glutamax (Life Technologies), 25 мМ HEPES (Life Technologies) и 1X Pen/Strep (Life Technologies). Соединения серийно разводят в ДМСО и акустически вносят в пустые лунки. Вносят среду для исследований (не содержащую феноловый красный DMEM (Life Technologies) с добавлением 10% FTC (ATCC)) (4 мкл/лунку), и планшеты встряхивают при 900 об./мин в течение 10 мин. Клетки высевают в количестве 45000 клеток/лунку в среду для исследований (4 мкл/лунку) и инкубируют при 37°C, 5% CO₂ в течение 1 ч, затем добавляют IL-2 (R&D Systems; конечная концентрация 300 нг/мл) в предварительно нагретой среде для исследований (4 мкл) в течение 30 мин. После стимулирования цитокинами клетки лизируют с 6 мкл 3× AlphaLisa Lysis Buffer (PerkinElmer), содержащим 1× PhosStop и таблетки Complete (Roche). Лизат встряхивают при 900 об./мин в течение 10 мин при комнатной температуре (КТ). Фосфорилированный STAT5 измеряют через набор pSTAT5 AlphaLisa (PerkinElmer). Свежеприготовленную смесь акцепторных гранул вносят в лизат (5 мкл) под зеленым сигналом фильтра <100 люкс. Планшеты встряхивают при 900 об./мин в течение 2 мин, быстро центрифугируют и инкубируют в течение 2 ч при КТ в темноте. Донорные гранулы вносят (5 мкл) под зеленым сигналом фильтра <100 люкс. Планшеты встряхивают при 900 об./мин в течение 2 мин, быстро центрифугируют и инкубируют в течение ночи при КТ в темноте. Люминесценцию измеряют при возбуждении при 689 нм и испускании при 570 нм с применением планшетного ридера EnVision (PerkinElmer) под зеленым сигналом фильтра <100 люкс.

Для определения эффективности ингибирования тестируемых соединений в ответ на IL-2, среднюю интенсивность испускания гранул, связанных с pSTAT5, измеряют в колонии человеческих Т-клеток. Значения IC_{50} определяют из анализа кривых ингибирования интенсивности сигнала к концентрации соединения. Данные выражают как значения pIC_{50} (отрицательный десятичный логарифм IC_{50}) (среднее ± стандартное отклонение).

Исследование 3: Ингибирование стимулированного IL-2 pSTAT5 в CD4+ Т клетках, выделенных из мышиных спленоцитов

Эффективность тестируемых соединений в ингибировании стимулированного интерлейкином-2 (IL-2) фосфорилирования STAT5 измеряют в CD4+ Т клетках, выделенных из мышиных спленоцитов, с применением AlphaLisa. Так как IL-2 подает сигналы через JAK3, это исследование является мерой JAK3 клеточной эффективности у мышей.

Фосфорилированный STAT5 измеряют через набор AlphaLISA SureFire Ultra pSTAT5 (Tyr694/699) (PerkinElmer).

CD4+ Т клетки выделяют из мышиных спленоцитов через отрицательную селекцию на магнитной колонке (Miltnyi Biotec) и ресуспендируют в среде для исследований (не содержащей фенольный красный DMEM (Life Technologies) с добавлением 10% FTC (ATCC)). Клетки высевают в количестве 50000 клеток/лунку в среду для исследований (2 мкл/лунку). Соединения серийно разводят в ДМСО и разводят до 2× конечной концентрации в среде для исследований. Соединение добавляют (4 мкл/лунку) и клетки инкубируют при 37°C, 5% CO₂ в течение 1 ч, затем добавляют IL-2 (R&D Systems; конечная концентрация 7 нг/мл) в предварительно нагретой среде для исследований (2 мкл) в течение 30 мин. После цитокинового стимулирования, клетки лизируют с 2 мкл лизисного буфера 5× AlphaLisa Lysis Buffer (PerkinElmer). Лизат встряхивают при 900 об./мин в течение 10 мин при комнатной температуре (КТ). Фосфорилированный STAT5 измеряют через набор pSTAT5 AlphaLisa (PerkinElmer). Свежеприготовленную смесь

акцепторных гранул вносят в лизат (5 мкл) под зеленым сигналом фильтра <100 люкс. Планшеты встряхивают при 900 об./мин в течение 2 мин, быстро центрифугируют и инкубируют в течение 2 ч при кт в темноте. Донорные гранулы вносят (5 мкл) под зеленым сигналом фильтра <100 люкс. Планшеты встряхивают при 900 об./мин в течение 2 мин, быстро центрифугируют и инкубируют в течение ночи при кт в темноте. Люминесценцию измеряют при возбуждении при 689 нм и испускании при 570 нм с применением планшетного ридера EnVision (PerkinElmer) под зеленым сигналом фильтра <100 люкс.

Для определения эффективности ингибирования тестируемых соединений в ответ на IL-2 среднюю интенсивность испускания гранул, связанных с pSTAT5, измеряют в первичных CD4+ Т клетках, выделенных из мышинных спленоцитов. Значения IC_{50} определяют из анализа кривых ингибирования интенсивности сигнала к концентрации соединения. Данные выражают как значения pIC_{50} (отрицательный десятичный логарифм IC_{50}) (среднее \pm стандартное отклонение).

Все соединения 1-10, 19, 20, 21 и 22 имеют значения pIC_{50} выше 6,0 в этом исследовании.

Исследование 4: Ингибирование стимулированных IL-2 pSTAT5 в человеческих PBMC CD4+ Т клетках

Эффективность тестируемых соединений в ингибировании стимулированного интерлейкином-2 (IL-2) фосфорилирования STAT5 измеряют в человеческих мононуклеарных клетках периферической крови (PBMC) CD4+ Т клетках с применением проточной цитометрии. Так как IL-2 подает сигналы через JAK3, это исследование является мерой JAK3 клеточной эффективности в человеческих первичных клетках.

Фосфорилированный STAT5 измеряют проточной цитометрией через измерение реакции pSTAT5 в CD4+ Т клетках (Becton Dickinson, AlexaFluor 647 мышинное античеловеческое STAT5 (pY694) и PE мышинное античеловеческое CD4).

Человеческие PBMC выделяют у доноров через градиент Ficoll и замораживают при -80°C . Замороженные PBMC оттаивают и культивируют в течение одного часа в 37°C , 5% CO_2 увлажненном инкубаторе в RPMI (Life Technologies) с добавлением 10% термоинактивированной фетальной телячьей сыворотки (FCS, Life Technologies), 2 mM Glutamax (Life Technologies), 25 mM HEPES (Life Technologies) и 1X Pen/Strep (Life Technologies). Клетки высевает в 2 мл планшет с глубокими лунками в количестве 4е6 клеток/мл (50 мкл/лунку). Соединения серийно разводят в ДМСО и разводят до 2х конечной концентрации в среде для исследований. Соединение добавляют (100 мкл/лунку), и клетки инкубируют при 37°C , 5% CO_2 в течение 1 ч, затем добавляют IL-2 (R&D Systems; конечная концентрация для исследования 100 нг/мл) в предварительно нагретой среде для исследований (50 мкл/лунку) в течение 30 мин. После цитокинового стимулирования клетки фиксируют в течение 10 мин при 37°C (Becton Dickinson). Клетки промывают и ресуспендируют в физиологическом растворе с фосфатным буфером Дульбекко (ФРФБД, Life Technologies). Клетки пермеабилзируют в течение 30 мин с ледяным Perm Buffer III (Becton Dickinson) и затем промывают и ресуспендируют с ФРФБД, содержащим 2% фетальную телячью сыворотку (окрашивающий буфер, Life Technologies). Клетки окрашивают в течение 1 ч с 50х разведением CD4 поверхностного маркера (PE мышинного античеловеческого CD4) и 5х разведением pSTAT5 антителом (Becton Dickinson, AlexaFluor 647 мышинное античеловеческое STAT5 (pY694)) в окрашивающем буфере. Клетки промывают и ресуспендируют в окрашивающем буфере, затем хранят при 4°C .

Для определения ингибирующей эффективности тестируемых соединений в ответ на IL-2, среднюю интенсивность флуоресценции pSTAT5 в CD4+ регулированных клетках измеряют в человеческих PBMC с BD LSRII с анализом в FCS Express 6. Значения IC_{50} определяют из анализа кривых ингибирования интенсивности сигнала к концентрации соединения. Данные выражают как значения pIC_{50} (отрицательный десятичный логарифм IC_{50}) (среднее \pm стандартное отклонение).

Соединения 1-6, 8 и 9 тестируют в этом исследовании, и они демонстрируют значения, очень схожие с тем, которые получены в исследовании 2 (исследовании стимулированных IL-2 pSTAT5 в Tall-1 Т клетках).

Исследование 5: Исследование цитотоксичности JAK

CellTiter-Glo люминесцентное исследование жизнеспособности/цитотоксичности клеток проводят в BEAS-2B человеческих клетках эпителия легкого (ATCC) в нормальных условиях роста.

Клетки выращивают при 37°C в 5% CO_2 увлажненном инкубаторе в 50% DMEM/50% F-12 среде (Life Technologies) с добавлением 10% FCS (Hyclone), 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина (Life Technologies) и 2 mM GlutaMAX (Life Technologies). В 1 день исследования клетки высевает с плотностью 500 клеток/лунку в белые 384-луночные планшеты для культивирования тканей (Corning) с 25 мкл среды и оставляют слипаться в течение ночи в инкубаторе. На 2 день исследования добавляют 5 мкл среды, содержащей дозозависимые тестируемые соединения, и инкубируют при 37°C в течение 48 ч. Затем добавляют 30 мкл раствора для обнаружения CellTiter-Glo (Promega), смешивают на орбитальном встряхивателе в течение 5 мин и инкубируют в течение еще 10 мин, затем считывают на ридере EnVision. Сигналы люминесценции записывают и рассчитывают процент ДМСО контрольных значений.

Для дозозависимого анализа процент контрольных данных ДМСО наносят на график к концентрациям соединения для определения дозозависимых кривых линий, соединяющей каждую точку данных.

Концентрацию, при которой каждая кривая пересекает 15% порог ингибирования, определяют как CC_{15} . Результаты выражают как отрицательный логарифм значения CC_{15} , pCC_{15} .

Ожидают, что тестируемые соединения, демонстрирующие наименьшее значение pCC_{15} в этом исследовании, наименее вероятно вызывают цитотоксичность. Соединения в соответствии с данным изобретением, протестированные в этом исследовании, обычно демонстрируют значения pCC_{15} от 5 до около 6.

Исследование 6: Исследование проницаемости Caco-2

Исследование проницаемости Caco-2 проводят для моделирования способности тестируемых соединений проходить через кишечник и попадать в кровоток после перорального введения. Определяют скорость, при которой тестируемые соединения в растворе проходят через клеточный монослой, созданный для имитации непроницаемых перегородок монослоев тонкого кишечника человека.

CacoReady 24-луночные трансвел планшеты получают от ADMEdcell (Alameda, CA). Соединения оценивают при концентрации 5 мкМ от 10 мМ ДМСО исходных растворов дважды ($n=2$). Пассивную проницаемость протестированных соединений оценивают с применением монослоев клеток Caco-2 вместе с Верапамилом (25 мкМ) для ингибирования транспортных белков P-гр в направлении от сверху-вниз (A-B). Эксперимент проводят в 37°C, 5% CO₂ инкубаторе. Культуральная среда Caco-2 состоит из стандартной фильтрованной DMEM, FCS 10%, L-Глутамин 1% и PenStrep 1%. Основной аналитический планшет готовят добавлением 750 мкл транспортного буфера в лунки A-B. Планшет CacoReady™ готовят удалением среды Caco-2 из верхних лунок и заменой свежей транспортной средой (200 мкл повторяют для всего 3 промывок). Контрольную среду (200 мкл) затем заменяют разведенным соединением для лунок A-B. Для начала инкубирования основной планшет удаляют из инкубатора и верхнюю часть добавляют поверх него. Образцы (40 мкл) собирают из верхнего и нижнего отделов в нулевой момент времени (t_0). Образцы собирают снова через 120 мин (t_{120}) из верхнего и нижнего отделов. Все образцы разводят и готовят для биоанализа ЖХ-МС/МС. Коэффициент проникновения (K_p , средний от A до B+Верапамил Паппарент) в см/сек рассчитывают как $dQ \text{ (поток)}/(dt \times \text{площадь} \times \text{концентрация})$.

В этом исследовании значение K_p меньше около 5×10^{-6} см/с считается благоприятным для минимизации системного воздействия и нацеливания на толстую кишку. Значение K_p меньше около 10×10^{-6} см/с также может быть достаточным для минимизации системного воздействия и нацеливания на толстую кишку. По сравнению, PF-06651600, JAK3 ингибитор системного действия (2-пропен-1-он, 1-[(2S,5R)-2-метил-5-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-иламино)-1-пиперидинил]) демонстрирует значение K_p 25.

Результаты исследования In Vitro

Все соединения из примеров 1-18 и табл. 1-12 тестируют в одном или более из исследований, описанных выше.

В табл. 13 ниже, для ферментных исследований JAK1, JAK2, JAK3 и TYK2, A представляет значение $pK_i \geq 10$ ($K_i \leq 0,1$ нМ), B представляет значение pK_i между 9 и 10 (K_i между 1 нМ и 0,1 нМ), C представляет значение pK_i между 8 и 9 (K_i между 10 нМ и 1 нМ), D представляет значение pK_i между 7 и 8 (K_i между 100 и 10 нМ) и E представляет значение pK_i 7 или ниже (K_i 100 нМ или выше). Для исследования эффективности Tall-1, A представляет значение $pIC_{50} \geq 7,5$ ($IC_{50} \leq 32$ нМ), B представляет значение pIC_{50} между 6,7 (включительно) и 7,5 (IC_{50} между 200 и 32 нМ) и C представляет значение pIC_{50} между 6 и 6,7 (IC_{50} между 1 мкМ и 200 нМ). для значений JAK3 (pK_i)-JAK1 (pK_i), A представляет значение 3 или выше, B представляет значение от 2,3 до 3 и C представляет значение от 1,8 до 2,3. Для исследования Caco, A представляет значение ниже 5×10^{-6} см/с, B представляет значение между 5×10^{-6} и 10×10^{-6} см/с, C представляет значение между 10×10^{-6} и 22×10^{-6} см/с.

Таблица 13

Номер пример а	ЖАК 1 (рKi)	ЖАК 2 (рKi)	ЖАК 3 (рKi)	Тук 2 (рKi)	Tall-1 (pIC ₅₀)	ЖАК3 (рKi)- ЖАК1 (рKi)	СасоК _р 10 ⁻⁶ см/сек
1	E	D	A	E	B	A	A
2	E	E	A	E	A	A	A
3	E	E	B	E	B	A	A
4	E	E	A	E	B	A	A
5	E	D	A	E	B	A	A
6	E	D	A	E	A	A	A
7	E	D	B	E	B	A	B
8	E	D	A	E	A	A	A
9	E		B		B	A	A
10	E	E	A	E	B	A	A
11	E	E	B	E	B	A	A
12	E	E	B	E	B	B	A
13	E	E	A	E	B	A	A
14	E	E	B	E	B	A	C
15	E		B		C	A	A
16	E		B		B	A	A
17	E		B		C	B	
18	E	D	B	E	A	A	C
19	E	E	A	E	B	A	A
20	E	E	A	E	A	A	A
21	E	E	A	E	B	A	B
22	E	E	A	E	B	A	A
23	E	D	A	E	B	A	A
24	E	E	B	E	A	A	A
1-1	E	D	B	E		A	
1-2	E	D	A	E	A	A	C
1-3	E		B		B	A	

038912

1-4	E		B		C	A	
1-5	E	D	A	E	A	A	B
1-6	E		B		C	A	
1-7	E		B		C	B	
1-8	E	E	B	E	B	A	B
1-9	E		A		C	A	
1-10	E		B		C	A	
1-11	E	E	A	E	A	A	C
1-12	E		B		B	A	
1-13	E		B		B	B	A
1-14	E		A		B	A	A
1-15	E	E	A	E	B	A	A
1-16	E	D	B	E	B	B	A
1-17	E	D	B	E	A	A	A
1-18	D	D	B	E	A	B	A
1-19	E	D	B	E	B	A	A
1-20	E	D	B	E	A	B	A
1-21	E	E	B	E	B	A	A
1-22	E	D	A	E	B	A	A
1-23	D		B		A	B	A
1-24	E	E	B	E	C	A	C
1-25	E		B		B	A	C
1-26	E	E	A	E	B	A	B
1-27	E	D	A	E	B	A	
1-28	E		B		C	B	
1-29	D	D	B	E	B	B	
1-30	D		A		B	B	
1-31	E	E	A	E	B	A	
1-32	E		B		C	A	
1-33	E	E	B	E	B	A	

038912

1-34	E	D	B	E	A	A	
1-35	D		A		A	A	
1-36	D	D	B	E	A	B	
1-37	E		B		C	A	
1-38	E	E	A	E	B	A	
1-39	E		B		B	A	B
1-40	E	E	B	E	B	B	
1-41	E	E	B	E	B	A	
1-42	E		B		C	A	B
1-43	E		A		A	A	
1-44	E	E	A	E	A	A	C
1-45	E	E	A	E	A	A	
1-46	E	E	B	E	C	A	
1-47	E	E	B	E	B	B	C
1-48	E		C		B	B	
2-1	D		A		C	B	
2-2	E	D	B	E	B	A	A
2-3	E	D	B	E	B	A	B
2-4	E		B		C	B	
2-5	E	D	B	E	B	A	B
2-6	E		A		C	A	C
2-7	E		B		B	A	A
2-8	E	D	B	E	B	A	A
2-9	E		B		B	B	A
2-10	E	D	B	E	A	A	A
2-11	E	E	B	E	B	A	B
2-12	E		A		C	A	C
2-13	E		B		C	B	
2-14	E		A		A	A	
2-15	E	E	A	E	B	A	C

2-16	E		B		C	A	
2-17	E	E	A	E	B	A	
3-1	E	E	B	E	A	A	A
3-2	E	E	B	E	B	A	A
3-3	E	E	B	E	A	A	B
3-4	E	D	B	E	A	A	B
3-5	D	D	B	E	A	B	A
3-6	D		A		A	A	
3-7	E	D	A	E	B	A	A
3-8	E	E	B	E	A	A	A
3-9	E		B		B	B	A
3-10	E		B		A	A	A
3-11	E	D	A	E	B	A	A
3-12	E		B		B	B	A
3-13	E	D	B	E	A	A	A
3-14	E		B		B	A	
3-15	E	E	A	E	B	A	A
3-16	E		A		B	A	A
3-17	E	D	A	E	A	A	A
3-18	E		A		B	A	A
3-19	E	E	B	E	B	A	A
3-20	E	D	B	E	B	B	A
3-21	E	E	B	E	A	A	A
3-22	E	E	A	E	B	A	A
3-23	E	D	A	E	B	A	A
3-24	E	E	B	E	B	A	A
3-25	E		C		B	B	A
3-26	E		B		B	A	A
3-27	E	E	A	E	B	A	A
3-28	E		A		A	A	B

3-29	E		B		A	A	A
3-30	E	D	A	E	B	A	A
3-31	E	E	A	E	B	A	B
3-32	E	E	B	E	A	A	A
3-33	E	E	B	E	B	B	A
3-34	E	E	A	E	B	A	A
3-35	E	E	B	E	A	A	A
3-36	E	E	A	E	B	A	A
3-37	E	D	A	E	A	A	A
3-38	E	E	A	E	B	A	A
3-39	E	E	A	E	B	A	A
3-40	B	D	A	E	A	A	A
3-41	B	C	B	E	A	B	A
3-42	B	D	B	E	A	B	A
3-43	E	D	B	E	A	A	A
3-44	D	D	B	E	A	B	A
3-45	E	E	B	E	A	A	A
3-46	E	E	A	E	A	A	A
3-47	E	D	B	E	A	B	A
3-48	D	D	A	E	A	A	A
3-49	E	D	B	E	A	B	A
3-50	E	E	B	E	B	A	A
3-51	E	E	B	E	C	A	A
3-52	E	E	B	E	B	A	A
3-53	E	E	B	E	B	A	A
3-54	E	E	B	E	A	A	A
3-55	E	E	A	E	B	A	A
3-56	E	D	A	E	A	A	A
3-57	E	E	A	E	B	A	A
3-58	E	E	A	E	B	A	A

3-59	E	D	B	E	A	B	A
3-60	E	E	A	E	B	A	
3-61	E	D	A	E	A	A	A
3-62	E	D	B	E	A	A	A
3-63	E	E	A	E	B	A	A
3-64	E	D	A	E	A	A	A
3-65	E	D	B	E	A	A	A
3-66	E	E	B	E	A	A	A
3-67	E	E	B	E	B	A	A
3-68	D	E	B	E	C	B	A
3-69	E	E	A	E	B	A	A
3-70	E	E	A	E	B	A	A
3-71	E	E	A	E	A	A	A
3-72	E	E	B	E	A	A	A
3-73	E	E	A	E	A	A	A
3-74	E	E	A	E	A	A	A
3-75	E	E	B	E	A	A	A
3-76	E		A		B	A	A
3-77	E	E	A	E	B	A	A
3-78	E	E	B	E	B	A	A
3-79	E	E	B	E	B	A	
3-80	E	E	A	E	B	A	A
3-81	E	E	A	E	A	A	A
3-82	D		A		A	B	A
3-83	E	E	A	E	A	A	B
3-84	E		A		B	A	
3-85	E	D	A	E	A	A	A
3-86	E	E	A	E	B	A	
3-87	E	E	B	E	B	A	
3-88	E	E	B	E	B	A	

3-89	E	E	A	E	B	A	
3-90	D		A		A	B	
3-91	D	D	A	E	A	A	
3-92	E	E	A	E	A	A	
3-93	E	E	A	E	A	A	
3-94	E	E	A	E	A	A	
3-95	E	E	A	E	A	A	
3-96	E	E	B	E	B	A	
3-97	E	E	B	E	A	B	
3-98	E	E	A	E	B	A	
3-99	E	E	A	E	A	A	
3-100	E	E	B	E	A	A	
3-101	E	D	A	E	A	A	
3-102	E	E	B	E	B	A	
3-103	E	D	A	E	A	A	
3-104	E	E	A	E	A	A	
3-105	E	D	A	E	A	A	
3-106	E	E	B	E	B	A	
3-107	E	E	A	E	A	A	
3-108	E	D	A	E	A	A	
3-109	E	E	B	E	B	A	
3-110	E	E	B	E	B	A	
3-111	E	E	B	E	C	A	
3-112	E	E	B	E	B	A	A
3-113	E	D	A	E	A	A	A
3-114	E	E	B	E	A	A	
3-115	E	B	B	E	B	A	A
3-116	E	D	B	E	B	B	
3-117	E	D	B	E	B	B	
3-118	E	E	B	E	A	A	

038912

3-119	E	D	A	E	B	B	A
3-120	E	D	A	E	B	A	A
3-121	E	D	B	E	B	A	A
3-122	E	D	A	E	A	A	
3-123	E		A		C	A	
3-124	E		B		B	A	
3-125	E	E	B	E	B	A	
3-126	E	D	A	E	C	A	
3-127	E	D	A	E	B	A	
3-128	E	B	A	E	B	A	
3-129	E		B		C	A	A
3-130	E		B		B	A	A
3-131	E	B	B	E	A	B	
3-132	E	E	B	E	C	A	
3-133	E	D	A	E	C	A	
3-134	E		B		B	A	
4-1	E	E	B	E	B	A	A
4-2	D	D	B	E	B	B	A
4-3	E		B		B	B	A
4-4	E	E	A	E	B	A	A
4-5	E	E	B	E	A	A	A
4-6	E	E	B	E	B	A	A
4-7	E	E	C	E	B	B	A
4-8	E		B		B	B	
5-1	E		B		C	A	
5-2	E	E	B	E	B	A	A
5-3	E	E	A	E	A	A	A
5-4	E	E	B	E	A	A	A
5-5	E	D	A	E	B	A	A
5-6	E	E	B	E	B	A	A

038912

5-7	E	D	A	E	B	A	A
5-8	E		B		C	A	
5-9	E		B		C	A	A
5-10	E		B		B	A	A
5-11	E		B		B	A	A
5-12	E	E	B	E	B	A	A
5-13	E		B		B	B	A
5-14	E	E	A	E	A	A	A
5-15	E		A		B	A	A
5-16	E	6	A	E	A	A	A
5-17	E	E	B	E	A	A	A
5-18	E	E	A	E	A	A	A
5-19	E	E	B	E	B	A	A
5-20	E		B		C	A	
5-21	E	E	B	E	A	A	
5-22	E	E	B	E	B	A	
5-23	E	E	B	E	B	A	
5-24	E		B		B	A	
5-25	E		B		A	A	
5-26	E		B		C	B	
6-1	D		A		B	B	
6-2	D	D	A	E	A	B	C
6-3	E	D	B	E	A	A	C
6-4	E	D	A	E	B	A	A
6-5	E		B		A	A	A
6-6	E	D	B	E	A	A	A
6-7	E		B		A	A	B
6-8	D		A		A	B	
6-9	E		B		B	A	A
6-10	E	D	B	E	A	A	C

038912

6-11	E		A		B	A	B
6-12	E		B		B	A	A
6-13	E	D	B	E	A	B	A
6-14	D		A		A	B	B
6-15	E	D	B	E	B	A	B
6-16	E	D	B	E	B	A	A
6-17	E	E	A	E	B	A	A
6-18	E	E	A	E	B	A	B
6-19	D		B		B	B	
6-20	D	C	B	E	B	B	A
6-21	D	D	B	E	B	B	
6-22	E		B		C	A	
6-23	E		B		C	A	
7-1	E		B		C	A	
7-2	E	D	B	E	A	A	A
7-3	E	E	B	E	B	A	C
7-4	D	C	B	E	A	B	C
7-5	D		B		B	C	
7-6	D		A		A	B	
7-7	E	D	B	E	B	A	A
7-8	E	E	A	E	B	A	A
7-9	E	D	A	E	A	A	A
7-10	E	D	B	E	B	A	C
7-11	E	D	A	E	A	A	
7-12	E	D	B	E	B	A	
7-13	E	D	A	E	A	A	
7-14	E	D	B	E	A	B	
8-1	E	D	B	E	A	B	C
8-2	E	D	B	E	B	A	A
8-3	E	D	B	E	A	A	A

038912

8-4	E	D	B	E	B	B	A
8-5	E	D	A	E	A	A	A
8-6	E		B		B	A	B
8-7	E	D	B	E	B	A	B
8-8	E		A		B	A	B
8-9	E		B		C	B	
8-10	D		A		A	A	
8-11	D	D	A	E	A	B	
8-12	E		B		C	A	
8-13	E		B		C	A	
8-14	E	E	A	E	B	A	C
9-1	E	D	A	E	A	A	C
9-2	E	E	B	E	A	A	B
9-3	E		B		C	C	
9-4	E	C	A	E	A	A	C
9-5	D		B		C	C	
9-6	E		B		A	A	C
9-7	E		A		B	A	
9-8	D		B		C	C	
9-9	D	C	A	D	A	B	
9-10	E		B		A	A	C
9-11	E		A		B	A	C
10-1	D		A		B	B	A
10-2	D	C	A	D	A	B	C
10-3	D		B		B	B	
10-4	E	D	B	E	B	A	A
10-5	D		B		B	C	
10-6	D		B		A	B	
10-7	E	D	B	E	B	A	B
11-1	E		B		A	A	A

038912

11-2	E		B		C	A	
12-1	E	D	B	E	B	A	
12-2	E		B		B	B	
12-3	D		B		C	B	
12-4	E	E	B	E	B	A	B
12-5	E		B		B	B	
12-6	D		B		B	B	
12-7	D		B		C	C	
12-8	E		B		C	A	A
12-9	E		B		C	A	A
12-10	E		C		B	B	
12-11	E		B		C	A	
12-12	E		B		B	A	
12-13	E		B		C	A	
12-14	E		B		C	C	
12-15	E		B		B	B	
12-16	D	C	B	E	A	B	
12-17	D	C	A	E	A	B	
12-18	D		A		B	B	
12-19	E		A		C	A	
12-20	E	D	B	E	A	A	B
12-21	E		B		A	B	A
12-22	E		B		C	A	A
12-23	E		B		B	A	B
12-24	E		B		C	A	A
12-25	E		B		C	B	A
12-26	E	D	B	E	C	B	
12-27	E	D	A	E	A	A	C
12-28	E	C	A	E	B	A	C
12-29	E	D	B	E	A	A	C

038912

12-30	E	C	A	E	A	A	C
12-31	E	C	A	E	B	A	C
12-32	E	D	A	E	A	A	C
12-33	E	E	B	E	B	A	A
12-34	E	E	B	E	A	B	A
12-35	E	E	B	E	B	B	A
12-36	D	E	A	E	A	A	A
12-37	D		B		B	B	A
12-38	E	E	A	E	B	A	A
12-39	E	E	B	E	A	A	B
12-40	E		B		C	B	A
12-41	E	E	B	E	A	A	A
12-42	E	D	B	E	B	B	A
12-43	E	D	A	E	A	A	A
12-44	E	D	A	E	B	A	A
12-45	E	E	A	E	C	A	A
12-46	E	D	A	E	B	A	A
12-47	E	E	B	E	B	A	A
12-48	E	E	B	E	A	A	A
12-49	E	E	B	E	C	A	
12-50	E	E	A	E	B	A	
12-51	D	D	A	E	B	A	
12-52	D		B		C	B	
12-53	E	C	B	E	A	B	
12-54	E	D	B	E	A	B	
12-55	E		A		B	A	
12-56	E		A		B	A	
12-57	E	D	B	E	B	A	
12-58	E	D	A	E	B	A	
12-59	E		A		B	A	

12-60	E	E	B	E	B	A	
12-61	E	E	A	E	B	A	
12-62	E		A		B	A	
12-63	E	E	B	E	B	A	
12-64	E	E	A	E	A	A	
12-65	E	E	B	E	C	A	
12-66	E	E	B	E	B	A	
12-67	E	E	B	E	B	A	
12-68	E	E	B	E	C	A	
12-69	E		A		B	A	
13-1	E	E	B	E	B	A	A
13-2	E	E	B	E	A	A	A
13-3	E		A		A	A	A
13-4	E	D	A	E	B	A	
13-5	E	D	A	E	B	A	
13-6	E	E	A	E	A	A	
13-7	E	D	A	E	B	A	
13-8	E	E	B	E	A	A	
13-9	E	E	B	E	B	A	
13-10	E	E	B	E	B	A	
13-11	E	E	A	E	A	A	C
13-12	E	E	B	E	B	A	C
13-13	E	E	B	E	C	A	C
13-14	E	D	A	E	A	A	
13-15	E	D	B	E	B	A	
13-16	E	E	B	E	B	A	C
13-17	E		A		B	A	
13-18	E		B		B	A	
13-19	E	E	A	E	B	A	
13-20	E	E	B	E	B	B	

13-21	E	D	B	E	A	B	
13-22	E	E	B	E	B	A	
14-1	E	E	B	E	A	A	A
14-2	E	E	A	E	B	A	A
14-3	E		B		B	B	
14-4	D		B		B	B	
14-5	D		B		A	B	
14-6	D		A		A	B	
14-7	D		A		A	B	
14-8	D		A		A	B	
14-9	E	E	B	E	B	A	
14-10	D		B		C	C	
14-11	D		B		C	B	
14-12	E	E	B	E	C	A	
15-1	E	E	B	E	A	A	A
15-2	D	D	A	E	A	B	A
15-3	E	E	A	E	A	A	A
15-4	E		A		B	A	
15-5	D	D	B	E	B	B	
15-6	D		A		C	B	
15-7	E	D	B	E	A	B	
15-8	D		B		B	B	
15-9	E	E	A	E	B	A	
15-10	E	E	A	E	A	A	
16-1	E	E	A	E	B	A	A
16-2	E	E	A	E	A	A	A
16-3	E	E	B	E	A	A	A
16-4	E		B		B	A	A
16-5	E	E	A	E	A	A	A
16-6	E	E	B	E	C	A	
16-7	E	E	A	E	B	A	
17-1	E	E	B	E	B	A	A
17-2	E		A		C	A	A
18-1	E	D	B	E	A	B	A
18-2	D		A		A	C	
18-3	D	D	A	E	A	B	
18-4	D		A		B	B	
18-5	D		B		A	B	
18-6	D		B		A	B	
18-7	D		B		A	C	
18-8	E	E	B	E	B	A	
18-9	E	E	A	E	A	A	
18-10	E	D	A	E	B	A	
18-11	E		B		C	A	
18-12	D	D	B	E	B	B	
18-13	E	D	A	E	A	A	
18-14	E		B		B	A	

Исследование 7: Фармакокинетика в толстой кишке и плазме мышей

6 Самцам мышей Balb/c вводят 10 мг/кг соединения в 1% ГПМЦ+0,1% Tween-80 ПО введением. Через 0,5, 2 и 6 ч после введения дозы животных анестезируют и крайние образцы крови собирают сердечной пункцией, затем собирают содержимое толстой кишки и ткань толстой кишки.

Образцы крови собирают в К₂ ЭДТК и хранят на жидком льду до переработки в плазму центрифугированием (12000 об./мин при 4°C). Образцы плазмы переносят в кассетные пробирки и помещают на сухой лед до хранения в замороженном состоянии. Содержимое толстой кишки каждого животного собирают в момент каждого крайнего забора крови. Ткани толстой кишки промывают физиологическим

раствором и вытирают насухо. Ткани толстой кишки и содержимого толстой кишки гомогенизируют с применением стерильной воды, содержащей 0,1% муравьиной кислоты 9:1 (вода:ткань, об./мас.). Гомогенизированные ткани и содержимое толстой кишки переносят в кассетные пробирки и помещают на сухой лед до хранения в замороженном состоянии. Все образцы анализируют с применением ЖХ/МС/МС против аналитических стандартов.

Составные фармакокинетические параметры соединений определяют некомпартментным анализом с применением Phoenix WinNonlin Version 6 (Certara, St. Louis, MO) и с применением средних значений для 2 животных/моментов времени. Для концентраций в плазме ниже предела количественного определения (ПКО), применяют наименьшую измеримую концентрацию или НПКО (ниже предела количественного определения).

Соотношение толстой кишки к плазме определяют как соотношение ППК толстой кишки к ППК плазмы. Соединения 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 21 и 22 демонстрируют соотношение толстой кишки к плазме более около 1250. Соединения 9, 5, 19 и 20 демонстрируют соотношение толстой кишки к плазме более около 200.

Наоборот, ссылочное соединение (PF-06651600, ингибитор JAK3 системного действия) 2-пропен-1-он, 1-[(2S,5R)-2-метил-5-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-иламино)-1-пиперидинил] демонстрирует соотношение толстой кишки к плазме 2,8.

Исследование 8: Мышиная модель вызванного оксазолоном колита

Вызванный оксазолоном колит является экспериментальной моделью, которая имеет гистологическое сходство с человеческим язвенным колитом (Heller et al. Immunology, 2002, 17, 629-638). Взрослых мышей BALB/C от Harlan применяют в исследовании. В 1 день животных слегка анестезируют изофлураном, шерсть между плечами осторожно удаляют и затем оксазолон (4%, 150 мкл, состав 4:1 ацетон:оливковое масло) или раствор носителя медленно наносят для сенсibilизации кожи. Через семь дней после сенсibilизации кожи мышей подвергают голоданию в течение около 6 ч, затем анестезируют инъекцией кетамина/ксилазина и 1 мл шприц, оборудованный 3,5-F катетером, заполненный раствором оксазолона, вставляют осторожно на около 4 см в толстую кишку мыши. После установки 50 мкл раствора оксазолона (состав 0,8% в 1:1 этаноле:воде) вводят очень медленно (нажим инъекционного плунжера занимает более 30 с) в толстую кишку. Лечение лекарственным средством (ПО, 1, 2 или 3 раза в сутки) или носителем начинают за день до интравектального (ИР) введения оксазолона. Через два дня после интравектального введения оксазолона заболевание оценивают в слепых к лечению экспериментах для каждой мыши согласно критериям оценки: оценка консистенции стула (0, нормальный; 2, мягкий; 4, диарея), оценка общего кровотечения (0, отсутствие; 2, кровянистые выделения; 4, присутствует); Объединенная конечная оценка стула=оценка консистенции стула+оценка крови в стуле.

Выбранные соединения тестируют в исследовании. Эффективность в модели подтверждается статистически значимым снижением объединенной конечной оценки стула по сравнению с оценкой животных, леченных носителем.

Соединения 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 3-11, 5-10, 19, 15-1, 3-55, 3-34, 15-3, 21, 3-80, 3-81, 3-72 и 3-57 демонстрируют статистически значимое снижение объединенной конечной оценки стула по сравнению с оценкой животных, леченных носителем, в оксазольной модели, в дозе 3 мг/кг (ПО, ДРС). Соединения 3-113 и 3-74 демонстрируют статистически значимое снижение объединенной конечной оценки стула по сравнению с оценкой животных, леченных носителем, в оксазольной модели, в дозе только 1 и 10 мг/кг (ПО, ДРС).

Исследование 9: Иммунодепрессивное действие в мышинных селезеночных естественных клетках-киллерах (ЕК)

Деплеция мышинных селезеночных клеток является экспериментальной моделью иммунодепрессии (Kudlacz et al., Am. J. of Transplantation, 2004, 4, 51-57). Выбранные соединения оценивают на модели мышинных селезеночных клеток после той же парадигмы лечения, которую применяют в модели вызванного оксазолоном колита (исследование 8).

Взрослых самцов мышей Balb/C от Harlan применяют для исследования. Тестируемое соединение и стандарт Jak3 ковалентного ингибитора 2-пропен-1-он, 1-[(2S,5R)-2-метил-5-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-иламино)-1-пиперидинил] (30 мг/кг, ДРС) в качестве положительного контроля вводят перорально в течение трех дней не получавшим лечения мышам. Селезенки собирают через вплоть до 4 часов после последней дозы и сразу же измельчают для окрашивания клеточного подтипа. До фиксации, меченные фторофором антитела для CD19 (FITC; В клетки), CD3e (PE; пан Т клетки) и CD49e (APC; ЕК клетки) инкубируют с образцами спленцитов от каждого животного для одновременного, множественного процентного анализа подтипа на проточном цитометре. Количество итоговых клеток селезенки для каждого животного измеряют на Scepter™ 2,0 Handheld Automated Cell Counter.

Абсолютное количество популяции лимфоцитарного подтипа (например, селезеночные В, Т и ЕК клетки) рассчитывают из процента каждого подтипа, умноженного на общее количество клеток селезенки для каждого животного. Однофакторный ANOVA, с ретроспективным анализом Fisher's LSD, применяют для сравнения количества селезеночных лимфоцитов для групп носителя и тестируемого соедине-

ния. Уровень α устанавливают как $p < 0,05$. Данные представляют как среднее \pm СОС для каждой группы.

Положительный контроль, JAK3 ингибитор системного действия (2-пропен-1-он, 1-[(2S,5R)-2-метил-5-(7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-4-иламино)-1-пиперидинил]) (30 мг/кг, ПО, ДРС), значительно снижает импульсы селезеночных ЕК клеток. На импульсы селезеночных ЕК клеток не оказывает влияние соединение 1 (ПО, ДРС) в дозах вплоть до 300 мг/кг (максимальная тестируемая доза). На импульсы селезеночных ЕК клеток не оказывают влияние соединения 4, 6 и 8 (ПО, ДРС) в дозах вплоть до 100 мг/кг (максимальная тестируемая доза). На импульсы селезеночных ЕК клеток не оказывает влияние соединения 3 (ПО, ДРС) в дозах вплоть до 85 мг/кг (максимальная тестируемая доза). На импульсы селезеночных ЕК клеток не оказывает влияние соединения 2 (ПО, ДРС) в дозах вплоть до 30 мг/кг (максимальная тестируемая доза). На импульсы селезеночных ЕК клеток не оказывает влияние соединения 5 (ПО, ДРС) в дозах вплоть до 80 мг/кг (максимальная тестируемая доза). Никакого эффекта от лечения не наблюдается для популяций В и Т клеток для любого тестируемого соединения.

Исследование 10: Исследование системного связывания с мишенью

Мышиная модель вызванной IL-2 индукции pSTAT5 в тимусе IL-2 является важным цитокином, лежащим в основе патофизиологии желудочно-кишечных заболеваний, таких как болезнь раздраженного кишечника (БРК; Guan и Zhang. *Mediators Inflamm*, 2017; 4810258). IL-2 связывается с рецепторами клеточной поверхности, активирующими члены семейства Янус-киназ (JAK), в частности JAK3, которые затем фосфорилируют STAT5 и впоследствии активируют дальнейшие пути транскрипции. В этой модели дозу IL-2 системно вводят мышам, чтобы вызвать фосфорилирование STAT5 (pSTAT5), которое затем измеряют в качестве конечной точки. Соединения, протестированные в этом исследовании, которые не демонстрируют значительное ингибирование вызванного IL-2 pSTAT5 по сравнению с носителем; IL-2 зараженными контрольными животными, демонстрируют отсутствие системной активности.

Взрослых самцов мышей Balb/C от Harlan применяют для исследования. Животным вводят тестируемое соединение через пероральный зонд (ПО, 10 или 30 мг/кг для исследований с одной дозой; 10-60 мг/кг для исследования дозозависимости) во второй половине дня за день до исследования, и затем утром в день исследования. Через 2 ч после второго ПО введения дозы мышам вводят внутривенно (в.б.) 100 мкл подходящей дозы IL-2 (для всего 1-5 мкг/мышь в зависимости от партии IL-2; R&D Systems). Через 90-120 мин после повреждения IL-2 собирают образцы тимуса. Уровни фосфорилированного STAT5 (pSTAT5) определяют в тимусе с применением AlphaLISA (AlphaLISA® SureFire® Ultra™ p-STAT5 (Tyr694/699) HV (высокий объем). Активность в модели подтверждается отсутствие значительного ингибирования уровня pSTAT5, присутствующего в тимусе леченных животных через 1,5-2 ч после сенсibilизации IL-2.

Соединения 6 и 7 тестируют в дозе 10 мг/кг, и они не демонстрируют значительное ингибирование вызванного IL-2 pSTAT5 по сравнению с обработкой носителем; сенсibilизированными IL-2 контрольными животными, тем самым демонстрируя отсутствие системной активности. Соединение 1 тестируют в дозе 10, 30, 60 и 100 мг/кг и оно не демонстрирует значительное ингибирование вызванного IL-2 pSTAT5 по сравнению с носителем. Соединение 2 тестируют в дозе 10, 30 и 60 мг/кг и оно не демонстрирует значительное ингибирование вызванного IL-2 pSTAT5 по сравнению с носителем. Соединение 3 тестируют в дозе 30 и 100 мг/кг и оно не демонстрирует значительное ингибирование вызванного IL-2 pSTAT5 по сравнению с носителем. Соединения 8, 5 и 4 тестируют в дозе 30 мг/кг и они не демонстрируют значительное ингибирование вызванного IL-2 pSTAT5 по сравнению с носителем.

Наоборот, ссылочное соединение (PF-06651600, JAK3 ингибитор системного действия), 2-пропен-1-он, 1-[(2S,5R)-2-метил-5-(7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-4-иламино)-1-пиперидинил], демонстрирует значительное ингибирование вызывания pSTAT5 в тимусе в дозе 10, 30 и 50 мг/кг, демонстрируя системное действие.

Кристаллические структуры

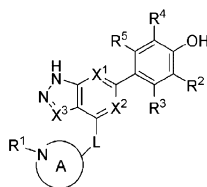
Сокристаллические структуры получают для соединений 1, 3 и 4, каждое связано с человеческой JAK3. Разрешения для комплексных структур составляют 2,73 Å, 2,80 Å и 2,64 Å соответственно, для соединения 1, соединения 3 и соединения 4. В каждом случае наблюдалось, что лиганды связываются в месте связывания АТФ. На основе расстояния менее 3,5 Å между донорными и акцепторными атомами четыре специфические водородные связи были идентифицированы для каждого из лигандов, а именно с атомами основной цепи Glu903, Leu905 и Phe968, а также атомами основной цепи Glu871. Дополнительная водородная связь была идентифицирована для соединения 1 с атомами боковой цепи Asp 912. Особенно примечательно, что каждый лиганд ковалентно связывался с Cys909 JAK3, расположенным сразу же после шарнирной области. S-H группа цистеинового остатка осуществляла дополнительную реакцию с системой Майкла. Наблюдаемые результаты взаимодействия ковалентного связывания в кристаллических структурах подтверждают необратимую природу связывания для каждого из этих лигандов с JAK3.

Хотя данное изобретение было описано со ссылкой на конкретные аспекты или варианты его осуществления, специалистам в данной области техники должно быть понятно, что могут быть сделаны различные изменения или могут быть получены эквиваленты, выходящие за рамки истинной сути и объема изобретения. Кроме того, в той степени, в которой это допускается применимыми патентными законами

и нормативными актами, все публикации, патенты и патентные заявки, процитированные здесь, включены сюда в качестве ссылки во всей их полноте в той же степени, как если бы каждый документ был отдельно включен здесь в качестве ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I)

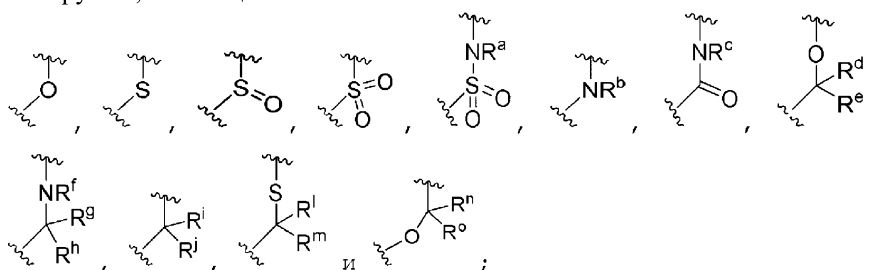


(I)

или его фармацевтически приемлемая соль, где X^1 и X^2 , каждый независимо, выбирают из N и CH; X^3 выбирают из группы, состоящей из N, CH, C-CH₃, C-CF₃, C-CHF₂, C-CH₂-O-CH₃, C-SMe, C-NMe₂, C-NH-CH₃, C-Cl, C-CN и C-OMe



выбирают из группы, состоящей из



R^a , R^b , R^c и R^f , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и C₁₋₃алкила; R^d , R^e , R^g , R^h , R^i , R^j , R^l , R^m , R^n и R^o , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и C₁₋₃алкила, где C₁₋₃алкильная группа может быть необязательно замещена 1-3 атомами галогена; необязательно R^d и R^e могут быть объединены с образованием циклопропильного кольца;

A выбирают из группы, состоящей из

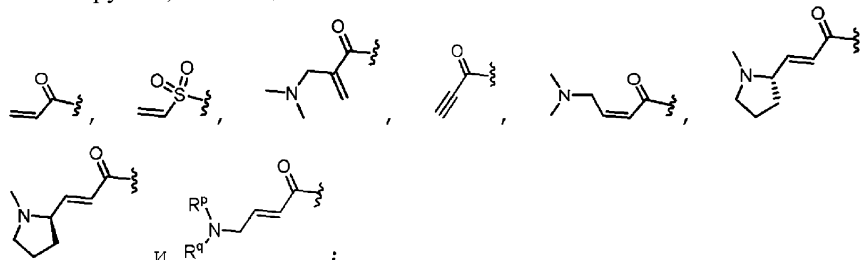
(a) 4-10-членной моноциклической гетероциклической группы, содержащей один атом азота и, необязательно, содержащей один дополнительный гетероатом, выбранный из N, S, S(O)₂ и O, и

(b) 6-10-членной полициклической гетероциклической группы, содержащей один атом азота и, необязательно, содержащей один дополнительный гетероатом, выбранный из N, S и O,

где L связан с атомом углерода в A и A необязательно замещен 1-3 R^k группами;

каждый R^k независимо выбирают из группы, состоящей из F, CN, C₁₋₃алкокси, циклопропила и C₁₋₃алкила, где C₁₋₃алкильная группа может быть необязательно замещена OH, OMe или 1-3 атомами галогена;

R¹ выбирают из группы, состоящей из



где R^p и R^q, каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H, C₃₋₅ циклоалкила и C₁₋₆алкила, где C₁₋₆алкильная группа может быть необязательно замещена 1-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из C₁₋₃алкокси и -S-C₁₋₃алкила,

или R^p и R^q образуют 4-6-членную моноциклическую гетероциклическую группу, содержащую один атом азота и необязательно содержащую один дополнительный гетероатом, выбранный из N, S и O, где 4-6-членная моноциклическая гетероциклическая группа необязательно замещена 1-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из C₁₋₆алкила, C₁₋₃алкокси, -S-C₁₋₃алкила и -C₁₋₃алкил-C₁₋₃алкокси;

R² выбирают из группы, состоящей из H, Cl, OMe, Me и F;

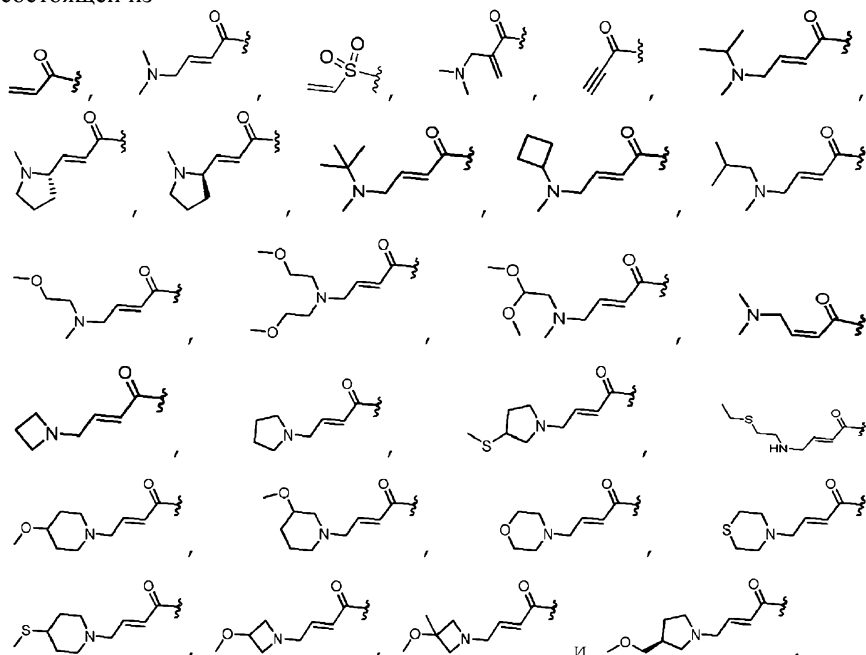
R³ выбирают из группы, состоящей из H и F;

R^4 выбирают из группы, состоящей из H и F; и

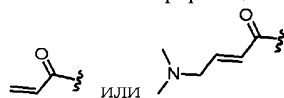
R^5 выбирают из группы, состоящей из H, Me и F.

2. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где X^3 является CH.

3. Соединение по любому из пп.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^1 выбирают из группы, состоящей из



4. Соединение по любому из пп.1 или 2 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^1 является

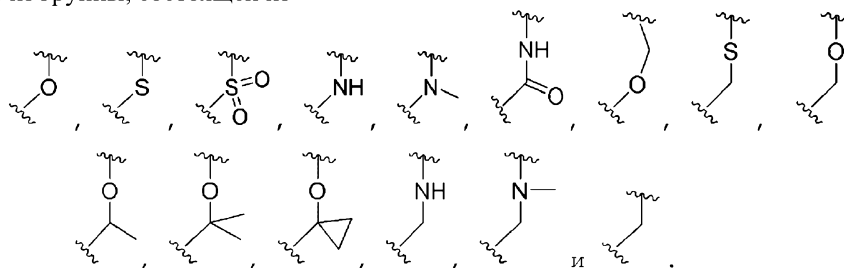


5. Соединение по любому из пп.1-4 или его фармацевтически приемлемая соль, где A выбирают из группы, состоящей из азетидина, пирролидина, пиперидина, морфолина, 2-азаспиро[3,3]гептана, тиоморфолина и нортропана.

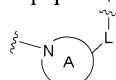
6. Соединение по любому из пп.1-5 или его фармацевтически приемлемая соль, где



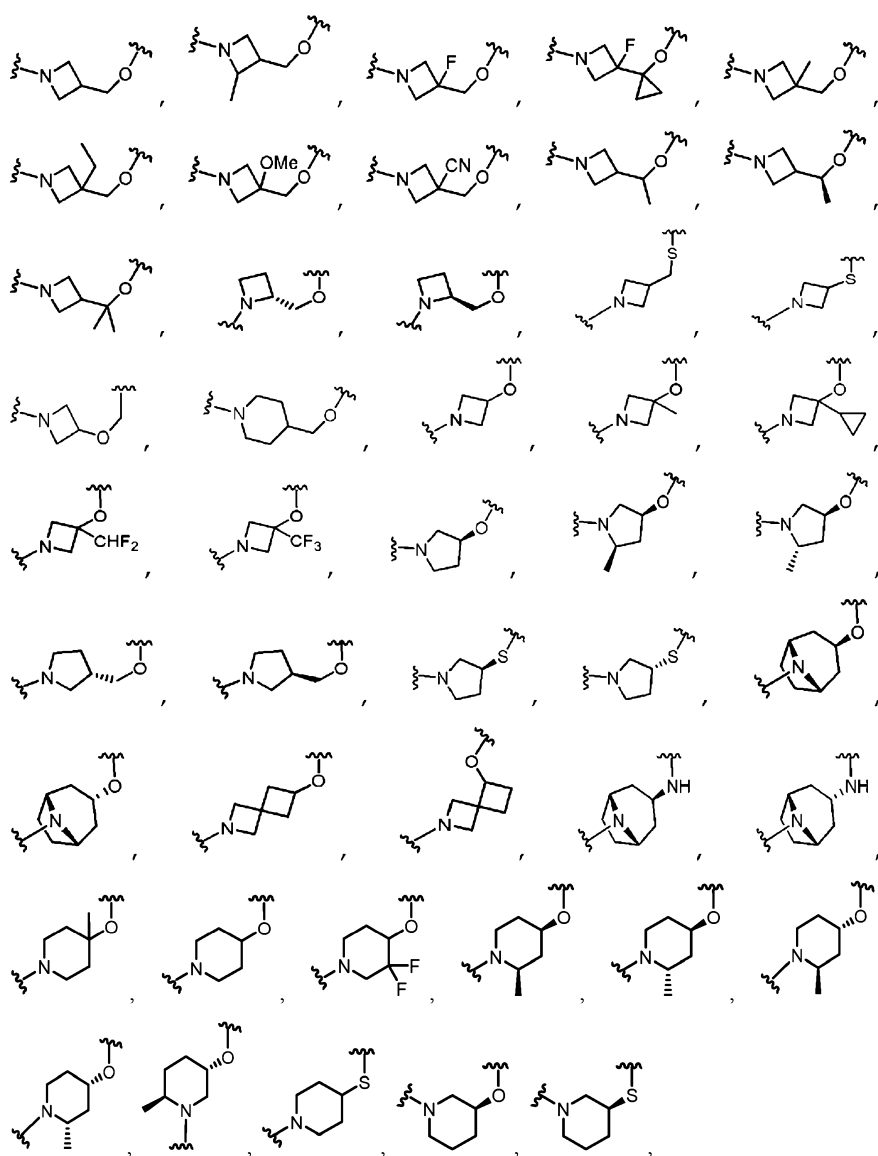
выбирают из группы, состоящей из

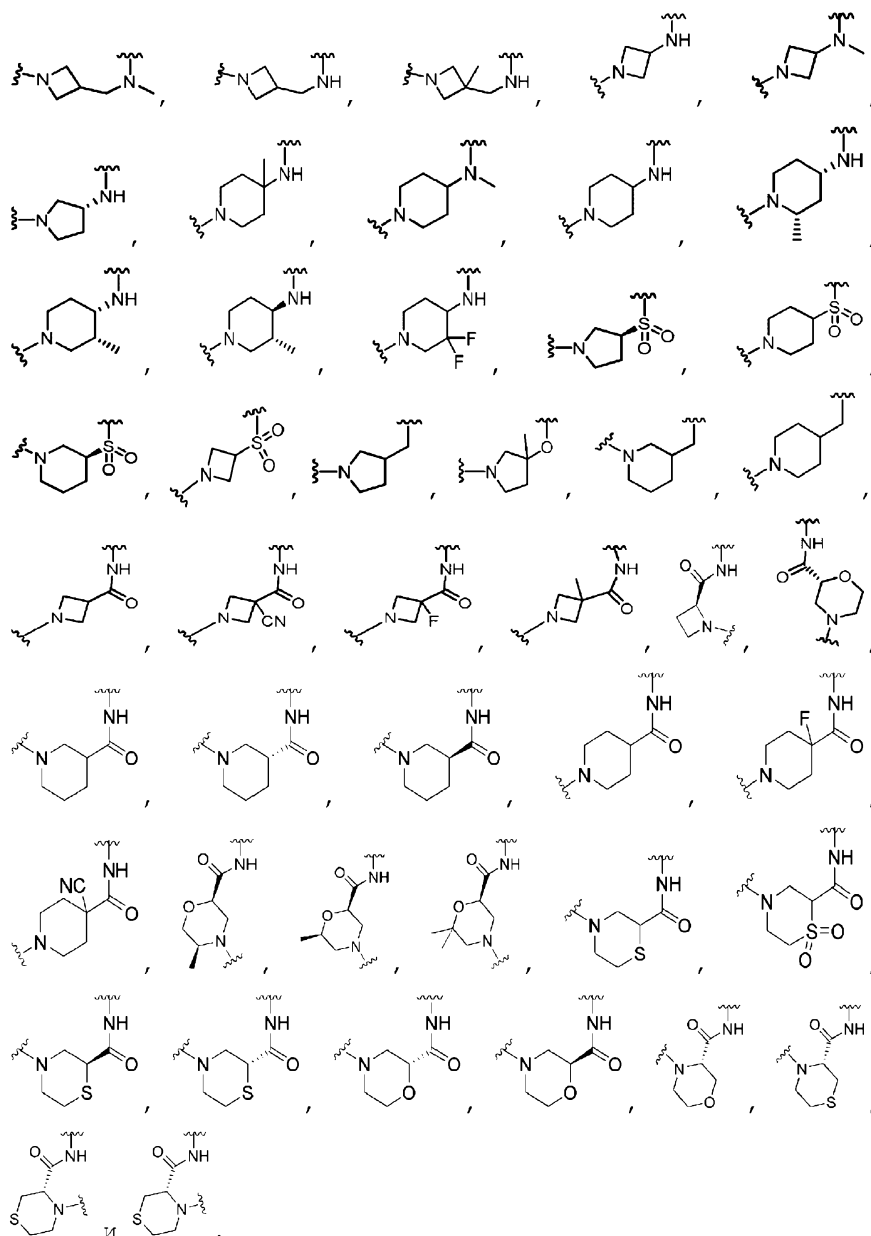


7. Соединение по любому из пп.1-4 или его фармацевтически приемлемая соль, где



выбирают из группы, состоящей из





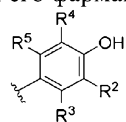
8. Соединение по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемая соль, где X^1 и X^2 , оба, являются СН.

9. Соединение по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемая соль, где X^1 является N и X^2 является СН.

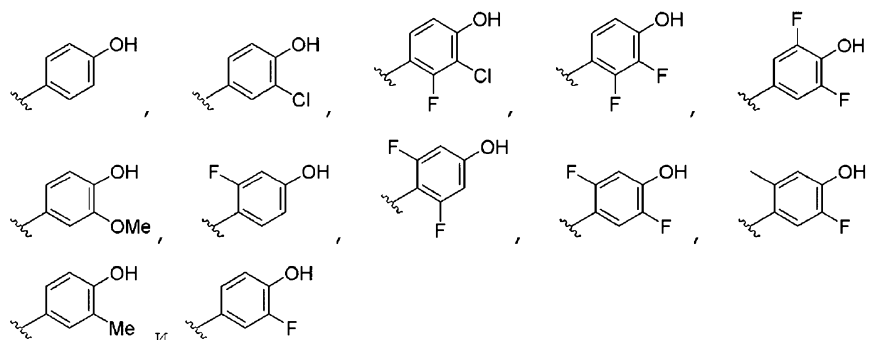
10. Соединение по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемая соль, где X^1 и X^2 , оба, являются N.

11. Соединение по любому из пп.1-7 или его фармацевтически приемлемая соль, где X^1 является СН и X^2 является N.

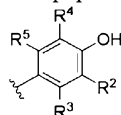
12. Соединение по любому из пп.1-11 или его фармацевтически приемлемая соль, где



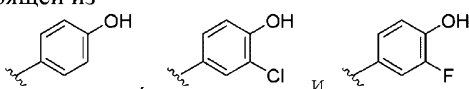
выбирают из группы, состоящей из



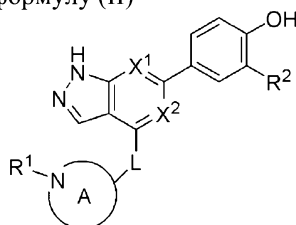
13. Соединение по любому из пп.1-11 или его фармацевтически приемлемая соль, где



выбирают из группы, состоящей из



14. Соединение по п.1, имеющее формулу (II)

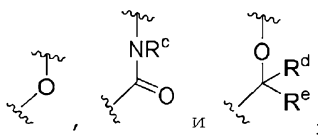


(II)

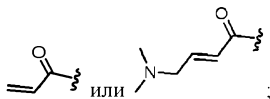
или его фармацевтически приемлемая соль, где X^1 и X^2 , оба, являются CH или X^1 и X^2 , оба, являются N, или X^1 является N и X^2 является CH;



выбирают из группы, состоящей из



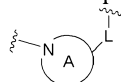
R^c , R^d и R^e , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и метила;
 A выбирают из группы, состоящей из азетидина, пирролидина, пиперидина и морфолина;
 где L связан с атомом углерода в A и A необязательно замещен 1-2 группами R^k ;
 каждый R^k независимо выбирают из группы, состоящей из F, CN, метила, этила и C_{1-2} галоалкила;
 R^1 является



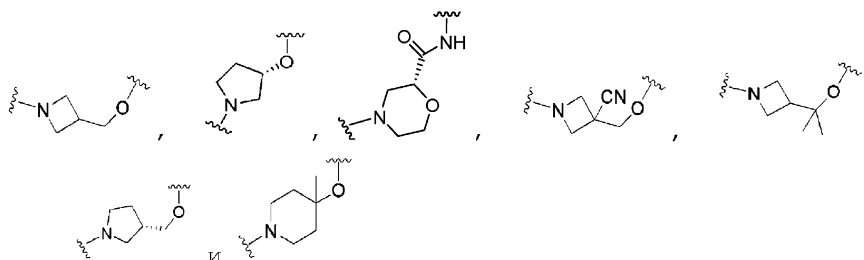
и

R^2 выбирают из группы, состоящей из H, Cl и F.

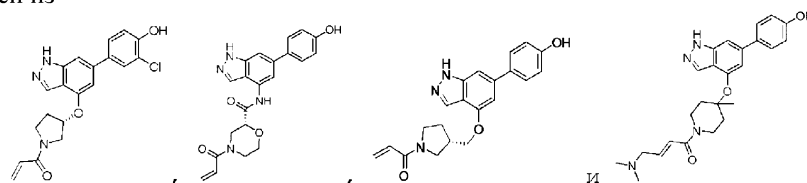
15. Соединение по п.14 или его фармацевтически приемлемая соль, где



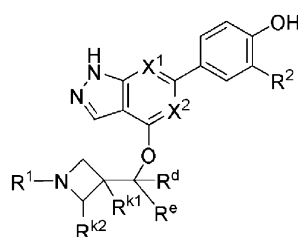
выбирают из группы, состоящей из



16. Соединение по п.14 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбирают из группы, состоящей из

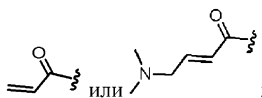


17. Соединение формулы (B)



(B)

или его фармацевтически приемлемая соль, где X^1 и X^2 , каждый независимо, выбирают из N и CH; R^d и R^e , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и C_{1-3} алкила; необязательно R^d и R^e могут быть объединены с образованием циклопропильного кольца; R^{k1} выбирают из группы, состоящей из H, F, CN, OMe и C_{1-3} алкила; R^{k2} выбирают из группы, состоящей из H и метила; R^1 является



и

R^2 выбирают из группы, состоящей из H, Cl и F.

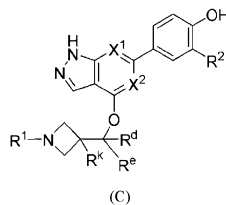
18. Соединение по п.17 или его фармацевтически приемлемая соль, где

R^d и R^e , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и метила;

необязательно, R^d и R^e могут быть объединены с образованием циклопропильного кольца и

R^{k1} выбирают из группы, состоящей из H, F, CN, OMe, метила и этила.

19. Соединение формулы (C)



(C)

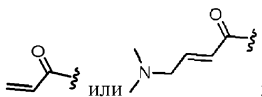
или его фармацевтически приемлемая соль, где

X^1 и X^2 , оба, являются CH или X^1 и X^2 , оба, являются N, или X^1 является N и X^2 является CH;

R^d и R^e , каждый независимо, выбирают из группы, состоящей из H и метила;

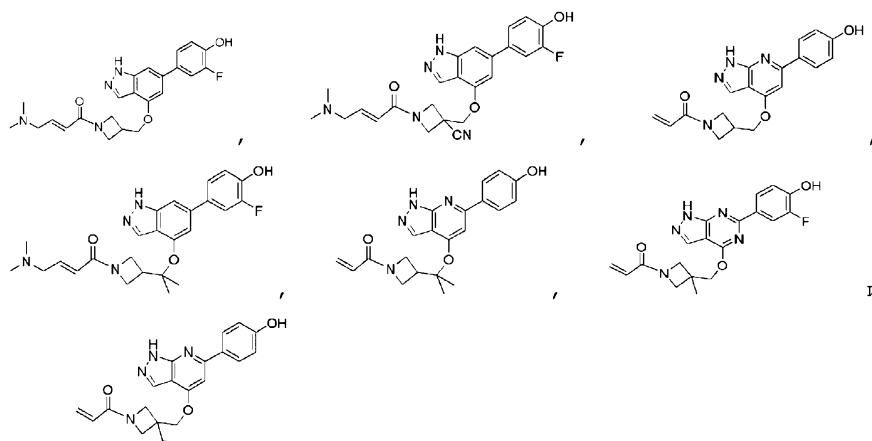
R^k выбирают из группы, состоящей из H, CN, метила и этила;

R^1 является

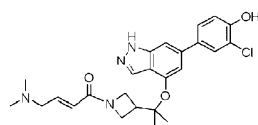


и R^2 выбирают из группы, состоящей из H, Cl и F.

20. Соединение по п.19 или его фармацевтически приемлемая соль, где соединение выбирают из группы, состоящей из

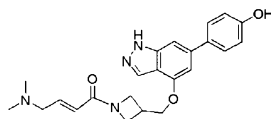


21. Соединение формулы



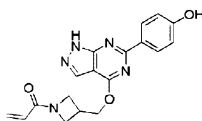
или его фармацевтически приемлемая соль.

22. Соединение формулы



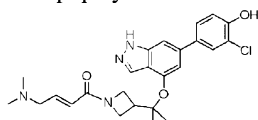
или его фармацевтически приемлемая соль.

23. Соединение формулы



или его фармацевтически приемлемая соль.

24. Кристаллическая форма соединения формулы



где кристаллическая форма характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содержащей пики дифракции при значениях 2θ $5,65\pm 0,20$, $14,22\pm 0,20$, $15,16\pm 0,20$ и $19,31\pm 0,20$.

25. Кристаллическая форма по п.24, где порошковая рентгеновская дифрактограмма дополнительно характеризуется наличием дополнительных пиков дифракции при значениях 2θ $7,12\pm 0,20$, $10,02\pm 0,20$, $11,16\pm 0,20$, $17,06\pm 0,20$ и $24,43\pm 0,20$.

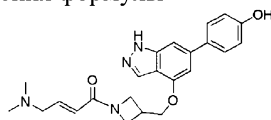
26. Кристаллическая форма по п.25, где порошковая рентгеновская дифрактограмма дополнительно характеризуется наличием двух или более дополнительных пиков дифракции при значениях 2θ , выбранных из $13,10\pm 0,20$, $14,82\pm 0,20$, $16,55\pm 0,20$, $20,08\pm 0,20$, $21,08\pm 0,20$, $21,65\pm 0,20$, $22,51\pm 0,20$, $22,98\pm 0,20$, $25,02\pm 0,20$, $25,72\pm 0,20$, $26,80\pm 0,20$, $27,06\pm 0,20$, $28,31\pm 0,20$, $30,08\pm 0,20$, $30,31\pm 0,20$ и $32,08\pm 0,20$.

27. Кристаллическая форма по п.24, где кристаллическая форма характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, на которой положения пиков по существу соответствуют положениям пиков из изображения, показанного на фиг. 1.

28. Кристаллическая форма по п.24, где кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, записанной при скорости нагревания 10°C в минуту, которая показывает максимум эндотермического теплового потока с пиком при $162,9\pm 3^\circ\text{C}$.

29. Кристаллическая форма по п.24, где кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии в соответствии с той, которая показана на фиг. 2.

30. Кристаллическая форма соединения формулы



где кристаллическая форма характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, содер-

жащей пики дифракции при значениях 2θ $9,67\pm 0,20$, $11,61\pm 0,20$, $17,61\pm 0,20$, $18,88\pm 0,20$ и $23,33\pm 0,20$.

31. Кристаллическая форма по п.30, где порошковая рентгеновская дифрактограмма дополнительно характеризуется наличием дополнительных пиков дифракции при значениях 2θ $4,82\pm 0,20$, $15,69\pm 0,20$ и $16,19\pm 0,20$.

32. Кристаллическая форма по п.31, где порошковая рентгеновская дифрактограмма дополнительно характеризуется наличием двух или более дополнительных пиков дифракции при значениях 2θ , выбранных из $11,92\pm 0,20$, $12,98\pm 0,20$, $13,23\pm 0,20$, $16,45\pm 0,20$, $16,67\pm 0,20$, $19,39\pm 0,20$, $19,96\pm 0,20$, $20,14\pm 0,20$, $22,14\pm 0,20$, $23,84\pm 0,20$, $24,06\pm 0,20$, $24,29\pm 0,20$, $25,31\pm 0,20$, $25,63\pm 0,20$, $27,06\pm 0,20$, $27,31\pm 0,20$, $30,10\pm 0,20$ и $30,53\pm 0,20$.

33. Кристаллическая форма по п.30, где кристаллическая форма характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, на которой положения пиков по существу соответствуют положениям пиков из изображения, показанного на фиг. 9.

34. Кристаллическая форма по п.30, где кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, записанной при скорости нагревания 10°C в минуту, которая показывает максимум эндотермического теплового потока с пиком при $201,3^\circ\text{C}\pm 2^\circ\text{C}$.

35. Кристаллическая форма по п.30, где кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, записанной при скорости нагревания 10°C в минуту, которая показывает максимум эндотермического теплового потока при температуре между 198 и 204°C .

36. Кристаллическая форма по п.30, где кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу соответствующей той, которая показана на фиг. 10.

37. Фармацевтическая композиция, содержащая соединение по любому из пп.1-23 или его фармацевтически приемлемую соль, или кристаллическую форму по любому из пп.24-36 и фармацевтически приемлемый носитель.

38. Фармацевтическая композиция по п.37, дополнительно содержащая один или более других терапевтических агентов, пригодных для лечения воспалительного заболевания желудочно-кишечного тракта, выбранных из аминосалицилата, стероида, системного иммунодепрессанта, анти-TNF α антитела, анти-VLA-4 антитела, антиинтегрин $\alpha_4\beta_7$ антитела, антибактериального средства и противодиарейного лекарственного средства.

39. Применение соединения по любому из пп.1-23 или его фармацевтически приемлемой соли, или кристаллической формы по любому из пп.24-36 в лечении воспалительного заболевания желудочно-кишечного тракта у млекопитающего.

40. Применение по п.39, где воспалительное заболевание желудочно-кишечного тракта выбирают из группы, состоящей из колита, вызванного ингибитором иммунной контрольной точки, колита, вызванного ингибитором CTLA-4, колита, связанного с заболеванием трансплантат против хозяина, целиакии, коллагенозного колита, лимфоцитарного колита, болезни Бехчета, илеита, эозинофильного эзофагита и инфекционного колита.

41. Применение по п.39, где воспалительным заболеванием желудочно-кишечного тракта является язвенный колит.

42. Применение по п.39, где воспалительным заболеванием желудочно-кишечного тракта является болезнь Крона.

43. Применение по п.39, где соединение, или его фармацевтически приемлемую соль, или кристаллическую форму применяют в комбинации с одним или более другими терапевтическими агентами, применяемыми для лечения воспалительного заболевания желудочно-кишечного тракта, выбранными из аминосалицилата, стероида, системного иммунодепрессанта, анти-TNF α антитела, анти-VLA-4 антитела, антиинтегрин $\alpha_4\beta_7$ антитела, антибактериального средства и противодиарейного лекарственного средства.

44. Применение соединения по любому из пп.1-23 или его фармацевтически приемлемой соли, или кристаллической формы по любому из пп.24-36 для производства лекарственного средства для лечения воспалительного заболевания желудочно-кишечного тракта у млекопитающего.

45. Применение по п.44, где воспалительное заболевание желудочно-кишечного тракта выбирают из группы, состоящей из колита, вызванного ингибитором иммунной контрольной точки, колита, вызванного ингибитором CTLA-4, колита, связанного с заболеванием трансплантат против хозяина, целиакии, коллагенозного колита, лимфоцитарного колита, болезни Бехчета, илеита, эозинофильного эзофагита и инфекционного колита.

46. Применение по п.44, где воспалительным заболеванием желудочно-кишечного тракта является язвенный колит.

47. Применение по п.44, где воспалительным заболеванием желудочно-кишечного тракта является болезнь Крона.

48. Применение соединения по любому из пп.1-23 или его фармацевтически приемлемой соли в лечении воспалительного заболевания кожи у млекопитающего.

49. Применение соединения по любому из пп.1-23 или его фармацевтически приемлемой соли в ле-

чении кожной Т-клеточной лимфомы.

50. Применение соединения по любому из пп.1-23 или его фармацевтически приемлемой соли или кристаллической формы по любому из пп.24-36 для производства лекарственного средства для лечения воспалительного заболевания кожи у млекопитающего.

51. Применение соединения по любому из пп.1-23 или его фармацевтически приемлемой соли, или кристаллической формы по любому из пп.24-36 для производства лекарственного средства для лечения кожной Т-клеточной лимфомы.

52. Способ лечения воспалительного заболевания желудочно-кишечного тракта у млекопитающего, где способ включает введение млекопитающему соединения по любому из пп.1-23 или его фармацевтически приемлемой соли, или кристаллической формы по любому из пп.24-36 и фармацевтически приемлемого носителя.

53. Способ по п.52, где способ дополнительно включает введение одного или более других терапевтических агентов, пригодных для лечения воспалительного заболевания желудочно-кишечного тракта, выбранных из аминосалицилата, стероида, системного иммунодепрессанта, анти-TNF α антитела, анти-VLA-4 антитела, антиинтегрин $\alpha_4\beta_7$ антитела, антибактериального средства и противодиарейного лекарственного средства.

54. Способ по п.52, где воспалительное заболевание желудочно-кишечного тракта выбирают из группы, состоящей из колита, вызванного ингибитором иммунной контрольной точки, колита, вызванного ингибитором CTLA-4, колита, связанного с заболеванием трансплантат против хозяина, целиакии, коллагенозного колита, лимфоцитарного колита, болезни Бехчета, илеита, эозинофильного эзофагита и инфекционного колита.

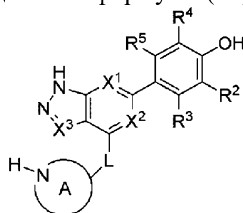
55. Способ по п.52, где воспалительным заболеванием желудочно-кишечного тракта является язвенный колит.

56. Способ по п.52, где воспалительным заболеванием желудочно-кишечного тракта является болезнь Крона.

57. Способ лечения воспалительного заболевания кожи у млекопитающего, где способ включает нанесение фармацевтической композиции, содержащей соединение по любому из пп.1-23 или его фармацевтически приемлемую соль, на кожу млекопитающего.

58. Способ лечения кожной Т-клеточной лимфомы у млекопитающего, где способ включает нанесение фармацевтической композиции, содержащей соединение по любому из пп.1-23 или его фармацевтически приемлемую соль, на кожу млекопитающего.

59. Способ получения соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли по п.1, где способ включает взаимодействие соединения формулы (III)



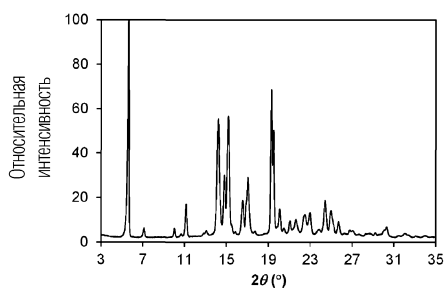
(III)

где X¹, X², X³, R², R³, R⁴, R⁵, L и A имеют значения, указанные в п.1, с

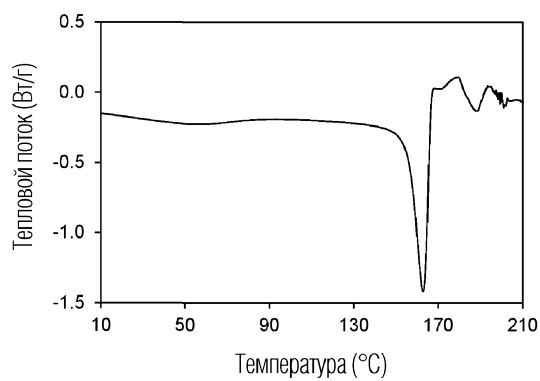
(i) Cl-R¹ или

(ii) HO-R¹,

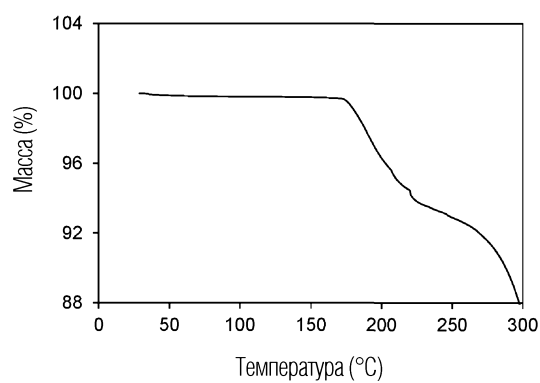
где R¹ имеет значения, указанные в п.1, и затем, при необходимости, преобразование соединения формулы (I) в его фармацевтически приемлемую соль.



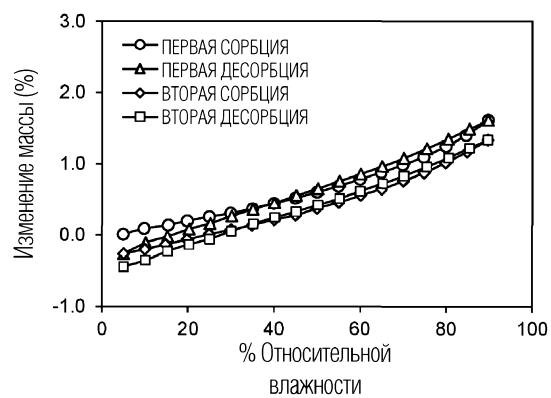
Фиг. 1



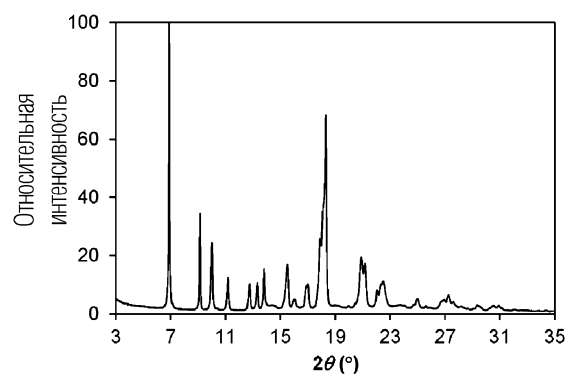
Фиг. 2



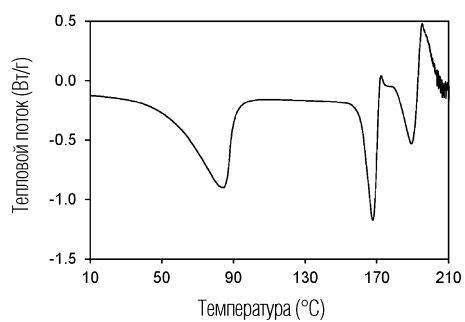
Фиг. 3



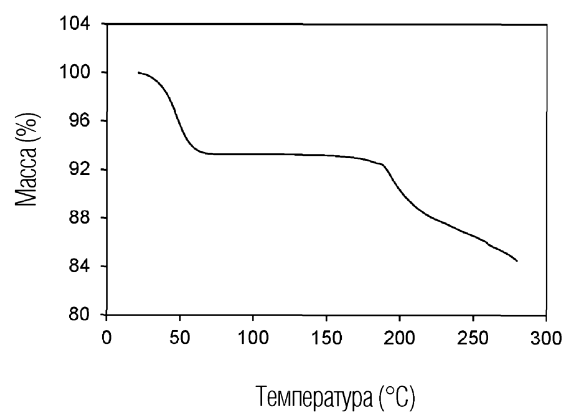
Фиг. 4



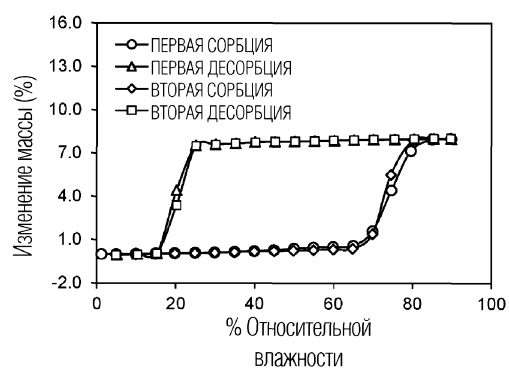
Фиг. 5



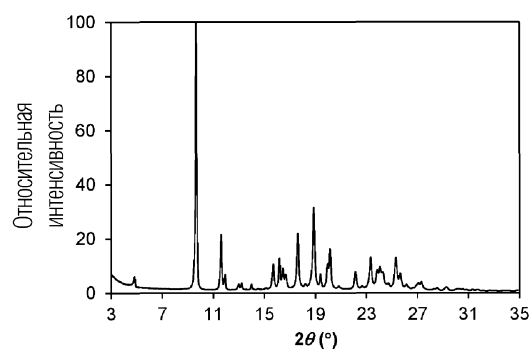
Фиг. 6



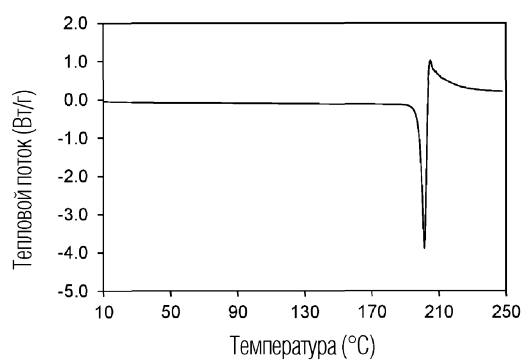
Фиг. 7



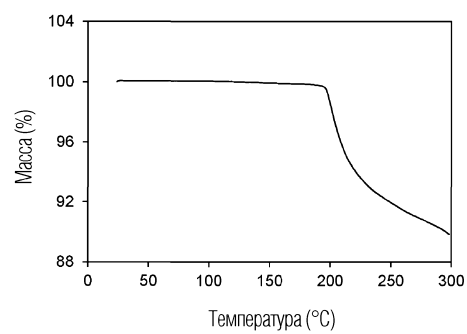
Фиг. 8



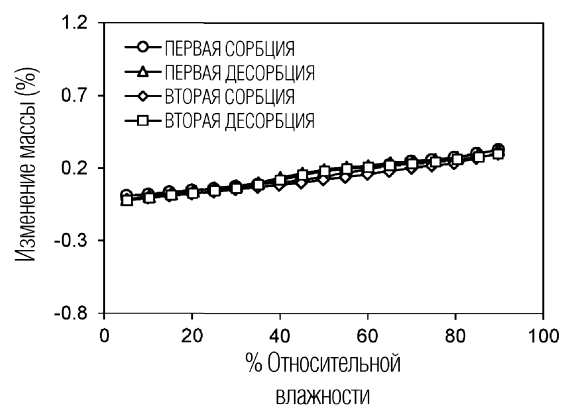
Фиг. 9



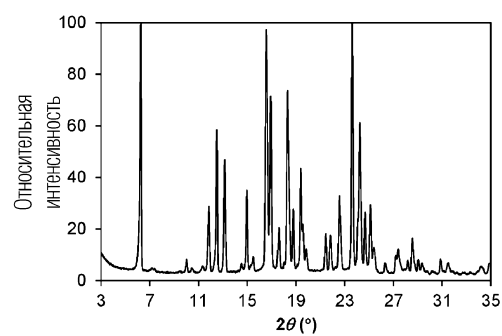
Фиг. 10



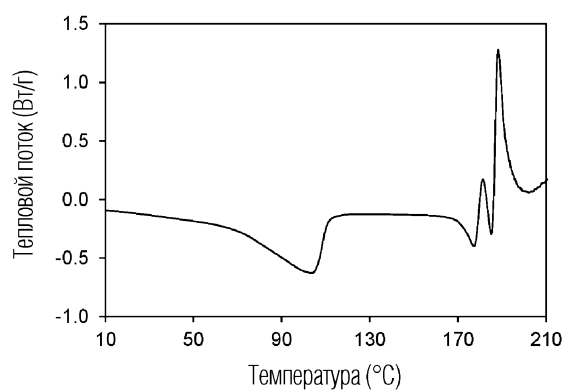
Фиг. 11



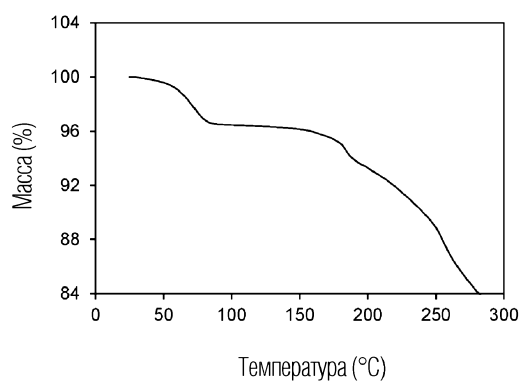
Фиг. 12



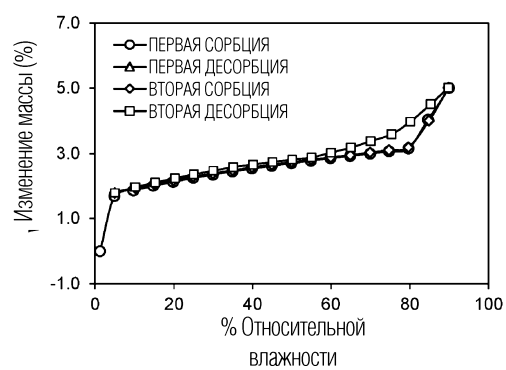
Фиг. 13



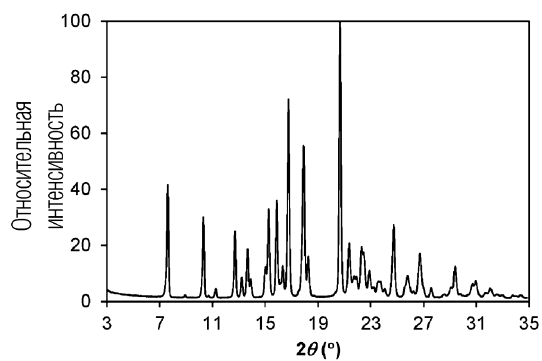
Фиг. 14



Фиг. 15



Фиг. 16



Фиг. 17



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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