

Перекрестные ссылки на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США № 61/933636, поданной 30 января 2014, и приоритет предварительной заявки на патент США № 62/025161, поданной 16 июля 2014, полное содержание которых включено сюда посредством ссылки.

Область техники, к которой относится изобретение

Представлены способы получения производных диаминопиримидина и их промежуточные соединения.

Уровень техники

Идентификация и выбор твердой формы фармацевтического соединения является сложной проблемой, с учетом того, что изменение твердой формы может повлиять на множество физических и химических свойств, которые могут обеспечивать преимущества и недостатки при обработке, составлении, стабильности, биодоступности, хранении, манипуляциях (например, транспортировке), среди прочих важных фармацевтических характеристик. Полезные фармацевтические твердые формы включают кристаллические твердые формы и аморфные твердые формы, в зависимости от продукта и его способа введения. Аморфные твердые формы характеризуются отсутствием длительной структурной упорядоченности, в то время как кристаллические твердые формы характеризуются структурной периодичностью. Желаемый класс фармацевтических твердых форм зависит от конкретного применения; аморфные твердые формы иногда выбирают на основе, например, улучшенного профиля растворения, в то время как кристаллические твердые формы могут быть желательны благодаря таким свойствам, как, например, физическая или химическая стабильность (см., например, S. R. Vippagunta et al., *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, (2001) 48:3-26; L. Yu, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, (2001) 48:27-42).

Независимо от того, кристаллические они или аморфные, твердые формы фармацевтического соединения включают однокомпонентные и многокомпонентные твердые формы.

Однокомпонентные твердые формы состоят, в основном, из фармацевтического соединения или активного ингредиента при отсутствии других соединений. Разнообразие среди однокомпонентных кристаллических материалов может потенциально возникать из явления полиморфизма, в то время как множественные трехмерные структуры существуют для конкретного фармацевтического соединения (см., например, S. R. Byrn et al., *Solid State Chemistry of Drugs*, (1999) SSCI, West Lafayette). Важность выявления полиморфов была недооценена в случае с Ritonavir™, ингибитором ВИЧ протеазы, который был составлен в виде мягких желатиновых капсул. Примерно через два года после того, как продукт был выпущен на рынок, непредвиденное осаждение нового, менее растворимого полиморфа в композиции вынудило отзывать продукт с рынка до тех пор, пока не будет разработана более подходящая композиция (см. S. R. Chemburkar et al., *Org. Process Res. Dev.*, (2000) 4:413-417).

Примечательно, что невозможно предсказать a priori, существуют ли вообще кристаллические формы соединений, не говоря уже о том, как успешно получить их (см., например, Braga and Grepioni, 2005, "Making crystals from crystals: a green route to crystal engineering and polymorphism," *Chem. Commun.*:3635-3645 (в том, что касается создания кристалла, если инструкции не очень точны и/или если на процесс влияют другие внешние факторы, результат может быть непредсказуем); Jones et al., 2006, *Pharmaceutical Cocrystals: An Emerging Approach to Physical Property Enhancement*," MRS Bulletin 31:875-879 (в настоящее время обычно невозможно вычислительно предсказать количество получаемых полиморфов даже простейших молекул); Price, 2004, "The computational prediction of pharmaceutical crystal structures and polymorphism," *Advanced Drug Delivery Reviews* 56:301-319 ("Price"); и Bernstein, 2004, "Crystal Structure Prediction and Polymorphism," *ACA Transactions* 39:14-23 (многое еще должно быть изучено и сделано, прежде чем кто-то сможет с любой степенью уверенности предсказать кристаллическую структуру, в намного меньшей степени - полиморфные формы)).

Соединение, имеющее химическое наименование 2-(трет-бутиламино)-4-((1R,3R,4R)-3-гидрокси-4-метилциклогексиламино)пиримидин-5-карбоксамид (альтернативное наименование 2-[(1,1-диметилэтил)амино]-4-[[((1R,3R,4R)-3-гидрокси-4-метилциклогексил)амино]-5-пиримидинкарбоксамид) и его таутомеры (вместе называемые здесь "соединение 1") описано в публикации заявки на патент США № 2013/0029987, опубликованной 31 января 2013, и международной публикации № WO 2012/145569, содержание каждой из которых включено сюда в качестве ссылки.

Множество возможных твердых форм создает потенциальное многообразие физических и химических свойств для данного фармацевтического соединения. Открытие и выбор твердых форм является очень важным для разработки эффективного, стабильного и продаваемого фармацевтического продукта.

Связь между аномальным фосфорилированием белка и причиной или следствием заболеваний известна уже более 20 лет. Следовательно, протеинкиназы стали очень важной группой мишней для лекарственных средств. (См. Cohen, *Nature*, 1:309-315 (2002), Gaestel et al. *Curr.Med.Chem.* 14: 2214-223 (2007); Grimminger et al. *Nat. Rev. Drug Disc.* 9(12):956-970 (2010)). Различные ингибиторы протеинкиназы применяют клинически для лечения множества заболеваний, таких как рак и хронические воспалительные заболевания, включая ревматоидный артрит и псориаз. (См. Cohen, *Eur. J. Biochem.*, 268:5001-5010 (2001); *Protein Kinase Inhibitors for the Treatment of Disease: The Promise and the Problems*, *Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer Berlin Heidelberg, 167 (2005)).

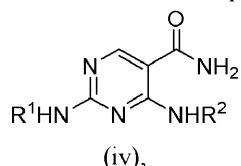
JNK является экспрессируемой везде серин/треонинкиназой, принадлежащей, вместе с ERK (внеклеточно регулируемой киназой) и p38, к семейству митоген-активируемых протеинкиназ (МАПК). (Kugaiakis JM, Sci. STKE (48):pe1 (2000); Whitmarsh AJ, et al. Sci. STKE (1):pe1 (1999); Schramek H, News Physiol. Sci., 17:62-7 (2002); Ichijo H, Oncogene 18 (45):6087-93 (1999)). МАПК являются важными медиаторами трансдукции сигнала с поверхности клетки в ядро с применением каскадов фосфорилирования для создания координированной реакции клетки на внешний стимул через фосфорилирование выбранных внутриклеточных белков, включая факторы транскрипции. Дополнительно, JNK также фосфорилирует неядерные белки, например IRS-1, и члены семейства Bcl-2. (Davis RJ, Trends Biochem. Sci. 9(11):470-473 (1994); Seger R et al., FASEB J.; 9(9):726-35 (1995); Fanger GR et al., Curt. Opin. Genet. Dev.; 7(1):67-74 (1997)).

Разъяснение сложности путей протеинкиназы и сложность взаимоотношений и взаимодействия среди и между различными протеинкиназами и киназами путями подчеркивает важность разработки фармацевтических агентов, способных действовать в качестве модуляторов, регуляторов или ингибиторов протеинкиназы, которые обладают благоприятным действием на множество киназных путей. Следовательно, остается необходимость в новых модуляторах киназы, например модуляторах JNK, и, в частности, твердых формах таких модуляторов киназы.

Цитирование и идентификация любых ссылок во 2 разделе данной заявки не должно рассматриваться как признание того, что ссылки являются известным уровнем техники по отношению к данной заявке.

Сущность изобретения

Представлен способ получения производных диаминопirimидина формулы (iv)

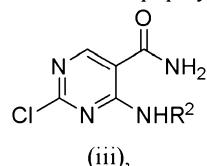


где R^1 является незамещенным C_{1-8} алкилом или замещенным или незамещенным насыщенным гидроксил- C_{3-10} циклоалкилом,

R^2 является незамещенным C_{1-8} алкилом или замещенным или незамещенным гидроксил- C_{3-10} циклоалкилом,

где, если гидроксил- C_{3-10} циклоалкильная группа замещена, то эта группа замещена C_{1-10} алкилом;

где способ включает взаимодействие соединения формулы (iii)



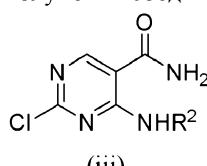
с R^1NH_2 в присутствии основания или кислоты Льюиса в растворителе,

где указанный растворитель представляет собой диметилсульфоксид (ДМСО), сульфолан, ацетонитрил, N,N-диметилформамид (ДМФ), N,N-диметилацетамид (ДМАц), N-метил-2-пирролидон (NMP), этанол (EtOH), н-пропанол (n-PrOH), изопропиловый спирт (ИПС), н-бутанол (n-BuOH), третбутиanol (t-BuOH), этилацетат (EtOAc), изопропилацетат (ИПА), толуол, 2-метилтетрагидрофуран (МеTГФ), тетрагидрофуран (ТГФ), дихлорметан (ДХМ) или их смесь;

указанным основанием является N,N-диизопропилэтиламин, 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен (ДБУ), триэтиламин, трет-бутиламин, карбонат натрия, карбонат калия, гидрокарбонат натрия, ацетат натрия или фосфат калия;

указанной кислотой Льюиса является ZnCl_2 , ZnBr_2 , AlCl_3 или $\text{Zn}(\text{OTf})_2$.

В другом аспекте представлен способ получения соединения формулы (iii)



где R^2 является незамещенным C_{1-8} алкилом или замещенным или незамещенным гидроксил- C_{3-10} циклоалкилом,

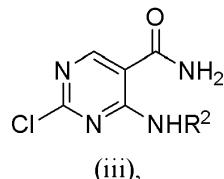
где, если гидроксил- C_{3-10} циклоалкильная группа замещена, то эта группа замещена C_{1-10} алкилом;

где способ включает взаимодействие 2,4-дихлорпиримидин-5-карбоксамида с R^2NH_2 в присутствии основания в растворителе,

где указанным основанием является N,N-диизопропилэтиламин, карбонат калия, гидроортофосфат калия, ортофосфат калия или бикарбонат натрия;

растворителем является ТГФ, НМР, вода или их смесь.

В другом аспекте представлены промежуточные соединения формулы (iii)



(iii),

и его таутомеры,

где R² является незамещенным C₁-алкилом или замещенным или незамещенным насыщенным гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкилом,

где, если гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкильная группа замещена, то эта группа замещена C₁₋₁₀алкилом.

Данные варианты могут быть поняты более полно из представленного подробного описания и примеров, которые предназначены для представления неограничивающих вариантов.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 изображено совмещение порошковой рентгеновской дифрактограммы (ПРД) (верх) и смоделированной ПРД (низ) формы А.

На фиг. 2 изображена модель упаковки в кристалле и схема Н-связей формы А.

На фиг. 3 представлено изображение сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) формы А.

На фиг. 4 изображена термограмма термогравиметрического анализа (ТГА) формы А.

На фиг. 5 изображена термограмма дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) формы

A.

На фиг. 6 изображен изотермический график изотермы динамической сорбции паров (ДСП) формы

A.

На фиг. 7 изображен спектр ¹H ядерного магнитного резонанса (ЯМР) формы А.

На фиг. 8 изображено совмещение рентгенограмм ПРД формы А до и после ДСП (верх и низ).

На фиг. 9 изображена рентгенограмма ПРД формы А после прессования под давлением 2000 ф/д² в течение 1 мин.

На фиг. 10 изображена рентгенограмма ПРД формы В.

На фиг. 11 изображена термограмма ТГА формы В.

На фиг. 12 изображена термограмма ДСК формы В.

На фиг. 13 изображен спектр ¹H ЯМР формы В.

На фиг. 14 изображена рентгенограмма ПРД формы С.

На фиг. 15 изображена термограмма ТГА формы С.

На фиг. 16 изображена термограмма ДСК формы С.

На фиг. 17 изображен спектр ¹H ЯМР формы С.

На фиг. 18 изображена рентгенограмма ПРД формы D.

На фиг. 19 изображена термограмма ТГА формы D.

На фиг. 20 изображена термограмма ДСК формы D.

На фиг. 21 изображен спектр ¹H ЯМР формы D.

На фиг. 22 изображена рентгенограмма ПРД формы E.

На фиг. 23 изображена термограмма ТГА формы E.

На фиг. 24 изображена термограмма ДСК формы E.

На фиг. 25 изображен спектр ¹H ЯМР формы E.

На фиг. 26 изображена рентгенограмма ПРД формы F.

На фиг. 27 изображена термограмма ТГА формы F.

На фиг. 28 изображена термограмма ДСК формы F.

На фиг. 29 изображен спектр ¹H ЯМР формы F.

На фиг. 30 изображена рентгенограмма ПРД формы G.

На фиг. 31 изображена термограмма ТГА формы G.

На фиг. 32 изображена термограмма ДСК формы G.

На фиг. 33 изображен спектр ¹H ЯМР формы G.

На фиг. 34 изображена рентгенограмма ПРД формы H.

На фиг. 35 изображена термограмма ТГА формы H.

На фиг. 36 изображена термограмма ДСК формы H.

На фиг. 37 изображено совмещение рентгенограмм ПРД формы А, формы В, формы С, формы D, формы Е, формы F, формы G и формы H.

На фиг. 38 изображена рентгенограмма ПРД формы I.

На фиг. 39 изображена термограмма ДСК формы I.

На фиг. 40 изображен спектр ¹H ЯМР формы I.

На фиг. 41 изображена рентгенограмма ПРД аморфного твердого вещества.

На фиг. 42 изображена термограмма ДСК аморфного твердого вещества.

На фиг. 43 изображен спектр ^1H ЯМР аморфного твердого вещества.

На фиг 44 изображена жидкостная хроматография с масс-спектроскопией аморфного твердого вещества.

На фиг. 45 изображены схемы форм А и Н соединения 1 в % воды в ДМСО к температуре.

Подробное описание изобретения

Определения

В данном описании и в спецификации и представленной формуле изобретения термины, представленные в единственном числе, включают множественное и единственное число, если контекст четко не указывает иначе.

В данном описании и если не указано иначе, термины "около" и "приблизительно", применяемые по отношению к дозам, количествам или массовым процентам ингредиентов композиции или лекарственной формы, означает дозу, количество или массовый процент, который признается специалистом в данной области техники как обеспечивающий фармакологическое действие, эквивалентное действию конкретной дозы, количества или массового процента. В определенных вариантах, термины "около" и "приблизительно", применяемые в этом контексте, охватывают дозу, количество или массовый процент в пределах 30%, в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10% или в пределах 5% от указанной дозы, количества или массового процента.

В данном описании и если не указано иначе, термины "около" и "приблизительно", применяемые в отношении численного значения или интервала значений, которые представлены как характеристики конкретной твердой формы, например конкретной температуры или интервала температур, таких, которые описывают, например, плавление, дегидратацию, десольватирование или температуру стеклования; изменения массы, такого как, например, изменение массы в зависимости от температуры или влажности; содержания растворителя или воды, выраженного в виде, например, массы или процента; или положения пика, например, при анализе, например, ИК и рамановской спектроскопией, или ПРД; показывают, что значение или интервал значений может изменяться в той степени, которая будет считаться приемлемой специалистом в данной области техники при описании твердой формы. Методики получения характеристик кристаллических форм и аморфных твердых веществ включают, но не ограничены ими, тепловой гравиметрический анализ (ТГА), дифференциальную сканирующую калориметрию (ДСК), порошковую рентгеновскую дифрактометрию (ПРД), монокристаллическую рентгеновскую дифрактометрию, вибрационную спектроскопию, например инфракрасную (ИК) и рамановскую спектроскопию, спектроскопию ядерного магнитного резонанса (ЯМР) в твердом и жидким состоянии, оптическую микроскопию, оптическую микроскопию в горячем состоянии, сканирующую электронную микроскопию (СЭМ), электронную кристаллографию и количественный анализ, анализ размер частиц (АРЧ), анализ площади поверхности, исследования растворимости и исследования растворения. В определенных вариантах, термины "около" и "приблизительно", применяемые в этом контексте, означают, что численное значение или интервал значений может варьироваться в пределах 30%, 20%, 15%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1,5%, 1%, 0,5% или 0,25% от указанного значения или интервала значений. Например, в некоторых вариантах, значения положения пика может варьироваться вплоть до $\pm 0,2^\circ 2\theta$ (или $\pm 0,2$ градус 2θ) для описания конкретного пика ПРД.

"Алкильная" группа представляет собой насыщенный, частично насыщенный или ненасыщенный прямой или разветвленный не циклический углеводород, содержащий от 1 до 10 атомов углерода, обычно от 1 до 8 атомов углерода или, в некоторых вариантах, от 1 до 6, от 1 до 4 или от 2 до 6 или от 2 до 4 атомов углерода. Типовые алкильные группы включают -метил, -этил, -н-пропил, -н-бутил, -н-пентил и -н-гексил; насыщенные разветвленные алкилы включают -изопропил, -втор-бутил, -изобутил, -трет-бутил, изопентил, -неопентил, -трет-пентил, -2-метилфенил, -3-метилфенил, -4-метилфенил, -2,3-диметилбутил и подобные. Примеры ненасыщенных алкильных групп включают, но не ограничены ими, винил, аллил, $-\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_3)$, $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}(\text{CH}_3)$, $-\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)=\text{CH}_2$, $-\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_3)$, $-\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_3)$ и $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$, среди прочих. Алкильная группа может быть замещена или не замещена. Если описываемые здесь алкильные группы "замещены", они могут быть замещены любым заместителем или заместителями, найденными в типовых соединениях и вариантах, описанных здесь, а также галогеном (хлором, йодом, бромом или фтором); алкилом; гидроксилом; алcoxис; алcoxисалкилом; амино; алкиламино; карбокси; нитро; циано; тиолом; тиоэфиром; имином; имидом; амином; гуанидином; енамином; аминокарбонилом; ациламино; фосфонатом; фосфином; тиокарбонилом; сульфинилом; сульфоном; сульфонамидом; кетоном; альдегидом; сложным эфиром; мочевиной; уретаном; оксимом; гидроксиламином; алкоксиамином; аралкоксиамином; N-оксидом; гидразином; гидразидом; гидразоном; азидом; изоцианатом; изотиоцианатом; цианатом; тиоцианатом; $\text{B}(\text{OH})_2$ или $\text{O}(\text{алкил})\text{аминокарбонил}$.

"Циклоалкильная" группа представляет собой насыщенную или частично насыщенную циклическую алкильную группу, содержащую от 3 до 10 атомов углерода, имеющую одно циклическое кольцо или множество конденсированных или мостиковых колец, которые могут быть необязательно замещены

от 1 до 3 алкильными группами. В некоторых вариантах, циклоалкильная группа имеет от 3 до 8 членов в кольце, в других вариантах, количество атомов углерода в кольце варьируется от 3 до 5, от 3 до 6 или от 3 до 7. Такие циклоалкильные группы включают, например, структуры с одним кольцом, такие как циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил, 1-метилциклоалкилпропил, 2-метилциклоалкилпентил, 2-метилциклооктил и подобные, или структуры с множеством колец или мостиковоыми кольцами, такие как 1-бицикло[1.1.1]пентил, бицикло[2.1.1]гексил, бицикло[2.2.1]гептил, бицикло[2.2.2]октил, адамантил и подобные. Примеры ненасыщенных циклоалкильных групп включают циклогексенил, циклопентенил, циклогексадиенил, бутадиенил, пентадиенил, гексадиенил, среди прочих. Циклоалкильная группа может быть замещена или не замещена. Такие замещенные циклоалкильные группы включают, например, циклогексанол и подобные.

"Циклоалкилалкильная" группа представляет собой радикал формулы: -алкилциклоалкил, где алкил и циклоалкил такие, как определены выше. Замещенные циклоалкилалкильные группы могут быть замещены в алкильной, циклоалкильной или обеих, алкильной и циклоалкильной частях группы. Типовые циклоалкилалкильные группы включают, но не ограничены ими, метилциклоалкилпропил, метилциклоалкилбутил, метилциклоалкилпентил, метилциклогексил, этилциклоалкилпропил, этилциклоалкилбутил, этилциклоалкилпентил, этилциклогексил, пропилциклоалкилпропил и подобные.

"Гидроксиалкильная" группа представляет собой алкильную группу, такую как описана выше, замещенную одной или более гидроксигруппами.

"Аминовая" группа представляет собой радикал формулы: $-NH_2$.

"Алкиламиновая" группа представляет собой радикал формулы: $-NH$ -алкил или $-N(алкил)_2$, где каждый алкил независимо такой, как определен выше.

"Кетоновая" группа представляет собой радикал формулы: $C(=O)(R^{\#})$, где $R^{\#}$ такой, как определен выше.

"Альдегидная" группа представляет собой радикал формулы: $-CH(=O)$.

"Сложная эфирная" группа представляет собой радикал формулы: $-C(=O)O(R^{\#})$ или $-OC(=O)(R^{\#})$, где $R^{\#}$ такой, как определен выше.

"Мочевинная" группа представляет собой радикал формулы: $-N(алкил)C(=O)N(R^{\#})_2$, $N(алкил)C(=O)NH(R^{\#})$, $-N(алкил)C(=O)NH_2$, $-NHC(=O)N(R^{\#})_2$, $-NHC(=O)NH(R^{\#})$ или $-NHC(=O)NH_2$, где каждый алкил и $R^{\#}$ независимо такие, как определены выше.

"Иминовая" группа представляет собой радикал формулы: $-N=C(R^{\#})_2$ или $-C(R^{\#})=N(R^{\#})$, где каждый $R^{\#}$ независимо такой, как определен выше.

"Имидная" группа представляет собой радикал формулы: $-C(=O)N(R^{\#})C(=O)(R^{\#})$ или $-N((C=O)(R^{\#}))_2$, где каждый $R^{\#}$ независимо такой, как определен выше.

"Уретановая" группа представляет собой радикал формулы: $-OC(=O)N(R^{\#})_2$, $-OC(=O)NH(R^{\#})$, $-N(R^{\#})C(=O)O(R^{\#})$ или $-NHC(=O)O(R^{\#})$, где каждый $R^{\#}$ независимо такой, как определен выше.

"Амидиновая" группа представляет собой радикал формулы: $-C(=N(R^{\#}))N(R^{\#})_2$, $-C(=N(R^{\#}))NH(R^{\#})$, $-C(=N(R^{\#}))NH_2$, $-C(=NH)N(R^{\#})_2$, $-C(=NH)NH(R^{\#})$, $-C(=NH)NH_2$, $-N=C(R^{\#})N(R^{\#})_2$, $-N=C(R^{\#})NH(R^{\#})$, $-N=C(R^{\#})NH_2$, $-N=C(R^{\#})N(R^{\#})_2$, $-N=C(R^{\#})NH(R^{\#})_2$, $-NHC(R^{\#})=N(R^{\#})$, $-NHC(R^{\#})=N(R^{\#})_2$, $-N(R^{\#})C(R^{\#})=NH$ или $-NHC(R^{\#})=NH$, где каждый $R^{\#}$ независимо такой, как определен выше.

"Гуанидиновая" группа представляет собой радикал формулы: $-N(R^{\#})C(=N(R^{\#}))N(R^{\#})_2$, $-NHC(=N(R^{\#}))N(R^{\#})_2$, $-N(R^{\#})C(=NH)N(R^{\#})_2$, $-N(R^{\#})C(=N(R^{\#}))NH(R^{\#})$, $-N(R^{\#})C(=N(R^{\#}))NH_2$, $-NHC(=NH)N(R^{\#})_2$, $-NHC(=N(R^{\#}))NH(R^{\#})$, $-NHC(=N(R^{\#}))NH_2$, $-NHC(=NH)NH(R^{\#})$, $-NHC(=NH)NH_2$, $-N=C(N(R^{\#})_2)_2$, $-N=C(NH(R^{\#})_2)_2$ или $-N=C(NH_2)_2$, где каждый $R^{\#}$ независимо такой, как определен выше.

"Енаминовая" группа представляет собой радикал формулы: $-N(R^{\#})C(R^{\#})=C(R^{\#})_2$, $-NHC(R^{\#})=C(R^{\#})_2$, $-C(N(R^{\#})_2)=C(R^{\#})_2$, $-C(NH(R^{\#})_2)=C(R^{\#})_2$, $-C(NH_2)=C(R^{\#})_2$, $-C(R^{\#})=C(R^{\#})(N(R^{\#})_2)$, $-C(R^{\#})=C(R^{\#})(NH(R^{\#}))$ или $-C(R^{\#})=C(R^{\#})(NH_2)$, где каждый $R^{\#}$ независимо такой, как определен выше.

"Оксимовая" группа представляет собой радикал формулы: $-C(=NO(R^{\#}))(R^{\#})$, $-C(=NOH)(R^{\#})$, $-CH(=NO(R^{\#}))$ или $-CH(=NOH)$ где каждый $R^{\#}$ независимо такой, как определен выше.

"Гидразидная" группа представляет собой радикал формулы: $-C(=O)N(R^{\#})N(R^{\#})_2$, $-C(=O)NHN(R^{\#})_2$, $-C(=O)N(R^{\#})NH(R^{\#})$, $-C(=O)N(R^{\#})NH_2$, $-C(=O)NHNH(R^{\#})_2$ или $-C(=O)NHNH_2$, где каждый $R^{\#}$ независимо такой, как определен выше.

"Гидразиновая" группа представляет собой радикал формулы: $-N(R^{\#})N(R^{\#})_2$, $-NHN(R^{\#})_2$, $-N(R^{\#})NH(R^{\#})$, $-N(R^{\#})NH_2$, $-NHNH(R^{\#})_2$ или $-NHNH_2$, где каждый $R^{\#}$ независимо такой, как определен выше.

"Гидразоновая" группа представляет собой радикал формулы: $-C(=N-N(R^{\#})_2)(R^{\#})_2$, $-C(=NNH(R^{\#})_2)(R^{\#})_2$, $-C(=N-NH_2)(R^{\#})_2$, $-N(R^{\#})(N=C(R^{\#})_2)$ или $-NH(N=C(R^{\#})_2)$, где каждый $R^{\#}$ независимо такой, как определен выше.

"Азидная" группа представляет собой радикал формулы: $-N_3$.

"Изоцианатная" группа представляет собой радикал формулы: $-N=C=O$.

"Изотиоцианатная" группа представляет собой радикал формулы: $-N=C=S$.

"Цианатная" группа представляет собой радикал формулы: $-OCN$.

"Тиоцианатная" группа представляет собой радикал формулы: $-SCN$.

"Тиоэфирная" группа представляет собой радикал формулы: $-S(R^\#)$, где $R^\#$ такой, как определен выше.

"Тиокарбонильная" группа представляет собой радикал формулы: $-C(=S)(R^\#)$, где $R^\#$ такой, как определен выше.

"Сульфинильная" группа представляет собой радикал формулы: $-S(=O)(R^\#)$, где $R^\#$ такой, как определен выше.

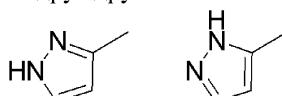
"Сульфоновая" группа представляет собой радикал формулы: $-S(=O)_2(R^\#)$, где $R^\#$ такой, как определен выше.

"Сульфониламино" группа представляет собой радикал формулы: $-NHSO_2(R^\#)$ или $N(\text{алкил})SO_2(R^\#)$, где каждый алкил и $R^\#$ такие, как определены выше.

"Сульфонамидная" группа представляет собой радикал формулы: $-S(=O)_2N(R^\#)_2$, $S(=O)_2NH(R^\#)$ или $-S(=O)_2NH_2$, где каждый $R^\#$ независимо такой, как определен выше.

"Фосфонатная" группа представляет собой радикал формулы: $-P(=O)(O(R^\#))_2$, $-P(=O)(OH)_2$, $-OP(=O)(O(R^\#))(R^\#)$ или $-OP(=O)(OH)(R^\#)$, где каждый $R^\#$ независимо такой, как определен выше.

"Таутомеры" относятся к изомерным формам соединения, которые находятся в равновесии друг с другом. Концентрации изомерных форм зависят от окружения, в котором находится соединение, и могут быть разными в зависимости от того, например, является ли соединение твердым или является органическим или водным раствором. Например, в водном растворе пиразолы могут иметь следующие изомерные формы, которые называются таутомерами друг друга



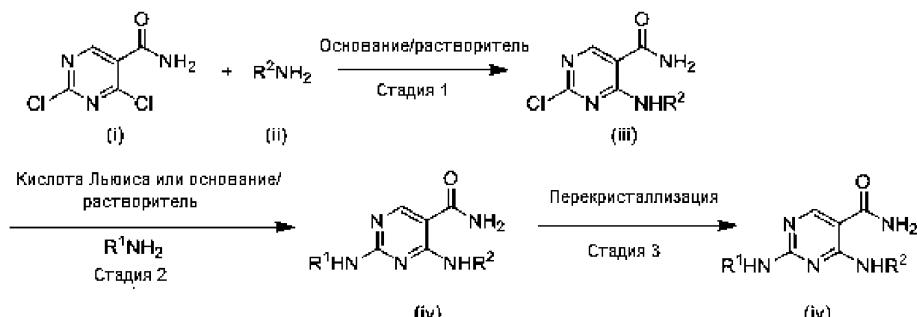
Специалист в данной области техники легко определит множество функциональных групп и других структур, которые могут демонстрировать таутомеризм, и все таутомеры соединения 1 включены в объем данного изобретения.

Если не указано иначе, термин "композиция" в данном описании охватывает продукт, содержащий определенные ингредиенты (и в определенных количествах, если указаны), а также любой продукт, который получается, прямо или косвенно, при сочетании определенных ингредиентов в определенных количествах. Под "фармацевтически приемлемым" понимают то, что разбавитель, наполнитель или носитель в композиции должен быть совместим с другими ингредиентами композиции и не вредить пациенту.

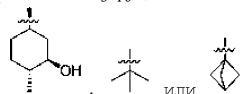
Способы получения соединения (iv)

В качестве примера и без ограничений, соединения диаминопиримидина формулы (iv) могут быть получены, как показано на схеме 1, представленной ниже, а также в представленных ниже примерах.

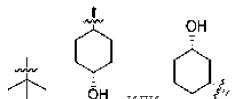
Схема 1



В определенных вариантах формулы (iv) R^1 является незамещенным C_{1-8} алкилом или замещенным или незамещенным насыщенным гидроксил- C_{3-10} циклоалкилом, R^2 является незамещенным C_{1-8} алкилом или замещенным или незамещенным гидроксил- C_{3-10} циклоалкилом. В некоторых вариантах R^2 является

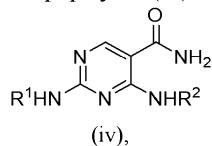


В некоторых вариантах R^1 является



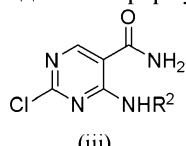
Обработка 2,4-дихлорпиримидин-5-карбоксамида (i) R^2NH_2 (ii) в растворителе (например, тетрагидрофуране (ТГФ), N-метил-2-пирролидоне (NMP) или воде) в присутствии основания (например, диизопропилэтамина, карбоната калия, гидроортогофосфата калия, ортофосфата калия или бикарбоната натрия) при температуре от около 0 до около 25°C позволяет ввести боковую цепь R^2 с получением соеди-

нений формулы (iii). Желаемый региоизомер соединения далее получают последующей обработкой R¹NH₂ в органическом растворителе (например, ацетонитриле, EtOAc, ТГФ, NMP, диметилсульфоксиде (ДМСО) или сульфолане) в присутствии основания (например, т-бутиламина или карбонате натрия) или кислоте Льюиса (например, ZnCl₂) при повышенной температуре (например, от около 60°C до около 85°C), необязательно под давлением азота, что позволяет ввести боковую цепь R¹ с получением соединений формулы (iv). Перекристаллизация соединений формулы (iv) в системе растворителей (например, 2-пропанол/вода или этанол/вода) дает соединения формулы (iv) с улучшенной чистотой. В одном аспекте, представлены способы получения соединения формулы (iv)



где R¹ является незамещенным C₁₋₈алкилом или замещенным или незамещенным насыщенным гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкилом, R² является незамещенным C₁₋₈алкилом или замещенным или незамещенным гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкилом, где, если гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкильная группа замещена, то эта группа замещена C₁₋₁₀алкилом;

где способ включает взаимодействие соединения формулы (iii),



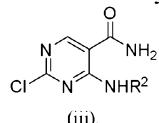
с R¹NH₂ в присутствии основания или кислоты Льюиса, в растворителе,

где указанный растворитель представляет собой диметилсульфоксид (ДМСО), сульфолан, ацетонитрил, N,N-диметилформамид (ДМФ), N,N-диметилацетамид (ДМАц), N-метил-2-пирролидон (NMP), этанол (EtOH), н-пропанол (n-PrOH), изопропиловый спирт (ИПС), н-бутанол (n-BuOH), третбутиanol (t-BuOH), этилацетат (EtOAc), изопропилацетат (ИПА), толуол, 2-метилтетрагидрофуран (МеТГФ), тетрагидрофуран (ТГФ), дихлорметан (ДХМ) или их смесь;

указанным основанием является N,N-диизопропилэтиламин, 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен (ДБУ), триэтиламин, трет-бутиламин, карбонат натрия, карбонат калия, гидрокарбонат натрия, ацетат натрия или фосфат калия;

указанной кислотой Льюиса является ZnCl₂, ZnBr₂, AlCl₃ или Zn(OTf)₂.

В некоторых вариантах способы также включают получение соединения формулы (iii)



где R² является незамещенным C₁₋₈алкилом или замещенным или незамещенным гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкилом,

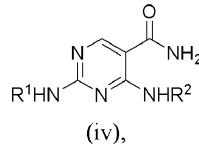
где, если гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкильная группа замещена, то эта группа замещена C₁₋₁₀алкилом;

где способ включает взаимодействие 2,4-дихлорпirimидин-5-карбоксамида с R²NH₂ в присутствии основания в растворителе,

где указанным основанием является N,N-диизопропилэтиламин, карбонат калия, гидроортогофосфат калия, ортофосфат калия или бикарбонат натрия;

растворителем является ТГФ, NMP, вода или их смесь.

В одном аспекте представлены способы очистки соединения формулы (iv)



где R¹ является незамещенным C₁₋₈алкилом или замещенным или незамещенным гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкилом;

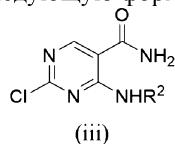
и R² является незамещенным C₁₋₈алкилом или замещенным или незамещенным гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкилом,

где, если гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкильная группа замещена, то эта группа замещена C₁₋₁₀алкилом;

где способ включает 1) растворение соединения формулы (iv) в растворителе при от 60 до 70°C; 2) добавление воды в полученный раствор; 3) охлаждение раствора до от 0 до 25°C; и 4) сбор твердого вещества,

где растворителем является смесь 2-пропанола и воды в объемном соотношении около 3:1, ДМСО или этанол.

Представлены соединения, имеющие следующую формулу (iii):

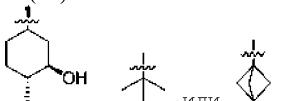


и их таутомеры,

где R² является незамещенным C₁-алкилом или замещенным или незамещенным насыщенным гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкилом,

где, если гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкильная группа замещена, то эта группа замещена C₁₋₁₀алкилом.

В определенных вариантах формулы (iii) R² является



Примеры

Следующие примеры представлены для иллюстрации, не ограничения. В описании примеров применяют следующие аббревиатуры:

АЦН: ацетонитрил

Ам: аморфное

AmPhos: п-диметиламинофенилдибутилfosфин

АФИ: активный фармацевтический ингредиент

Вос: трет-бутоксикарбонил

н-BuOH: н-бутиловый спирт

дба: дibenзилиденакетон

ДБУ: 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундек-7-ен

ДХМ: дихлорметан

ДИПЭА: N,N-дизопропилэтамин

DMAц: N,N-диметилацетамид

ДМФ: N,N-диметилформамид

ДМСО: диметилсульфоксид

ДСК: дифференциальная сканирующая калориметрия

ДСП: динамическая сорбция паров

ЭДТА: тетраацетат этилендиамина

ИЭР: ионизация электрораспылением

EtOAc: этилацетат

EtOH: этанол

FTIR: инфракрасная спектроскопия на основе преобразования Фурье

ВЭЖХ: высокоэффективная жидкостная хроматография

IPA: 2-пропанол

ИПАц: изоропилацетат

ЖХМС: жидкостная хроматография с масс спектроскопией

МЭК: метилэтилкетон

MeOH: метанол

2-МeTГФ: 2-метилтетрагидрофуран

т.пл.: температура плавления

MC: масс спектрометрия

МТБЭ: трет-бутилметиловый эфир

NBS: N-бромсукцинимид

NMP: N-метил-2-пирролидон

ЯМР: ядерный магнитный резонанс

OB: относительная влажность

КТ: комнатная температура

Rx перекристаллизация

P: растворитель

ОДТА: одинарный дифференциальный термический анализ

ИМ: исходный материал

S-SegPhos: (S)-(-)-5,5-бис(дифенилfosфино)-4,4-би-1,3-бензодиоксол

ТА: термический анализ

Tf: трифлат или трифторметансульфонил

ТФК: трифтормукусная кислота

ТФЭ: 2,2,2-трифторметанол

TГА: термогравиметрический анализ

ТГФ-МС/ТГ-МС: термогравиметрический анализ в сочетании с масс спектроскопией

ТГФ: тетрагидрофуран

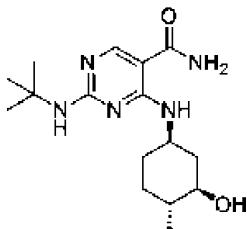
ТСХ: тонкослойная хроматография

ПРД: порошковая рентгеновская дифракция

Примеры синтеза

Далее представлены неограничивающие примеры синтеза, в которых показаны способы получения соединения ACD/NAME (Advanced Chemistry Development, Inc., Ontario, Canada), которое применяют для создания наименований для химических структур и Chemdraw (CambridgeSoft, Perkin Elmer, Waltham, MA) для изображения химических структур.

Пример 1: 2-(трет-Бутиламино)-4-{[(1R,3R,4R)-3-гидрокси-4-метилциклогексил]амино} пирамидин-5-карбоксамид



2-Хлор-4-{[(1R,3R,4R)-3-гидрокси-4-метилциклогексил]амино}пирамидин-5-карбоксамид.

В реактор добавляют гидрохлорид (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола (16,0 кг), 2,4-дихлорпирамидин-5-карбоксамид (19,0 кг), K₂CO₃ (14,9 кг) и ТГФ (160 л) при 25°C. Партию охлаждают до 0°C и добавляют воду (160 л). Партию перемешивают в течение еще 1 ч при 0°C, нагревают до 25°C и выдерживают в течение 16 ч. Добавляют воду (288 л) к партии, сохраняя температуру 25°C и партию охлаждают до 15°C и перемешивают в течение еще 4 ч. Партию фильтруют, дважды промывают водой (2×80 л) и сушат в вакуумной печи при 40°C с выпуском азота в течение 24 ч с получением 2-хлор-4-{[(1R,3R,4R)-3-гидрокси-4-метилциклогексил]амино}пирамидин-5-карбоксамида в виде белого порошка (23,3 кг, 86% выход). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 0,93 (d, J=5,7 Гц, 3H), 0,97-1,29 (m, 4H), 1,63-1,68 (m, 1H), 1,75-1,88 (m, 1H), 2,09-2,13 (m, 1H), 3,00-3,08 (m, 1H), 3,80-3,95 (m, 1H), 4,65 (d, J=5,1 Гц, 1H), 7,69 (шс, 1H), 8,20 (шс, 1H), 8,53 (с, 1H), 9,22 (d, J=7,5 Гц, 1H).

2-(трет-Бутиламино)-4-{[(1R,3R,4R)-3-гидрокси-4-метилциклогексил]амино}пирамидин-5-карбоксамид (соединение 1).

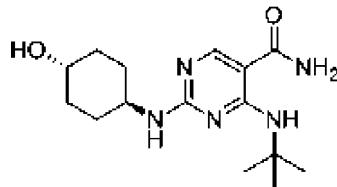
В реактор загружают 2-хлор-4-{[(1R,3R,4R)-3-гидрокси-4-метилциклогексил]амино}пирамидин-5-карбоксамид (41 кг), т-бутиламин (105,3 кг) и ДМСО (205 л). Партию нагревают до 68°C под давление азота 10 ф/д², выдерживают в течение 80 ч и охлаждают до 25°C. Партию фильтруют через 0,45 мкм встроенный фильтр во второй реактор. Партию нагревают до 60°C и воду (205 л) загружают через 0,45 мкм встроенный фильтр. Партию засевают микронизированным соединением 1 (820 г), перемешивают при 60°C в течение более часа и воду (615 л) загружают в партию через 0,45 мкм встроенный фильтр в течение 3 ч при 60°C. Партию перемешивают в течение 1 ч при 60°C, охлаждают до 25°C в течение более 6 ч, фильтруют и промывают водой (410 мл), затем фильтруют через 0,45 мкм встроенный фильтр. Твердые вещества сушат в вакуумной печи при 40°C с выпуском азота в течение более 72 ч с получением 2-(трет-бутиламино)-4-{[(1R,3R,4R)-3-гидрокси-4-метилциклогексил]амино}пирамидин-5-карбоксамида в виде формы А и белого твердого вещества (43,5 кг, 94% выход). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 0,95 (d, J=6,2 Гц, 3H), 0,97-1,28 (m, 4H), 1,37 (с, 9H), 1,60-1,75 (m, 1H), 1,83-2,00 (m, 1H), 2,06-2,26 (m, 1H), 2,86-3,07 (m, 1H), 3,74-4,01 (m, 1H), 4,59 (d, J=5,7 Гц, 1H), 6,65 (шс, 1H), 7,03 (шс, 1H), 7,57 (шс, 1H), 8,36 (с, 1H), 8,93 (шс, 1H).

Перекристаллизация 2-(трет-бутиламино)-4-{[(1R,3R,4R)-3-гидрокси-4-метилциклогексил]амино}пирамидин-5-карбоксамида (соединение 1).

В реактор загружают 2-(трет-бутиламино)-4-{[(1R,3R,4R)-3-гидрокси-4-метилциклогексил]амино}пирамидин-5-карбоксамид (30 г), 2-пропанол (203 мл) и воду (67,5 мл). Партию нагревают до 35°C и фильтруют через 0,45 мкм встроенный фильтр при 35°C во второй реактор. Первый реактор и линию переноса промывают смесью 2-пропанола (33,75 мл) и воды (11,25 мл), затем фильтруют через 0,45 мкм фильтр. Партию нагревают до 70°C и воду (360 мл) загружают через 0,45 мкм встроенный фильтр в партию, сохраняя температуру партии 70°C. Партию охлаждают до 60°C, засевают суспензией соединения 1 (0,9 г) в фильтрованной смеси 2-пропанол:вода (9 мл; 1:9 об./об.) при 60°C. Партию перемешивают при 60°C в течение 30 мин, охлаждают до 0°C, перемешивают при 0°C в течение 14 ч, фильтруют и промывают смесью 2-пропанол:вода (60 мл; 1:9 об./об. 60 мл) через 0,45 мкм встроенный фильтр. Партию сушат в вакуумной печи при 40°C с выпуском азота в течение 72 ч с получением 2-(трет-бутиламино)-4-{[(1R,3R,4R)-3-гидрокси-4-метилциклогексил]амино}пирамидин-5-карбоксамида в виде формы А и белого твердого вещества (26 г, 85% выход). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 0,95 (d, J=6,2 Гц, 3H), 0,97-1,28 (m, 4H), 1,37 (с, 9H), 1,60-1,75 (m, 1H), 1,83-2,00 (m, 1H), 2,06-2,26 (m, 1H), 2,86-3,07 (m, 1H), 3,74-4,01

(м, 1H), 4,59 (д, J=5,7 Гц, 1H), 6,65 (шс, 1H), 7,03 (шс, 1H), 7,57 (шс, 1H), 8,36 (с, 1H), 8,93 (шс, 1H).

Пример 2: 4-(трет-Бутиламино)-2-((транс-4-гидроксициклогексил)амино)пиrimидин-5-карбоксамид



4-(трет-Бутиламино)-2-хлорпиrimидин-5-карбоксамид.

Смесь 2,4-дихлорпиrimидин-5-карбоксамида (10,0 г), ДИПЭА (11 мл) в NMP (30 мл) перемешивают при 25°C. трет-Бутиламин (6,6 мл) добавляют к смеси и смесь перемешивают при 25°C в течение 16 ч. Воду (100 мл) добавляют к смеси при 25°C. Смесь перемешивают в течение 1 ч. Суспензию фильтруют, промывают водой (50 мл) и сушат в вакуумной печи при 40°C с выпуском азота в течение 24 ч с получением 4-(трет-бутиламино)-2-хлорпиrimидин-5-карбоксамида в виде белого твердого вещества (8,7 г, 84%). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 9,41 (с, 1H), 8,55 (с, 1H), 8,19 (с, 1H), 7,67 (с, 1H), 1,42 (с, 9H).

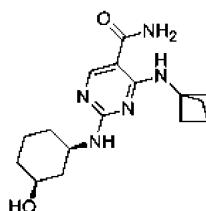
4-(трет-Бутиламино)-2-((транс-4-гидроксициклогексил)амино)пиrimидин-5-карбоксамид.

Смесь 4-(трет-бутиламино)-2-хлорпиrimидин-5-карбоксамида (0,5 г), гидрохлорида транс-4-аминоциклогексанола (0,40 г), Na₂CO₃ (0,28 г) в NMP (3,5 мл) нагревают при 85°C и выдерживают в течение 6 ч. Смесь охлаждают до 35°C и добавляют воду (10 мл). Через 30 мин партию охлаждают до 25°C и выдерживают в течение 1 ч. Суспензию фильтруют, промывают водой (2,5 мл) и сушат в вакуумной печи при 40°C с выпуском азота в течение 24 ч с получением 4-(трет-бутиламино)-2-((транс-4-гидроксициклогексил)амино)пиrimидин-5-карбоксамида в виде белого твердого вещества (0,6 г, 89%). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 9,17 (широкий с, 1H), 8,32 (с, 1H), 7,01 (широкий с, 1H), 4,52 (д, J=4,5 Гц, 1H), 3,70-3,25 (м, 2H), 1,84 (м, 4H), 1,41 (с, 9H), 1,33-1,16 (м, 4H).

Перекристаллизация 4-(трет-бутиламино)-2-((транс-4-гидроксициклогексил)амино)пиrimидин-5-карбоксамида.

Смесь 4-(трет-бутиламино)-2-((транс-4-гидроксициклогексил)амино)пиrimидин-5-карбоксамида (0,2 г) в этаноле (1,0 мл) нагревают до 60°C и выдерживают в течение 30 мин.Добавляют воду (4 мл) в течение более 1 ч. Смесь охлаждают до 25°C в течение 1 ч и выдерживают в течение 1 ч. Суспензию фильтруют, промывают водой (4 мл) и сушат в вакуумной печи при 40°C с выпуском азота в течение 24 ч с получением 4-(трет-бутиламино)-2-((транс-4-гидроксициклогексил)амино)пиrimидин-5-карбоксамида (0,18 г, 90% выход). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 9,17 (широкий с, 1H), 8,32 (с, 1H), 7,01 (широкий с, 1H), 4,52 (д, J=4,5 Гц, 1H), 3,70-3,25 (м, 2H), 1,84 (м, 4H), 1,41 (с, 9H), 1,33-1,16 (м, 4H).

Пример 3: 4-(Бицикло[1.1.1]пентан-1-иламино)-2-(((1R,3S)-3-гидроксициклогексил)амино)пиrimидин-5-карбоксамид



4-(Бицикло[1.1.1]пентан-1-иламино)-2-хлорпиrimидин-5-карбоксамид.

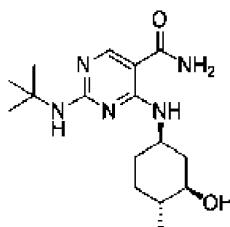
Смесь 2,4-дихлорпиrimидин-5-карбоксамида (2 г), гидрохлорида бицикло[1.1.1]пентан-1-амина (1,18 г), бикарбоната натрия (1,75 г) и NMP (10 мл) перемешивают при 25°C в течение 24 ч.Добавляют воду (10 мл), сохраняя температуру реакции менее чем 30°C, и смесь перемешивают при 25°C в течение 2 ч. Суспензию фильтруют и промывают NMP:водой (1:1 10 мл), затем водой (2×10 мл) и сушат в вакуумной печи при 40°C с выпуском азота с получением 4-(бицикло[1.1.1]пентан-1-иламино)-2-хлорпиrimидин-5-карбоксамида в виде белого твердого вещества (1,97 г, 83% выход). ¹H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 2,14 (с, 6H), 2,51-2,53 (м, 1H), 7,76 (шс, 1H), 8,23 (шс, 1H), 8,60 (с, 1H), 9,57 (с, 1H).

4-(Бицикло[1.1.1]пентан-1-иламино)-2-(((1R,3S)-3-гидроксициклогексил)амино)пиrimидин-5-карбоксамид.

Смесь 4-(бицикло[1.1.1]пентан-1-иламино)-2-хлорпиrimидин-5-карбоксамида (44 г), (1S,3R)-3-аминоциклогексанола (27,6 г), карбоната калия (38,2 г) и ДМСО (300 мл) нагревают при 85°C в течение 12 ч. После охлаждения до комнатной температуры добавляют воду (2 л) и смесь ТГФ и EtOAc (1:1, 2 л). Водную fazу отделяют и органический слой промывают насыщенным раствором соли (2 л). Органический слой концентрируют при пониженном давлении с получением неочищенного продукта в виде фиолетовой пены, которую растирают с горячим ацетонитрилом (1 л). После охлаждения до комнатной температуры твердое вещество фильтруют и промывают ацетонитрилом (200 мл). Твердые вещества сушат в вакуумной печи при 50°C с получением 4-(бицикло[1.1.1]пентан-1-иламино)-2-(((1R,3S)-3-гидроксициклогексил)амино)пиrimидин-5-карбоксамида в виде беловатого твердого вещества (4 г, 79%

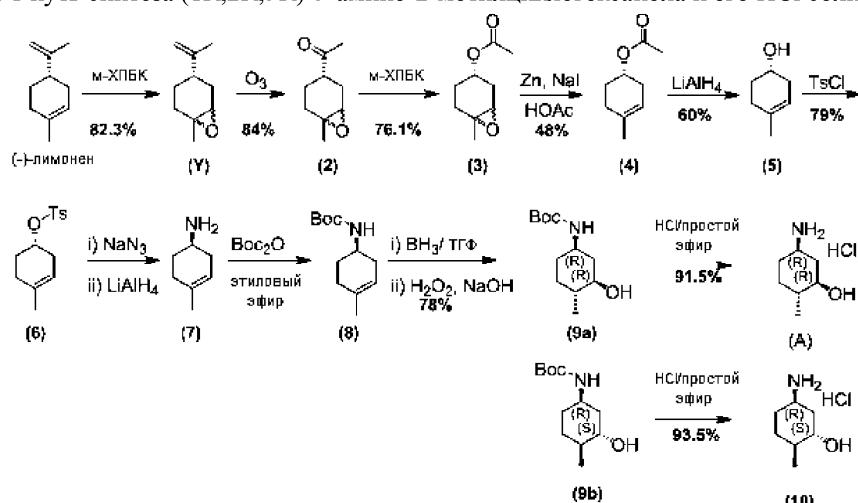
выход). ^1H ЯМР (ДМСО-d₆) δ 0,91-1,31 (м, 4H), 1,60-1,89 (м, 3H), 2,01-2,20 (м, 7H), 3,34 (с, 1H), 3,37-3,52 (м, 1H), 3,58-3,85 (м, 1H), 4,65 (д, $J=4,3$ Гц, 1H), 6,90 (шс, 1H), 7,20 (д, $J=7,9$ Гц, 1H), 7,61 (шс, 1H), 8,37 (с, 1H), 9,23 (с, 0,14H), 9,41 (с, 0,86H).

Пример 4: 2-(трет-бутиламино)-4-((1R,3R,4R)-3-гидрокси-4-метилциклогексиламино)пиридин-5-карбоксамид



Смесь 2-хлор-4-((1R,3R,4R)-3-гидрокси-4-метилциклогексиламино)пиридин-5-карбоксамида (4 г), трет-бутиламина (14 мл) и ДМСО (20 мл) нагревают до 68°C и выдерживают в течение 60 ч. После охлаждения до комнатной температуры, добавляют воду (20× об., 80 мл) в течение более 2 ч. Суспензию перемешивают в течение 2 ч и неочищенный продукт собирают в виде полусольвата в ДМСО 2-(трет-бутиламино)-4-((1R,3R,4R)-3-гидрокси-4-метилциклогексиламино)пиридин-5-карбоксамида (форма Н) фильтрованием с отсасыванием.

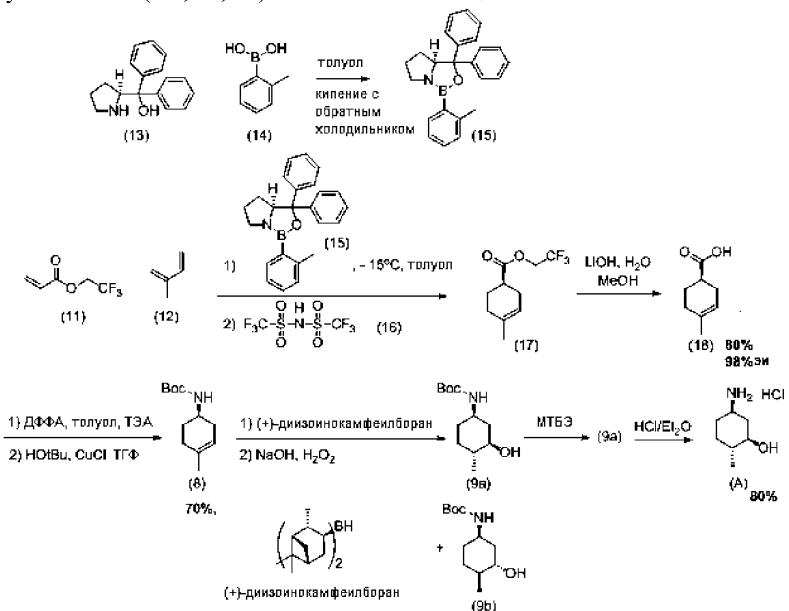
Пример 5: 1 путь синтеза (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли



Путь 1 применяют для получения (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли, начиная с лимонена. Эпоксидирование (-)-лимона с м-ХПБК дает соединение (Y). Расщепление двойной связи в соединении (Y) с O_3 с последующим окислением Байера-Виллигера дает соединение (3). Эпоксид соединения (3) превращают обратно в алкен (4).

Восстановительный гидролиз ацетильной группы в соединении (4) дает спирт (5). Хиальный центр соединения (5) инвертируют последовательно тозилированием, добавлением азота и восстановлением с получением соединения (7). Защита соединения (7) Boc_2O дает соединение (8). Транс гидроксильную группу устанавливают гидроборированием/окислением соединения (8) с получением 1:1 смеси диастереомеров соединения (9a) и (9b). Диастереомеры разделяют хиальным СЖХ с получением соединения (9a). Снятие защиты с соединения (9a) кислотой, такой как HCl, дает HCl соль (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола (A).

Пример 6: 2 путь синтеза (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанол и его HCl соли



Путь 2 применяют для получения (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли, начиная с изопрена. Путь 2 имеет общее промежуточное соединение (8) с путем 1. Асимметрическая реакция Дильса-Альдера изопрена (12) и сложного эфира (11) в присутствии катализаторов (15) и (16) дает соединение (17) с >98% эн. Катализатор (15) получают взаимодействием соединения (13) и соединения (14). Гидролиз соединения (17) с основанием, таким как LiOH или NaOH, дает кислоту (18). Перегруппировка Курциуса соединения (18) с дифенилfosфорилазидом (ДФФА) с последующим добавлением т-бутанола дает соединение (8) с сохранением стереохимии. Транс гидроксильную группу вводят гидроборированием/окислением соединения (8) с получением смеси диастереомеров соединения (9a) и (9b). Если в качестве гидроборирующего агента применяют (+)-диизопинокамфилборан, который получают из (-)-альфа-пинена и сульфида боранметила, получают соотношение 5-8:1 соединения 9a и 9b. Диастереомеры разделяют перекристаллизацией с МТБЭ с получением соединения 9a. Снятие защиты с соединения 9a с кислотой дает HCl соль (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола.

(А). Энантиомерная чистота может быть далее улучшена перекристаллизацией в 2-пропаноле.

Некоторые условия реакции влияют на энантиоселективность во время образования соединения (17).

Загрузка трифлимида (16): загрузка трифлимида (16) должна быть менее чем загрузка катализатора (15). Как показано в таблице ниже, энантиоселективность и превращение были выше при избытке катализатора (15) по отношению к трифлимиду (16), например, 0,3 экв.:0,2 экв., 0,24 экв.:0,20 экв. и 0,24 экв.:0,15 экв. соответственно. Однако загрузка всего 0,05 экв. трифлимида в указанные выше завершенные реакции дает соединение (17) с различным % эн. Если общее количество трифлимида (16) ниже, чем катализатора (15), как указано в столбце 1 и 2, не наблюдается уменьшение эн. Если общее количество трифлимида (16) выше, чем катализатора (15), как указано в столбце 3 и 4, эн соединения (17) снижается до 50% в пределах одного часа и затем до 0% через 2,5 ч. Если количество катализатора (15), (0,18 экв.) ниже, чем трифлимида (16) (0,20 экв.) в начале реакции, соединение (17) имеет 50% эн в момент времени 1 ч и полностью рацемизируется через 16 ч. (столбец 5).

Соединение (15)	0,24 экв.	0,30 экв.	0,24 экв.	0,24 экв.	0,18 экв.
трифлимид (16)	0,15 экв.	0,20 экв.	0,20 экв.	0,20 экв.	0,20 экв.
добавка	н/п	н/п	3% пролинол (13)	5% бороновая кислота (14)	н/п
Превращение (% э.и.)	100 (98%)	100 (98%)	100 (98%)	100 (98%)	100 (0%)
Добавленный трифлимид (16)	0,05 экв.	0,05 экв.	0,05 экв.	0,05 экв.	
% э.и. 1 ч 0°C	98%	98%	50%	50%	
% э.и. 2,5 ч кт	98%	98%	0%	0%	

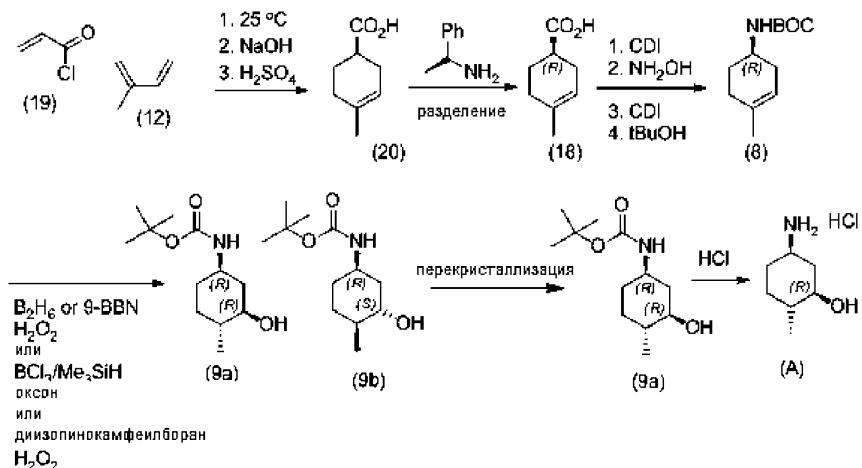
Загрузка катализатора: загрузка катализатора (15) составляет 5-20% моль. Если реакцию проводят при -20°C, соединение (17) имеет 99% э.и. независимо от загрузки катализатора.

Катализатор (15) (% моль)	Время реакции (ч)	Превращение (%)	Выход растворителя (%)	Соединение (17) % э.и.
20	9	98	83	99
10	18	97	84	99
5	24	94	82	99

Температура реакции: более высокая температура реакции ведет к более низкой энантиоселективности. Предпочтительно проводить реакцию при температуре ниже -20-0°C для получения % э.и. >98%.

Температура реакции	Соединение (17) % э.и.
-20°C	99
0°C	98
20°C	97

Пример 7: 3 путь синтеза (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли

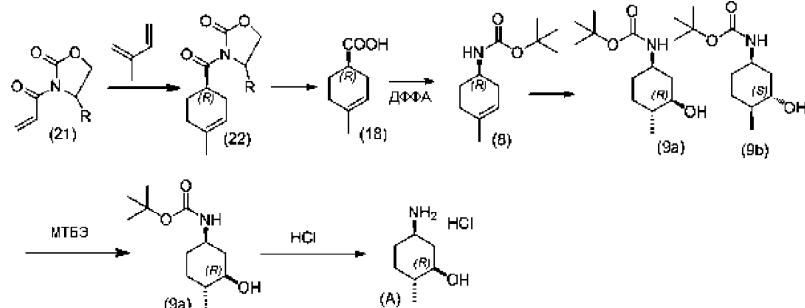


Путь 3 может применяться для получения (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли, начиная с изопрена.

Реакция Дильса-Алдера изопрена и ацилхлорида (19) дает рацемическое соединение (20). Разделение соединения (20) с хиральным амином, таким как (S)- или (R)-фенилэтанамин, дает энантиомерно обогащенную кислоту (18). Согласно методике 2 пути перегруппировки Курциуса соединения (18) дает соединение (8) при сохранении стереохимии. Другие реагенты, отличные от дифенилfosфорилазида,

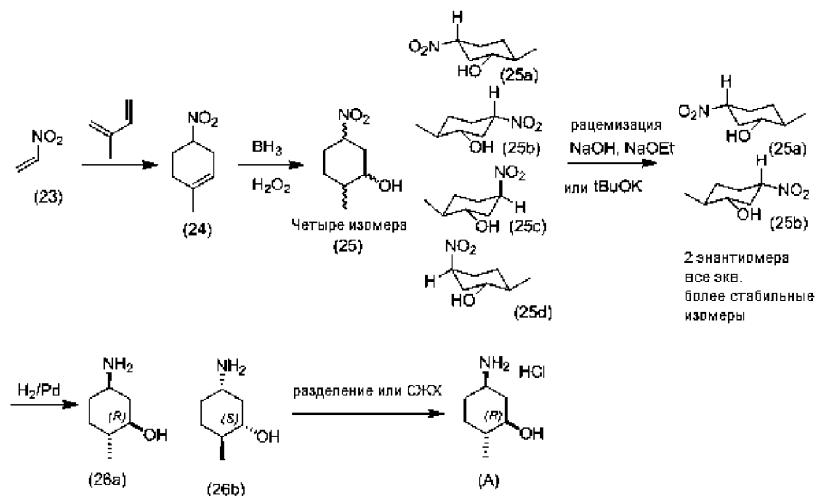
такие как CDI/NH₂OH/tBuOH, могут применяться в реакции перегруппировки Курциуса. Транс гидроксильную группу вводят гидроборированием/окислением соединения (8) с получением смеси диастереоизомеров соединения (9a) и (9b). Если в качестве агента гидроборирования применяют (+)-диизопинокамфеилборан, получают соотношение ~5-8:1 соединения (9a) и (9b). Диастереоизомеры разделяют перекристаллизацией с МТБЭ с получением соединения (9a). Снятие защиты с соединения (9a) с кислотой, такой как HCl, дает (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанол, HCl соль (A).

Пример 8: 4 путь синтеза (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли



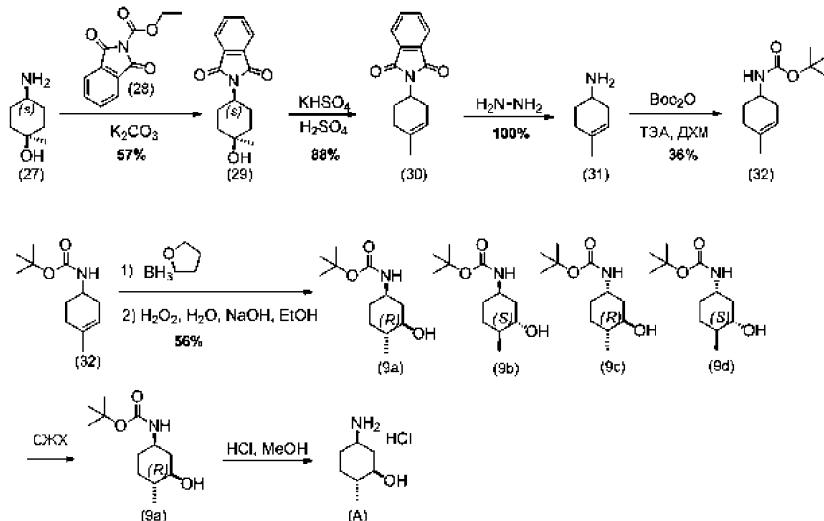
Путь 4 может применяться для получения (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли, начиная с изопрена. Реакция Дильса-Алдера хирального соединения (21) ($R=iPr, CH_2Ph$) и изопрена дает соединение (22). Гидролиз соединения (22) дает промежуточное соединение (18). Перегруппировку Курциуса соединения (18) дает соединение (8) как во 2 пути. Транс гидроксильную группу вводят гидроборированием/окислением соединения (8) с получением смеси диастереоизомеров соединения (9a) и (9b). Если в качестве агента гидроборирования применяют (+)-диизопинокамфеилборан, получают соотношение ~5-8:1 соединения (9a) и (9b). Диастереоизомеры разделяют перекристаллизацией с МТБЭ с получением соединения (9a). Снятие защиты с соединения 5 с кислотой дает (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанол, HCl соль (A).

Пример 9: 5 путь синтеза (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли



Путь 5 может применяться для получения (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли, начиная с нитроэтена (23) и изопрена. Реакция Дильса-Алдера нитроэтена (23) и изопрена дает рацемическое соединение (24). Транс гидроксильную группу вводят гидроборированием/окислением соединения (24) с получением смеси четырех диастереоизомеров соединения (25a-d). Диастереоизомеры (25) обрабатывают основанием, таким как NaOH, NaOEt или KOtBu, с получением смеси двух энантиомеров (25a) и (25b). Восстановление нитрогруппы (25a) и (25b) дает амины (26a) и (26b). Соединения (26a) и (26b) разделяют разделением или хиральной СЖХ с получением (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола или его HCl соли (A).

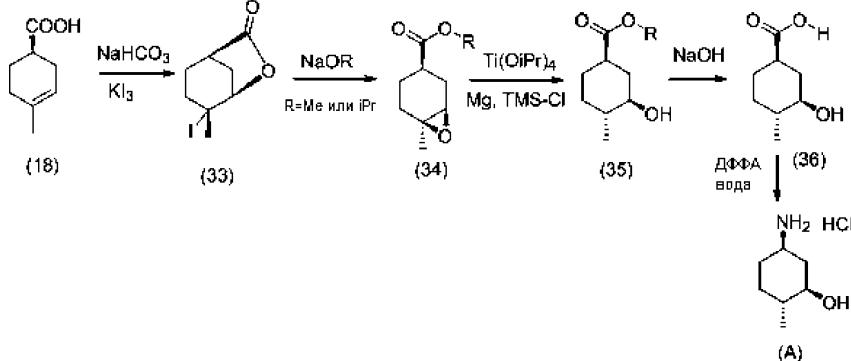
Пример 10: 6 путь синтеза (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли



Путь 6 может применяться для получения (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли, начиная с амина (27). Как описано в публикации международной заявки на патент WO 2012/145569, защита амина (27) соединением (28) дает фталимид (29). Дегидратация с кислотой, такой как $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{KHSO}_4$, дает алken (30). Снятие защиты с соединения (30) дает амин (31). Амин защищают с получением рацемического соединения (32). Транс гидроксильную группу вводят гидроборированием/окислением соединения (32) с получением смеси четырех диастереомеров (9a-d). Соединение 9a очищают хиральной CJX как описано в 1 пути.

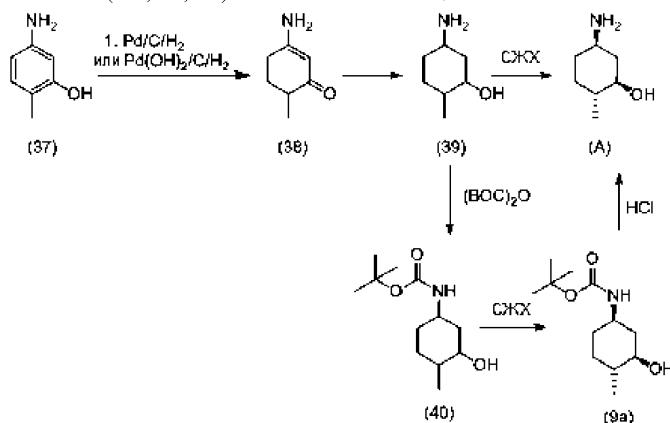
Снятие защиты с соединения 9a с кислотой, такой как HCl, дает (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанол, HCl соль (A).

Пример 11: 7 путь синтеза (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли



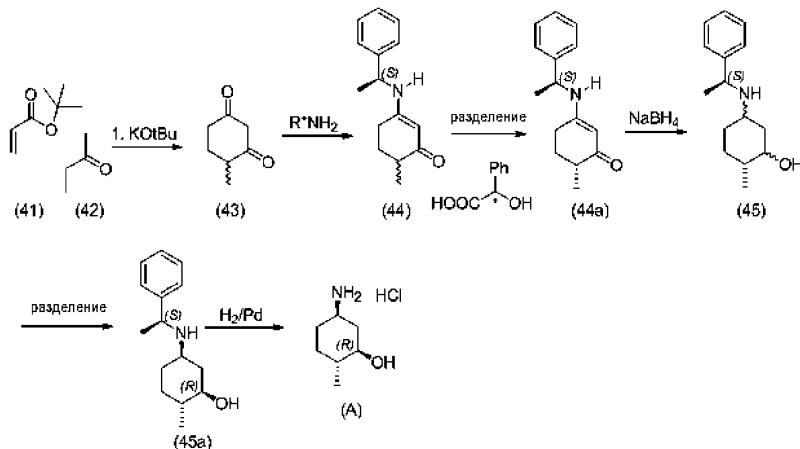
Путь 7 может применяться для получения (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли, начиная с (R)-кислоты (18), которая может быть получена, как описано в пути 2. Йодлактонизация соединения (18) дает лактон (33). Реакция соединения (33) с аллоксидом, таким как NaOMe или NaO*i*Pr, дает эпоксид (34). Эпоксид раскрывают $\text{Ti}(\text{O}i\text{Pr})_4/\text{Mg}/\text{TMS-Cl}$ с получением соединения (35). Гидролиз (35) с последующей перегруппировкой Курциуса соединения (36) дает (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанол или его HCl соль.

Пример 12: 8 путь синтеза (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли



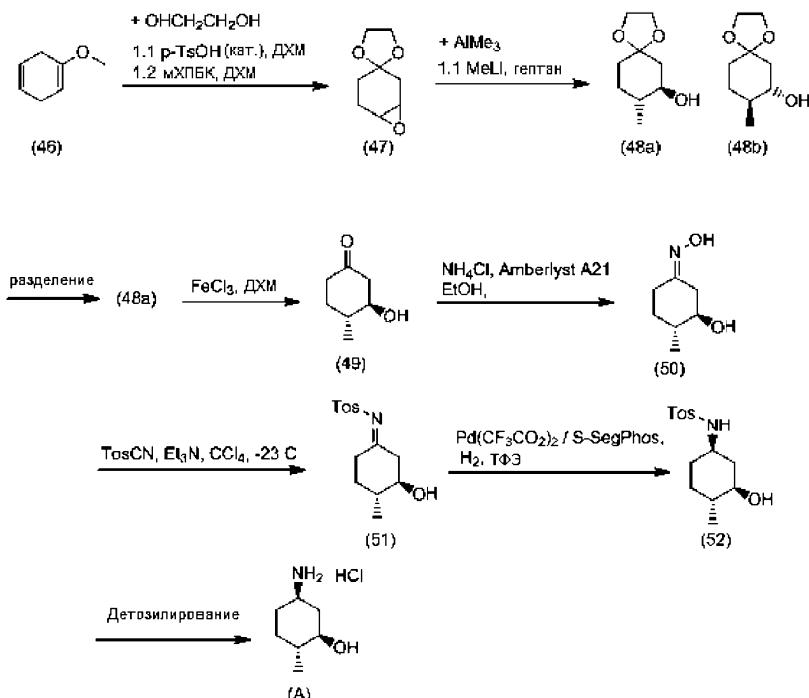
Путь 8 может применяться для получения (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли, начиная с анилина (37). Восстановление (37) катализитическим гидрированием дает соединение (38). Восстановление соединения (38) восстанавливающим агентом, таким как NaBH₄, дает соединение (39). Очистка соединения (39) хиральной СЖХ дает (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанол или его HCl соль (A). Альтернативно, амин соединения (39) защищают Вос группой с получением смеси диастереомеров (40). Соединение (40) очищают хиральной СЖХ с получением соединения (9a). Снятие защиты с соединения (9a) кислотой, такой как HCl, дает (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанол, HCl соль (A).

Пример 13: 9 путь синтеза (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли



Путь 9 может применяться для получения (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли, начиная с метилиэтилкетона. Реакция соединения (41) и соединения (42) дает дикетон (43). Хиральный амин, такой как (S)-фенилэтанамин или (R)-фенилэтанамин, добавляют к кетону с получением соединения (44). Разделение соединения (44) дает энантиомерно обогащенное соединение (44a). Восстановление соединения (44a) дает смесь диастереомеров (45). Соединение (45a) очищают хиральной СЖХ или разделением. Снятие защиты гидрированием с соединения (45a) дает (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанол или его HCl соль (A).

Пример 14: 10 путь синтеза (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли



Путь 10 может применяться для получения (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанола и его HCl соли, начиная соединения (46). Образование кетала с последующим эпоксидированием соединения (46) дает соединение (47). Транс спирт вводят раскрытием эпоксида с AlMe₃/MeLi с получением соединения (48a) и соединения (48b). Соединение (48a) очищают хиральной СЖХ или разделением. Снятие защиты с соединения (48a) дает кетон (49). Взаимодействие соединения (49) с гидроксиламином дает гидроксиламин (50). Тозилирование соединения (50) дает тозилимин (51). Асимметрическое восстановление соединения (51) с Pd(CF₃CO₂)₂/S-SegPhos/H₂/TФЭ или другими хиральными катализаторами дает тозиламин

(52). Снятие защиты с соединения (52) дает (1R,2R,5R)-5-амино-2-метилциклогексанол или его соль (A).

Твердые формы

Аналитические методы

Полиморфный скрининг соединения 1 проводят для того, чтобы исследовать возможность образования различных твердых форм в различных условиях, например при разных растворителях, изменении температуры и влажности.

Растворителями, применяемым в полиморфном скрининге, имеют степень чистоты для ВЭЖХ или для анализа, и включают н-БиОН, ацетон, АЦН, АЦН/воду, ДХМ, ДМСО, EtOAc, EtOH, EtOH/воду, гептан, гептан, ИПС, МЭК, MeOH, МТБЭ, ТГФ, ТГФ/воду, толуол и воду.

Все твердые образцы, полученные в полиморфном скрининге, анализируют ПРД. ПРД анализ проводят на порошковом рентгеновском дифрактометре PANalytical Empyrean или Thermo ARL X'TRA с применением облучения Cu K α при 1,54 Å.

Инструмент PANalytical Empyrean оборудован остро сфокусированной рентгеновской трубкой. Напряжение и силу тока генератора рентгеновских лучей устанавливают на 45 кВ и 40 мА, соответственно. Щели расходимости устанавливают на 1/16° и 1/8° и приемные щели устанавливают на 1/16°. Дифрагированное излучение измеряют с применением детектора Pixel 2D. Непрерывное сканирование тэта-два тэта устанавливают с шагом 0,013 или 0,026 от 3° до 40° 2θ со скоростью формования образца 4. Спеченый стандарт из двуокиси алюминия применяют проверки положения пиков.

Инструмент Thermo ARL X'TRA оборудован остро сфокусированной рентгеновской трубкой. Напряжение и силу тока генератора рентгеновских лучей устанавливают на 45 кВ и 40 мА, соответственно. Щели расходимости устанавливают на 4 мм и 2 мм и мерные щели устанавливают на 0,5 мм и 0,2 мм. Дифрагированное излучение измеряют с применением детектора твердого состояния Peltier-cooled Si (Li). Применяют непрерывное сканирование тэта-два тэта 2,40°/min (0,5 сек/0,02° шаг) от 1,5° до 40° 2θ. Спеченый стандарт из двуокиси алюминия применяют проверки положения пиков.

ДСК анализ проводят на сканирующем калориметре TA Discovery Differential Scanning Calorimeter. Индий применяют в качестве калибровочного стандарта. Приблизительно 2-5 мг образца помещают на лоток ДСК. Образец нагревают под азотом со скоростью 10°C/мин вплоть до конечной температуры 300°C. Температуры плавления записывают как экстраполированные температуры перехода.

ТГА анализ проводят на TA Discovery Thermogravimetric Analyzer. Оксалат кальция применяют для проверки рабочих характеристик. Приблизительно 2-10 мг точно взвешенного образца помещают на лоток и загружают в печь ТГА. Образец нагревают под азотом со скоростью 10°C/мин вплоть до конечной температуры 300°C.

Морфологический анализ образцов проводят на СЭМ Even Mini. Небольшие количества образцов диспергируют на держателе для образца и затем покрывают золотом и рассматривают с 500× увеличением.

Гигроскопичность определяют на ДСП Surface Measurement Systems. Обычно образец размером 5-20 мг загружают в лоток инструмента ДСП и образец анализируют на ДСП анализаторе с автоматической сорбцией при комнатной температуре.

Относительную влажность повышают от 0 до 90% ОВ с шагом 10% ОВ, затем до 95% ОВ. Относительную влажность затем снижают таким же образом для получения полного цикла адсорбции/десорбции.

¹H ЯМР спектр получают на спектрометре ЯМР Bruker 300 МГц. Образцы растворяют в ДМСО-d₆ и анализируют с 32 сканами.

Эксперименты с уравновешиванием/сuspension и выпариванием

Эксперименты с уравновешиванием (также называемые экспериментами с суспензией) и выпариванием проводят добавлением избытка соединения 1 к 2 мл тестируемого растворителя. Полученную смесь перемешивают в течение по меньшей мере 24 ч при комнатной температуре и 50°C по отдельности. При достижении равновесия насыщенную надосадочную жидкость удаляют, фильтруют с применением 0,45 мкм ПТФЭ фильтров и выпаривают в открытой пробирке под азотом при комнатной температуре и 50°C, соответственно. Твердое вещество, полученное при уравновешивании, выделяют и сушат на воздухе перед проведением анализа.

Эксперименты с уравновешиванием проводят при комнатной температуре и 50°C с применением формы А в качестве исходного материала. Результаты суммированы в табл. 1. Твердые вещества, выделенные из МТБЭ, гептана и воды, подтверждают как форму А рентгенограммой ПРД. Все другие растворители дают новые формы. Твердые вещества, выделенные из ацетона, ДХМ, ТГФ и ТГФ/воды, обозначены как форма В. Твердые вещества, выделенные из EtOH/воды, EtOH, АЦН, АЦН/воды и ИПС, обозначены как форма С. Твердые вещества, выделенные из MeOH, обозначены как форма D. Твердые вещества, выделенные из н-БиОН, обозначены как форма E. Твердые вещества, выделенные из толуола, обозначены как форма F. Твердые вещества, выделенные из EtOAc, обозначены как форма G. Твердые вещества, выделенные из ДМСО, обозначены как форма H. Все формы кроме формы А определены как сольватированные во время дальнейшего определения характеристик.

Таблица 1. Эксперименты с уравновешиванием формы А
при комнатной температуре и 50°C

Растворитель	Форма по ПРД	
	КТ	50°C
Ацетон	B	A+B
АЦН	C	C
АЦН/H ₂ O (1:1)	C	C
н-БиОН	E	-
EtOH	C	-
EtOH/H ₂ O (1:1)	C	-
MeOH	D	-
ИПС	C	-
EtOAc	G	-
МЭК	C	B
ДХМ	B	-
МТБЭ	A	A
гептан	A	A
толуол	F	F
ТГФ	B	-
ТГФ/H ₂ O (1:1)	B	-
H ₂ O	A	A

-: не проводится

Эксперименты с выпариванием проводят при комнатной температуре и 50°C. Результаты суммированы в табл. 2. Растворители, которые оказали достаточную растворимость для формы А, дают такие же сольваты, которые получены во время экспериментов с уравновешиванием.

Таблица 2. Эксперименты с выпариванием формы А
при комнатной температуре и 50°C.

Растворитель	Форма по ПРД	
	КТ	50°C
Ацетон	-	-
АЦН	-	-
АЦН/H ₂ O (1:1)	C	C
н-БиОН	-	E
EtOH	C	C
EtOH/H ₂ O (1:1)	C	A
MeOH	D	D
ИПС	C	C
EtOAc	G	G
МЭК	-	-
ДХМ	-	-
МТБЭ	-	-
гептан	-	-
толуол	-	-
ТГФ	B	B
ТГФ/H ₂ O (1:1)	B	B
H ₂ O	-	-

-: не анализируется

Эксперименты с перекристаллизацией из антирастворителя и перекристаллизацией с охлаждением

Для перекристаллизации с охлаждением каждый из выбранных растворителей (MeOH, EtOH, EtOH/вода) насыщают соединением 1 при 60°C. Раствор перемешивают при 60°C в течение 10 мин, фильтруют с применением 0,45 мкм ПТФЭ шприцевого фильтра и затем охлаждают до комнатной температуры естественным путем и затем помещают в холодильник. Твердое вещество, полученное при перекристаллизации, выделяют и сушат на воздухе до анализа.

Для перекристаллизации из антирастворителя выбранные растворители (MeOH, EtOH, ИПС и EtOAc) насыщают соединением 1 при 60°C. Как только твердое вещество полностью растворится, часть раствора фильтруют в предварительно нагретую пробирку и добавляют выбранный антирастворитель (воду, МТБЭ или гептан) при 60°C. Смесь охлаждают до комнатной температуры естественным путем и затем помещают в холодильник. Твердое вещество, получаемое при перекристаллизации, выделяют и сушат на воздухе до анализа.

MeOH, EtOH, EtOH/воду, ИПС и EtOAc применяют в качестве единственного или первичного растворителей. Воду, МТБЭ и гептан применяют в качестве антирастворителя. Результаты суммированы в табл. 3. Только кристаллизации с применением воды качестве антирастворителя дают форму А. Все другие растворители или сочетания растворителей дают такие же сольватированные формы, которые получают в эксперименте с уравновешиванием.

Таблица 3. Обобщенные результаты экспериментов с перекристаллизацией

Первичный растворитель	Антирастворитель	Отношение растворителей	Форма по ПРД
MeOH	н/п	н/п	D
EtOH	н/п	н/п	C
EtOH/H ₂ O (1:1)	н/п	н/п	C
MeOH	вода	1:9	A
MeOH	МТБЭ	1:9	D
EtOH	вода	1:9	A
EtOH	МТБЭ	1:9	A+C
EtOH	гептан	1:9	C
EtOH	АЦН	1:9	C
ИПС	гептан	1:9	A+B+C
EtOAc	МТБЭ	1:9	G
EtOAc	гептан	1:9	G

н/п: не применяется.

Дополнительные эксперименты проводят с применением ДМСО в качестве первичного растворителя. Выделенные твердые вещества являются новой формой и обозначены как форма Н.

Эксперименты с превращением

Дальнейшие эксперименты с превращением форм проводят для определения взаимопревращения между твердыми формами. Результаты суммированы в табл. 4. Сольватированные формы изотермически выдерживают при 150°C в течение 5 мин, и полученные твердые вещества соответствуют форме А. Все водные суспензии также дают форму А.

Таблица 4. Эксперименты с превращением соединения 1

Исходная твердая форма (ы)	Растворитель/условия	Температура/условия	Результат ПРД
Форма В	Нагревание	Изотермическое выдерживание при 150°C в течение 5 мин	Форма А
Форма С	Нагревание	Изотермическое выдерживание при 150°C в течение 5 мин	Форма А

Форма D	Нагревание	Изотермическое выдерживание при 150°C в течение 5 мин	Форма A
Форма E	Нагревание	Изотермическое выдерживание при 150°C в течение 5 мин	Форма A
Форма F	Нагревание	Изотермическое выдерживание при 150°C в течение 5 мин	Форма A
Форма G	Нагревание	Изотермическое выдерживание при 150°C в течение 5 мин	Форма A
Форма H	Нагревание	Изотермическое выдерживание при 150°C в течение 5 мин	Форма A
Форма В	Суспензия в воде	КТ, 5 дней	Форма A
Форма С	Суспензия в воде	КТ, 5 дней	Форма A
Форма D	Суспензия в воде	КТ, 5 дней	Форма A
Форма Е	Суспензия в воде	КТ, 5 дней	Форма A
Форма F	Суспензия в воде	КТ, 5 дней	Форма A
Форма G	Суспензия в воде	КТ, 5 дней	Форма A
Форма H	Суспензия в воде	КТ, 5 дней	Форма A

Краткое описание полиморфных форм

Всего восемь кристаллических форм для соединения 1 было найдено во время данного полиморфного скрининга. Суммарный график рентгенограмм ПРД для этих форм показан на фиг. 37 и физические характеристики суммированы в табл. 5.

Таблица 5. Суммарные физические характеристики кристаллических форм соединения 1

Форма	Описание	Типовые условия	Наступление или пик ДСК (°C)	Потеря ТГА (% масс.)	ДСП или другие комментарии
A	не стехиометрический направленный гидрат	Rx из насыщенной водой системы растворителей	223 (начало)	0,5	1,2% масс. поглощение воды при 0 до 95% ОВ; 1,0% масс. при 80% ОВ
B	сольват	Суспензия или Rx из ацетона (или ДХМ, ТГФ)	147 (незначительное эндо), 223 (начало)	8,5	н/п
C	сольват	Суспензия или Rx из EtOH/воды (или EtOH, АЦН, ИПС)	143 (незначительное эндо), 224 (начало)	7,3	н/п
D	сольват	Суспензия или Rx из MeOH	171 (незначительное эндо), 223 (начало)	~4	н/п
E	сольват	Суспензия в n-BuOH	124 (незначительное эндо), 224 (начало)	10,3	н/п
F	сольват	Суспензия в толуоле	113 (незначительное эндо), 223 (начало)	6,9	н/п
G	сольват	Суспензия или Rx из EtOAc	116 (незначительное эндо), 223 (начало)	11,9	н/п
H	сольват	Суспензия в ДМСО	160 (незначительное эндо), 222 (начало)	11,2	н/п
I	сольват	Rx из сульфолана и воды (1:1).	118 (незначительное эндо), 213 (т. пл.)	н/п	н/п
аморфная		обработка теплом	температура стеклования: 106,6	н/п	н/п

н/п: не применяется

Форма А

Форма А является кристаллической твердой формой в виде не стехиометрического направленного гидрата соединения 1. Эту форму преимущественно получают в эксперименте с перекристаллизацией или суспензией в водной или "насыщенной водой" системе растворителей.

Форма А также может быть получена превращением из формы Н. Смесь неочищенной формы Н (4 г) и воды (40 мл) нагревают до 70°C в течение 3 ч. После охлаждения до комнатной температуры продукт собирают фильтрованием с отсасыванием. Влажную лепешку сушат в вакуумной печи при 40°C с выпуском азота в течение 16 ч с получением 2-(трет-бутиламино)-4-((1R,3R,4R)-3-гидрокси-4-метилциклогексиламино)пиридин-5-карбоксамида в виде формы А и белого твердого вещества (3,54 г, 80%).

Влияние температуры (22-70°C) и композиции воды в ДМСО (50-88%) на стабильность формы А и формы Н соединения 1 представлено в табл. 6 и на фиг. 45. Эта информация показывает, что форма А является термодинамически стабильной формой в насыщенной водой смеси вода/ДМСО (>70%).

Температура	% воды в ДМСО (стабильная полиморфная форма)						
	50%	60%	67%	70%	80%	86%	88%
70°C	A						
60°C	A	A		A	A		
40°C	H	A/H		A	A		
22°C	A/H	H	H	A	A	A	A

Форма А предпочтительна при 60°C от 1:1 (50% воды) до 1:4 ДМСО: вода (80% воды) и остается в виде формы А при 22°C в 70-88% воды в ДМСО. 70% воды в ДМСО находится на грани превращения форм между формой А и формой Н. Поэтому конечной композицией растворителя выбирают 80% воды в ДМСО. Эти результаты показывают, что для синтеза соединения 1 с применением 5× объемн. ДМСО, добавление 20× объемн. воды при 60°C к реакционной смеси после завершения реакции будет давать соединение 1 в виде формы А.

Форма А имеет кристаллическую рентгенограмму ПРД, показанную на фиг. 1. Кристаллическая форма является кубической или стержневидной, как показано на фиг. 2. ТГА и ДСК термограммы формы А показаны на фиг. 4 и фиг. 5 соответственно. ДСК термограмма показывает только одно основное событие с температурой начала 223°C, что соответствует плавлению/разложению. Потеря массы по ТГА 0,45% наблюдается вплоть до 150°C. ¹Н ЯМР спектр формы А соответствует структуре соединения 1 (см. фиг. 7). Сорбция/десорбция влаги формой А определяется по ДСП. Результаты суммированы на фиг. 6. Общее изменение массы 2,3% наблюдается при от 0 до 95% ОВ, при изменении намачивания 1,3% при от 0 до 10% ОВ. После прохождения циклов адсорбции/десорбции дифрактограмма ПРД образца не показала изменений (см. фиг. 8). Изменение намачивания при от 0 до 10% ОВ наблюдалась для нескольких образцов, но количество поглощенной воды варьируется между образцами. Общее поглощение воды при 0 до 95% ОВ варьируется от приблизительно 0,5% до 2% для всех проанализированных образцов формы А.

Дальнейшее получение характеристик с применением монокристаллической рентгеновской дифракции проводят для формы А. Структуру разделяют в группе разделителе P2(1)2(1)2(1). Характеристики кристалла и уточнение структуры суммированы в табл. 7. Порошковая рентгенограмма рассчитана и соответствует экспериментальным рентгенограммам ПРД, полученным для формы А, как показано на фиг. 1. Фракционное заполнение молекулами воды было найдено в кристаллической решетке. Заполнение приблизительно на 20% понижает R фактор от 5,2 до 3,6%. Изображение упаковки клетки вдоль оси b показано на фиг. 2, оно отображает направленные молекулы воды в кристаллической решетке. Эти наблюдения позволяют предположить, что форма А является направленным гидратом. Теоретическое содержание воды составляет 1,1 мас.% для 0,2 молярных эквивалентов воды 2,7 мас.% для 0,5 молярных эквивалентов воды.

Таблица 7. Характеристики кристалла и уточнение структуры для формы А

Эмпирическая формула	$C_{16}H_{27}N_5O_2$ (масс./около 0,2 H ₂ O)
Масса формулы	321,43
Температура	100(2) К
Длина волны	0,71073 Å
Кристаллическая система	Орторомбическая
Разделительная группа	P2(1)2(1)2(1)
Размеры ячеек	a=10,2905(15) Å; $\alpha=90^\circ$
b=10,7755(19) Å	$\beta=90^\circ$
c=16,557(2) Å	$\gamma=90^\circ$
Объем	1836,0(5) Å ³
Z	4
Плотность (расчетная)	1,163 г/см ³
Коэффициент абсорбции	0,079 mm ⁻¹
F(000)	696
Размер кристалла	0,35×0,35×0,30 mm ³
Интервал тэта для сбора данных	от 3,68 до 25,43°
Интервалы индексов	-12≤h≤12, -12≤k≤12, -18≤l≤19
Собранные отражения	7480
Независимые отражения	3297 [R(вн)=0,0369]
Законченность до тэта=25,00°	99,5%
Коррекция абсорбции	Multi-scan
Максимальное и минимальное пропускание	0,9766 и 0,9728
Метод уточнения	Метод наименьших квадратов в полноматричном приближении по F2
Данные/ограничения/параметры	3297/2/221
Критерий согласия по F2	1,046
Конечные индексы R [I>2сигма(I)]	R1=0,0365, wR2=0,0868
R индексы (все данные)	R1=0,0433, wR2=0,0910
Абсолютный структурный параметр	0,8(12)
Наибольший дифф. пик и впадина	0,175 и -0,170 e Å ⁻³

Стабильность формы А далее характеризуется испытанием на сжатие и эксперимент по переносу формы. При применении давления 2000 ф/д² в течение около 1 мин материал все еще является формой А с незначительно более широкими пиками дифракции (см. фиг. 9). Результаты экспериментов с переносом формы, представленные в табл. 4, показали, что все сольватированные формы превращаются в форму А при десольватировании при нагревании или в суспензии в воде. Эти результаты позволяют предположить, что форма А является наиболее стабильной или развертывающейся формой соединения 1.

На фиг. 1 представлена рентгенограмма ПРД формы А. Список пиков рентгеновской дифракции для формы А представлен ниже в табл. 8.

Таблица 8. Пики рентгеновской дифракции для формы А

Угол два тэта (°)	d Разделитель (Å)	Относительная интенсивность (%)
9,74	9,0811	3,7
10,55	8,3820	56,2
11,86	7,4633	26,2
12,98	6,8187	6,9
13,61	6,5079	100,0
15,90	5,5750	6,4
16,41	5,4031	2,9
17,20	5,1550	43,0
17,85	4,9706	31,9
18,04	4,9180	42,6
18,54	4,7868	7,8
19,29	4,6003	5,3
19,56	4,5386	15,2
19,84	4,4744	83,5
20,19	4,3989	1,8
21,37	4,1572	15,1
21,83	4,0715	10,8
22,90	3,8842	29,7
23,46	3,7920	8,5
23,84	3,7320	3,6
24,36	3,6537	30,0
24,88	3,5782	4,6
25,29	3,5222	2,3
26,14	3,4093	2,7
26,92	3,3120	2,1
27,83	3,2055	6,8
28,30	3,1538	8,8
28,69	3,1115	1,5
29,21	3,0574	5,6
30,50	2,9314	1,2
31,63	2,8286	2,1
32,11	2,7878	1,5
32,63	2,7444	2,7
33,17	2,7008	0,6
34,32	2,6129	1,1
34,74	2,5826	3,1
36,00	2,4950	1,7
36,56	2,4582	2,7
36,95	2,4330	1,8
37,26	2,4131	1,5
37,61	2,3918	3,3
38,40	2,3442	1,5
39,07	2,3056	2,7
39,34	2,2905	1,5
39,64	2,2739	1,0

На фиг. 3 представлено изображение СЭМ формы А.

Собственная растворимость формы А при 25°C через 24 ч составляет 0,038 мг/мл и 0,289 мг/мл при pH 4,5. Хотя форма А является направленным гидратом, она демонстрирует относительно медленное поглощение воды при комнатной температуре. Однако, форма А может потенциально абсорбировать вплоть до 3% воды после хранения при 40°C/75% ОВ в течение 7 месяцев. Поглощение воды в значительной степени зависит от влажности условий хранения, и поэтому рекомендовано защищать соединение 1 от влаги во время хранения.

Форма В

Форму В получают в экспериментах с перекристаллизацией или суспензией формы А в ацетоне, CH_2Cl_2 или ТГФ. Форма В имеет кристаллическую рентгенограмму ПРД такую, как показана на фиг. 10. ТГА и ДСК термограммы формы В, полученные из ацетона, показаны на фиг. 11 и фиг. 12, соответственно. Потеря массы по ТГА 8,5 мас.% соответствует малому широкому ДСК пику при около 147°C и они может быть отнесена к потере растворителя в форме В. Основной ДСК пик с температурой начала 223°C соответствует плавлению/разложению соответствующей формы А. ^1H -ЯМР спектр, полученный для образца формы В, показал приблизительно 0,5 молярных эквивалентов ацетона (см. фиг. 14). Теоретическое содержание ацетона в полусольвате соединения 1 составляет 8,3 мас.%, что соответствует наблюдаемой по ТГА потере массы. Эти наблюдения позволяют предположить, что форма В является полусольватом в ацетоне соединения 1. Эксперименты с переносом формы при нагревании формы В выше температуры десольватации дают форму А. Суспензия формы В в воде также дает форму А.

Список пиков рентгеновской дифракции для формы В представлен ниже в табл. 9.

Таблица 9 Пики рентгеновской дифракции для формы В

Угол два тэта ($^\circ$)	d Разделитель (\AA)	Относительная интенсивность (%)
9,80	9,0251	100,0
10,30	8,5867	16,4
12,23	7,2379	5,6
14,62	6,0604	10,9
16,70	5,3091	2,0
17,29	5,1285	96,6
18,23	4,8654	25,4
18,59	4,7722	5,3
19,61	4,5268	0,6
20,19	4,3976	2,9
20,66	4,2992	11,4
20,94	4,2425	2,2
21,74	4,0873	96,5
23,03	3,8620	1,4
23,84	3,7327	1,5
24,32	3,6599	2,0
24,58	3,6223	6,0
25,88	3,4425	7,1
26,27	3,3924	6,9
26,86	3,3192	8,3
27,52	3,2411	2,4
28,35	3,1478	4,1
28,62	3,1190	1,2
29,63	3,0155	5,6
30,55	2,9265	9,9
30,87	2,8965	2,2
31,44	2,8459	1,7
32,12	2,7871	0,6
33,71	2,6592	1,2
33,95	2,6407	0,8

34,96	2,5667	1,5
35,94	2,4987	2,1
36,14	2,4855	1,3
36,56	2,4579	1,8
37,22	2,4156	0,6
38,76	2,3230	1,4

На фиг. 13 представлен ^1H ЯМР (ДМСО-d₆) формы В с δ 0,94 (д, J=6,4 Гц, 3Н), 0,96-1,04 (м, 1Н), 1,04-1,28 (м, 3Н), 1,36 (с, 9Н), 1,60-1,74 (м, 1Н), 1,83-1,98 (м, 1Н), 2,09 (с, 3Н, ацетон), 2,10-2,19 (м, 1Н), 2,89-3,04 (м, 1Н), 3,76-3,99 (м, 1Н), 4,57 (д, J=5,5 Гц, 1Н), 6,64 (шс, 1Н), 6,94 (шс, 1Н), 7,51 (шс, 1Н), 8,34 (с, 1Н), 8,93 (шс, 1Н).

Форма С

Форму С получают в экспериментах с перекристаллизацией или суспензией формы А в EtOH/воде, EtOH, АЦН или ИПС. Форма С имеет кристаллическую рентгенограмму ПРД, как показано на фиг. 14. ТГА и ДСК термограммы формы С, полученной из EtOH/воды, показаны на фиг. 15 и фиг. 16, соответственно. Потеря массы по ТГА 7,3 мас.% соответствует малому широкому ДСК пику при около 143°C и она может быть отнесена к потере растворителя в форме С. Основной ДСК пик с температурой начала 224°C соответствует плавлению/разложению формы А. ^1H -ЯМР спектр получают для образца формы С и он показывает приблизительно 0,5 молярных эквивалентов EtOH (см. фиг. 17). Теоретическое содержание EtOH в полусольвате соединения 1 составляет 6,7 мас.%, что соответствует наблюдаемой по ТГА потере массы. Эти наблюдения позволяют предположить, что форма С является полусольватом в этаноле соединения 1. Эксперименты с переносом формы при нагревании формы С выше температуры десольвации дают форму А. Суспензия формы С в воде также дает форму А.

Список пиков рентгеновской дифракции для формы С представлен ниже в табл. 10.

Таблица 10. Пики рентгеновской дифракции для формы С

Угол два тэта (°)	d Разделитель (Å)	Относительная интенсивность (%)
9,83	8,9960	77,7
10,21	8,6630	23,0
12,16	7,2807	13,3
14,66	6,0419	9,6
15,52	5,7080	0,8
16,50	5,3712	1,4
17,26	5,1376	62,2
17,61	5,0354	19,6
17,91	4,9534	8,9
18,18	4,8799	18,5
18,65	4,7591	12,5
19,67	4,5133	1,4
19,99	4,4414	2,9
20,46	4,3399	14,2
21,86	4,0664	100,0
23,32	3,8151	2,9
23,78	3,7416	3,9
24,44	3,6421	8,4
25,65	3,4730	9,8
25,81	3,4520	5,8
26,28	3,3914	8,4
26,72	3,3360	7,9
27,46	3,2481	2,6
28,04	3,1820	1,5
28,30	3,1536	2,6
28,60	3,1210	8,3
29,56	3,0216	5,5
30,47	2,9342	3,7
30,70	2,9127	6,8
31,29	2,8586	2,3
31,77	2,8170	0,8
32,16	2,7830	0,5
32,94	2,7194	0,4
33,55	2,6708	0,9
34,00	2,6367	1,1
34,85	2,5744	0,6
35,14	2,5541	0,5
35,57	2,5238	1,9
35,90	2,5013	1,9
36,62	2,4542	2,2
37,76	2,3828	0,7
38,93	2,3136	1,1

На фиг. 17 представлен ^1H ЯМР (ДМСО-d₆) формы С с δ 0,94 (д, J=6,4 Гц, 3Н), 1,00-1,27 (м, 5,6Н) {включает 1,02 (т, J=7,0 Гц, 1,6Н, этанол)}, 1,36 (с, 9Н), 1,67 (дд, J=3,3, 13,1 Гц, 1Н), 1,81-2,00 (м, 1Н), 2,10-2,24 (м, 1Н), 2,87-3,05 (м, 1Н), 3,32 (с, 4Н), 3,44 (квд, J=5,1, 7,0 Гц, 1Н, этанол), 3,74-3,99 (м, 1Н), 4,35 (т, J=5,1 Гц, 1Н), 4,57 (д, J=5,7 Гц, 1Н), 6,45-6,77 (м, 1Н), 6,92 (шс, 1Н), 7,51 (шс, 1Н), 8,34 (с, 1Н), 8,92 (шс, 1Н).

Форма D

Форму D получают в экспериментах с перекристаллизацией или суспензией формы А в MeOH. форма D имеет кристаллическую рентгенограмму ПРД как показана на фиг. 18. ТГА и ДСК термограммы формы D показаны на фиг. 19 и фиг. 20 соответственно. Потеря массы по ТГА приблизительно 4 мас.% соответствует малому ДСК пику при около 170°C и она может быть отнесена к потере растворителя в форме D. Основной ДСК пик с температурой начала 223°C соответствует плавлению/разложению формы А. ^1H -ЯМР спектр получают для образца формы D и он оказывает приблизительно 0,5 молярных эквивалентов MeOH (см. фиг. 21). Теоретическое содержание MeOH в полусольвате соединения 1 4,7 мас.% такое же, как потеря массы по ТГА. Эти наблюдения позволяют предположить, что форма D наиболее вероятно является полусольватом в метаноле соединения 1.

Эксперименты с переносом формы при нагревании формы D выше температуры десольватации дают форму А. Суспензия формы D в воде также дает форму А.

Список пиков рентгеновской дифракции для формы D представлен ниже в табл. 11.

Таблица 11. Пики рентгеновской дифракции для формы D

Угол два тэта ($^\circ$)	<i>d</i> Разделитель (Å)	Относительная интенсивность (%)
10,37	8,5278	100,0
12,85	6,8897	6,7
13,41	6,6046	42,7
15,68	5,6527	6,5
16,25	5,4562	3,4
17,02	5,2108	9,8
17,54	5,0569	22,7
17,73	5,0013	38,0
18,34	4,8371	3,9
19,52	4,5474	65,5
19,93	4,4550	3,1
20,78	4,2750	9,7
21,09	4,2119	2,6
21,54	4,1252	14,1
22,47	3,9564	42,4
23,11	3,8492	12,0
23,55	3,7780	2,7
23,92	3,7207	37,4
24,51	3,6324	4,7
24,99	3,5627	1,3
25,81	3,4516	2,6
26,47	3,3669	4,0
26,88	3,3167	1,4
27,33	3,2634	8,3

27,83	3,2056	5,5
28,19	3,1659	1,3
28,64	3,1168	6,2
30,08	2,9709	0,7
30,82	2,9013	1,7
31,20	2,8667	3,2
31,60	2,8315	0,8
32,02	2,7952	2,2
32,50	2,7551	4,7
33,58	2,6692	1,6
34,25	2,6183	1,6
35,39	2,5363	0,6
35,87	2,5034	2,8
36,55	2,4588	1,5
36,81	2,4415	2,7
37,06	2,4261	2,1
37,77	2,3820	2,8
38,60	2,3323	1,8

На фиг. 21 представлен ^1H ЯМР (ДМСО-d₆) формы D с δ 0,94 (д, J=6,4 Гц, 3Н), 0,96-1,04 (м, 1Н), 1,05-1,28 (м, 3Н), 1,36 (с, 9Н), 1,67 (дд, J=3,1, 13,1 Гц, 1Н), 1,84-1,97 (м, 1Н), 2,08-2,20 (м, 1Н), 2,86-3,04 (м, 1Н), 3,17 (д, J=5,3 Гц, 1,6Н, метанол), 3,76-3,99 (м, 1Н), 4,09 (кв, J=5,3 Гц, 1Н), 4,57 (д, J=5,5 Гц, 1Н), 6,65 (шс, 1Н), 6,95 (шс, 1Н), 7,47 (шс, 1Н), 8,34 (с, 1Н), 8,93 (шс, 1Н).

Форма Е

Форму Е получают в экспериментах с перекристаллизацией или суспензией формы А в n-BuOH. Форма Е имеет кристаллическую рентгенограмму ПРД как показана на фиг. 22. ТГА и ДСК термограммы формы Е показаны на фиг. 23 и фиг. 24 соответственно. Потеря массы по ТГА 10,3 мас.% соответствует малому широкому ДСК пику при около 124°C и она может быть отнесена к потере растворителя в форме Е. Основной ДСК пик с температурой начала 224°C соответствует плавлению/разложению формы А. ^1H -ЯМР спектр получают для образца формы Е и он показывает приблизительно 0,5 молярных эквивалентов n-BuOH (см. фиг. 25). Теоретическое содержание n-BuOH в полусольвате соединения I 10,3 мас.%, что соответствует наблюдаемой по ТГА потере массы. Эти наблюдения позволяют предположить, что форма Е является полусольватом в n-BuOH соединения I. Эксперименты с переносом формы при нагревании формы Е выше температуры десольватации дают форму А. Суспензия формы Е в воде также дает форму А.

Список пиков рентгеновской дифракции для формы Е представлен ниже в табл. 12.

Таблица 12. Пики рентгеновской дифракции для формы Е

Угол два тэта (°)	d Разделитель (Å)	Относительная интенсивность (%)
8,70	10,1625	3,1
9,92	8,9143	66,8
10,36	8,5380	19,6
11,97	7,3945	10,4
14,50	6,1092	11,3
15,51	5,7126	0,9
16,39	5,4097	6,2
17,29	5,1283	55,7
18,37	4,8287	40,5
19,55	4,5419	3,0
20,10	4,4180	15,6
21,81	4,0760	100,0
23,21	3,8330	3,2
23,45	3,7936	4,6
24,17	3,6830	9,0
24,61	3,6175	1,1
25,44	3,5013	6,4
25,83	3,4496	6,6
26,23	3,3982	6,1
26,45	3,3701	9,5
26,61	3,3495	5,8
27,64	3,2274	2,4
28,48	3,1337	8,4
29,19	3,0593	2,9
29,97	2,9820	5,4
30,39	2,9413	1,3
30,81	2,9025	5,0
31,36	2,8530	2,6
31,66	2,8265	1,1
32,62	2,7454	0,6
33,67	2,6621	2,1
34,75	2,5819	1,2
35,24	2,5467	1,9
35,96	2,4975	1,7
36,48	2,4630	3,4
37,20	2,4169	0,5
37,62	2,3911	0,3
38,93	2,3136	0,6
39,20	2,2983	0,6

На фиг. 25 представлен ^1H ЯМР (ДМСО-d₆) формы Е с δ 0,85 (т, J=7,2 Гц, 1,5Н, н-бутанол), 0,94 (д, J=6,4 Гц, 3Н), 0,96-1,04 (м, 1Н), 1,04-1,25 (м, 3Н), 1,25-1,46 (м, 11Н) {включает 1,36 (с, 9Н), 1,3-1,46 (м, 2Н, н-бутанол)}, 1,67 (дд, J=3,2, 13,0 Гц, 1Н), 1,81-2,00 (м, 1Н), 2,10-2,24 (м, 1Н), 2,86-3,05 (м, 1Н), 3,35-3,44 (м, 1Н, н-бутанол), 3,75-3,99 (м, 1Н), 4,31 (т, J=5,2 Гц, 0,5Н), 4,57 (д, J=5,7 Гц, 1Н), 6,65 (шс, 1Н), 6,97 (шс, 1Н), 7,53 (шс, 1Н), 8,34 (с, 1Н), 8,93 (шс, 1Н).

Форма F

Форму F получают в экспериментах с перекристаллизацией или суспензией формы А в толуоле. Форма F имеет кристаллическую рентгенограмму ПРД как показана на фиг. 26. Диффузный характер дифрактограммы позволяет предположить низкую кристалличность образца. ТГА и ДСК термограммы

формы F показаны на фиг. 27 и фиг. 28 соответственно. Потеря массы по ТГА 6,9 мас.% соответствует малому широкому ДСК пику при около 113°C и она может быть отнесена к потере растворителя в форме F. Основной ДСК пик с температурой начала 223°C соответствует плавлению/разложению формы A. ^1H -ЯМР спектр, полученный для образца F, показал приблизительно 0,3 молярных эквивалентов толуола (см. фиг. 29), что соответствует наблюдаемой по ТГА потере массы. Эти наблюдения позволяют предположить, что форма F является 0,3 молярным сольватом в толуоле соединения 1. Эксперименты с переносом формы при нагревании формы F выше температуры десольвации дает форму A. Суспензия формы F в воде также дает форму A.

Список пиков рентгеновской дифракции для формы F представлен ниже в табл. 13.

Таблица 13. Пики рентгеновской дифракции для формы F

Угол два тэта ($^\circ$)	d Разделитель (Å)	Относительная интенсивность (%)
8,07	10,9511	52,7
9,21	9,5984	41,8
10,58	8,3604	19,2
10,88	8,1318	17,4
12,06	7,3409	48,5
14,56	6,0822	22,0
14,87	5,9564	22,1
16,28	5,4434	21,3
17,45	5,0817	58,1
17,79	4,9851	48,4
18,53	4,7887	98,0
19,65	4,5174	35,7
20,05	4,4277	17,4
20,85	4,2615	100,0
21,10	4,2108	83,7
23,72	3,7519	4,5
24,41	3,6467	19,0
25,11	3,5470	15,8
25,98	3,4300	16,6
26,61	3,3499	5,2
27,94	3,1938	9,7
29,25	3,0532	4,4
30,40	2,9405	6,1
32,00	2,7967	1,7
34,06	2,6325	2,8
35,72	2,5139	3,6
36,58	2,4567	3,1
37,59	2,3928	3,2

На фиг. 29 представлен ^1H ЯМР (ДМСО-d₆) формы F с δ 0,94 (д, J=6,4 Гц, 3Н), 0,96-1,04 (м, 1Н), 1,04-1,29 (м, 3Н), 1,35 (с, 9Н), 1,67 (дд, J=3,3, 13,1 Гц, 1Н), 1,90 (д, J=9,3 Гц, 1Н), 2,06-2,23 (м, 1Н), 2,30 (с, 0,9Н, толуол), 2,89-3,04 (м, 1Н), 3,71-4,00 (м, 1Н), 4,57 (д, J=5,7 Гц, 1Н), 6,64 (шс, 1Н), 6,94 (шс, 1Н), 7,08-7,30 (м, 1,4Н, толуол), 7,50 (шс, 1Н), 8,34 (с, 1Н), 8,93 (шс, 1Н).

Форма G

Форму G получают в экспериментах с перекристаллизацией или суспензией формы A в EtOAc. Форма G имеет кристаллическую рентгенограмму ПРД как показана на фиг. 30. ТГА и ДСК термограммы формы G показаны на фиг. 31 и фиг. 32 соответственно. Потеря массы по ТГА 11,9 мас.% соответствует малому широкому ДСК пику при около 116°C и она может быть отнесена к потере растворителя в форме G. Основной ДСК пик с температурой начала 223°C соответствует плавлению/разложению формы A. ^1H -ЯМР спектр, полученный для образца формы G, показал приблизительно 0,5 молярных эквивалент-

тов EtOAc (см. фиг. 33). Теоретическое содержание EtOAc в полусольвате соединения 1 12,1 мас.%, что соответствует наблюдаемой по ТГА потере массы. Эти наблюдения позволяют предположить, что форма G является полусольватом в EtOAc соединения 1. Эксперименты с переносом формы при нагревании формы G выше температуры десольвации дают форму А. Суспензия формы G в воде также дает форму А.

Список пиков рентгеновской дифракции для формы G представлен ниже в табл. 14.

Таблица 14. Пики рентгеновской дифракции для формы G

Угол два тэта (°)	<i>d</i> Разделитель (Å)	Относительная интенсивность (%)
8, 63	10,2508	0,7
9, 51	9,3026	100,0
10, 34	8,5585	15,1
12, 14	7,2888	0,5
14, 43	6,1377	2,3
16, 44	5,3907	1,3
16, 94	5,2347	10,9
17, 33	5,1185	5,0
17, 90	4,9555	17,9
18, 58	4,7768	4,2
19, 10	4,6467	0,9
20, 09	4,4211	0,4
20, 41	4,3507	2,1
20, 80	4,2704	0,4
21, 28	4,1747	34,8
22, 66	3,9240	0,4
23, 62	3,7671	0,3
24, 33	3,6584	2,8
25, 55	3,4842	1,6
25, 65	3,4726	1,9
26, 42	3,3739	1,1
26, 89	3,3128	0,3
27, 00	3,3030	0,4
27, 78	3,2114	0,9
28, 83	3,0969	9,1
29, 86	2,9925	1,5
31, 22	2,8651	6,8
31, 77	2,8164	0,1
32, 67	2,7410	0,2
33, 90	2,6443	0,7

34,28	2,6156	0,2
35,04	2,5606	0,5
35,44	2,5326	0,2
36,24	2,4789	0,5
36,57	2,4574	0,5
37,59	2,3926	0,4
38,00	2,3681	0,3
38,76	2,3231	0,4

На фиг. 33 представлен ^1H ЯМР (ДМСО-d₆) формы G с δ 0,94 (д, J=6,4 Гц, 3Н), 0,96-1,04 (м, 1Н), 1,04-1,29 (м, 5Н) {включая 1,17 (т, J=9,0 Гц, EtOAc)}, 1,29-1,46 (м, 9Н), 1,60-1,76 (м, 1Н), 1,86-1,96 (м, 1Н), 1,99 (с, 1,4Н, EtOAc), 2,04-2,16 (м, 1Н), 2,88-3,06 (м, 1Н), 3,75-3,97 (м, 1Н), 4,03 (кв, J=7,1 Гц, 1Н, EtOAc), 4,57 (д, J=5,7 Гц, 1Н), 6,65 (шс, 1Н), 6,94 (шс, 1Н), 7,52 (шс, 1Н), 8,34 (с, 1Н), 8,93 (шс, 1Н).

Форма Н

Форму Н получают перекристаллизацией или суспензией формы А в ДМСО. Форма Н имеет кристаллическую рентгенограмму ПРД как показана на фиг. 34. ТГА и ДСК термограммы формы Н показаны на фиг. 35 и фиг. 36 соответственно. ТГА термограмма показала постепенную потерю веса 11,2 мас.% соответствует малому широкому ДСК пику при около 160°C и она может быть отнесена к потере растворителя в форме Н. Основной ДСК пик с температурой начала 222°C соответствует плавлению/разложению формы А. Теоретическое содержание ДМСО в полусольвате соединения 1 10,8 мас.% что соответствует наблюдаемой по ТГА потере массы. Эти наблюдения позволяют предположить, что форма Н является полусольватом в ДМСО соединения 1. Эксперименты с переносом формы при нагревании формы Н выше температуры десольвации дает форму А. Суспензия формы Н в воде также дает форму А.

Список пиков рентгеновской дифракции для формы Н представлен ниже в табл. 15.

Таблица 15. Пики рентгеновской дифракции для формы Н

Угол два тэта ($^{\circ}$)	d Разделитель (Å)	Относительная интенсивность (%)
8,69	10,1702	5,5
9,74	9,0820	55,8
10,23	8,6432	16,7
12,17	7,2715	2,4
14,64	6,0510	15,1
15,38	5,7625	0,7
16,33	5,4296	3,7
17,22	5,1496	52,2
18,04	4,9185	22,8
18,55	4,7842	12,7
20,10	4,4170	3,0
20,62	4,3067	5,6
21,76	4,0836	100,0
23,10	3,8498	3,2
24,18	3,6807	8,3
25,65	3,4732	5,5
26,18	3,4044	3,9
26,78	3,3286	3,5
27,27	3,2703	1,1
27,83	3,2057	0,6
28,43	3,1396	7,2
29,50	3,0279	6,6
30,00	2,9782	0,6
30,54	2,9272	6,6
31,03	2,8821	2,5
32,07	2,7910	0,5
32,65	2,7425	0,4
33,41	2,6817	1,0
33,74	2,6569	1,4
34,86	2,5738	1,0
35,25	2,5460	2,0
35,77	2,5106	1,6
36,22	2,4803	2,0
36,62	2,4537	2,3
37,08	2,4243	0,7
37,59	2,3929	0,8
38,78	2,3220	2,3

¹H ЯМР (MeOD) формы Н дает δ 1,03 (д, J=6,2 Гц, 3H), 1,05-1,19 (м, 1H), 1,19-1,38 (м, 3H), 1,45 (с, 9H), 1,78 (дкв, J=3,3, 13,2 Гц, 1H), 1,90-2,16 (м, 1H), 2,16-2,40 (м, 1H), 2,65 (с, 3H, ДМСО), 2,95-3,24 (м, 1H), 3,85-4,21 (м, 1H), 8,25 (с, 1H).

Форма I

Форму I получают перекристаллизацией формы А в сульфолане и воде (1:1). Форма I имеет кри-

сталлическую рентгенограмму ПРД, такую как показана на фиг. 38. ДСК термограммы формы I показаны на фиг. 39. ДСК пик около 118°C может быть отнесен к потере растворителя в форме I. Основной ДСК пик с максимальной температурой 213°C соответствует плавлению/разложению формы A. ^1H -ЯМР спектр формы I оказывает приблизительно 0,75 молярных эквивалентов сульфолана (см. фиг. 40). Эти наблюдения позволяют предположить, что форма H является 0,75 молярным сольватом в сульфолане соединения 1.

Список пиков рентгеновской дифракции для формы I представлен ниже в табл. 16.

Таблица 16. Пики рентгеновской дифракции для формы I

Угол два тэта ($^{\circ}$)	d Разделитель (\AA)	Относительная интенсивность (%)
7,94	11,1290	72,2
10,50	8,4267	21,5
10,80	8,1909	16,7
11,86	7,4599	25,3
13,54	6,5394	11,7

13,92	6,3612	3,2
14,79	5,9901	2,1
16,00	5,5389	76,2
17,26	5,1378	45,0
18,27	4,8557	100,0
18,82	4,7163	4,9
19,48	4,5569	4,3
19,78	4,4881	9,1
20,65	4,3022	62,9
21,31	4,1699	4,4
21,78	4,0812	1,2
22,83	3,8959	5,0
23,53	3,7808	3,3
24,12	3,6899	29,4
24,75	3,5973	7,6
25,66	3,4715	4,7
26,29	3,3903	6,0
27,71	3,2189	17,4
28,18	3,1666	0,9
28,73	3,1072	0,7
29,17	3,0616	1,2
30,01	2,9778	1,5
30,52	2,9288	1,0
31,18	2,8687	0,7
31,60	2,8311	0,4
31,85	2,8099	2,1
32,36	2,7664	6,5
32,93	2,7203	0,7
33,59	2,6678	2,7
34,20	2,6219	0,9
34,76	2,5812	0,4
35,42	2,5341	0,6
36,56	2,4577	0,5
37,67	2,3880	1,1

На фиг. 40 представлен ^1H ЯМР (ДМСО-d₆) формы I с δ 0,94 (д, $J=6,2$ Гц, 3Н), 0,96-1,04 (м, 1Н), 1,11 (с, 3Н), 1,36 (с, 9Н), 1,59-1,74 (м, 1Н), 1,83-1,98 (м, 1Н), 2,00-2,20 (м, 4Н), 2,80-3,18 (м, 4Н), 3,74-4,02 (м, 1Н), 4,57 (д, $J=5,5$ Гц, 1Н), 6,64 (шс, 1Н), 7,02 (шс, 1Н), 7,60 (шс, 1Н), 8,34 (с, 1Н), 8,82-9,06 (м, 1Н).

Аморфное твердое вещество

Аморфное твердое вещество соединения 1 получают нагреванием формы А. Процесс тепловой обработки включает: (1) уравновешивание температуры формы А при 25°C; (2) нагревание до 235°C со скоростью 10°C в минуту; (3) изотермическое выдерживание в течение 2 мин; (4) охлаждение до -10°C со скоростью 30°C в минуту; (5) модулирование 0,64°C каждые 40 с; (6) изотермическое выдерживание в течение 5 мин; (7) нагревание до 213°C со скоростью 3°C в минуту; и (8) сбор полученного твердого вещества.

Аморфное твердое вещество имеет ПРД спектр, показанный на фиг. 41. ДСК термограмма образца аморфного твердого вещества показана на фиг. 42. Аморфное твердое вещество имеет температуру стеклования приблизительно 106,6°C.

На фиг. 43 и фиг. 44 представлены ^1H -ЯМР спектр и ЖХМС аморфного твердого вещества.

Биологические примеры

Биохимические анализы

A. Анализ флуоресценции с временным разрешением

Анализ JNK1. 384-луночный анализ флуоресценции с временным разрешением может применяться для отслеживания активности JNK1. Анализ JNK1 проводят в следующем буфере для анализа: 50 мМ HEPES, 10 мМ MgCl₂, 1 мМ ЭГТК, 2 мМ ДТТ и 0,01% Tween 20. Для начала реакции 100 нМ ULight™-меченного 4EBP1 пептида (Perkin-Elmer) и 5 мкМ АТФ смешивают с 500 пМ JNK1 (Carna Biosciences), до общего анализируемого объема 20 мкл в каждой лунке. Анализ инкубируют при комнатной температуре в течение 1 ч и останавливают с применением смеси 30 мМ ЭДТА и 4 нМ Eu-анти-4EBP1 добавлением 20 мкл останавливающего раствора в каждую лунку. Планшеты считывают на аппарате Perkin-Elmer Envision Reader.

Анализ JNK2. 384-луночный анализ флуоресценции с временным разрешением может применяться для отслеживания активности JNK2. Анализ JNK2 проводят в следующем буфере для анализа: 50 мМ HEPES, 10 мМ MgCl₂, 1 мМ ЭГТК, 2 мМ ДТТ и 0,01% Tween 20. Для начала реакции 100 нМ ULight™-меченного 4EBP1 пептида (Perkin-Elmer) и 5 мкМ АТФ смешивают с 500 пМ JNK2 (Carna Biosciences) до общего анализируемого объема 20 мкл в каждой лунке. Анализ инкубируют при комнатной температуре в течение 1 ч и останавливают с применением смеси 30 мМ ЭДТА и 4 нМ Eu-анти-4EBP1 добавлением 20 мкл останавливающего раствора в каждую лунку. Планшеты считывают на аппарате Perkin-Elmer Envision Reader.

B. Z'-LYTE® каскадные анализы

Анализ JNK1. JNK1 Z'-LYTE® каскадный киназный анализ проводят в следующем буфере: 50 мМ HEPES при pH 7,5, 0,01% BRIJ-35, 10 мМ MgCl₂, 1 мМ ЭГТК и 1 мМ ДТТ. Получают 10 мкл киназной реакционной смеси, содержащей 1,81-7,25 нг JNK1, 25 нг не активной МАРКАРК2, 100 мкМ АТФ и 2 мкМ Ser/Thr 04 пептида. Анализ инкубируют при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем 5 мкл 1:512 разведения реагента Development Reagent A (Invitrogen, PV3295) добавляют в реакционную смесь и инкубируют при комнатной температуре в течение еще 1 ч. Затем данные считывают на флуоресцентном планшетном ридере и анализируют.

Анализ JNK2. JNK2 Z'-LYTE® каскадный киназный анализ проводят в следующем буфере: 50 мМ HEPES при pH 7,5, 0,01% BRIJ-35, 10 мМ MgCl₂, 1 мМ ЭГТК и 2 мМ ДТТ. Получают 10 мкл киназной реакционной смеси, содержащей 0,38-1,5 нг JNK2, 100 нг не активной МАРКАРК2, 100 мкМ АТФ и 2 мкМ Ser/Thr 04 пептида. Анализ инкубируют при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем 5 мкл 1:512 разведения реагента Development Reagent A (Invitrogen, PV3295) добавляют в реакционную смесь и инкубируют при комнатной температуре в течение еще 1 ч. Затем данные считывают на флуоресцентном планшетном ридере и анализируют.

C. Радиоактивные анализы

Анализ JNK1. Радиоактивный JNK киназный анализ проводят в формате 96-луночного планшета в конечном объеме 100 мкл. Конечная концентрация анализа составляет 6,6 мкМ АТФ (3-кратный АТФ Km), от 2,64 до 5 мкг/мл JNK1 и 100 мкг/мл cJUN. JNK1 разводят в следующем буфере для разведений (20 мМ HEPES pH 7,6, 0,1 мМ ЭДТА, 2,5 мМ MgCl₂, 0,004% (мас./об.) Triton X100, 2 мкг/мл лейпептина, 20 мМ В-глицеринфосфата, 0,1 mM Na₃VO₄ дитиотреитола) и затем предварительно смешивают с cJun, разведенной в буфере на основе субстратного раствора (20 мМ HEPES pH 7,6, 50 мМ NaCl, 0,1 мМ ЭДТА, 2,5 мМ MgCl₂, 0,05% (мас./об.) Triton X100). Смесь JNK1/cJun mix (85 мкл) добавляют к ингибитору (5 мкл), разведенному в 100% ДМСО с получением конечной концентрации ДМСО для анализа 5% (об./об.). Смесь ферmenta, субстрата и ингибитора уравновешивают при комнатной температуре в течение 15 мин. Реакцию начинают добавлением 10 мкл 10x АТФ в киназном буфере (130 мМ MgCl₂, 6 мМ дитиотреитола, 150 мМ пара-нитрофенилфосфата, 100 мкМ/мл-[³³P]-АТФ). Реакцию проводят в течение 60 мин перед выпадением в осадок белка через трихлоруксусную кислоту (7,2% TXK конечная). Через 30 мин инкубирования с TXK, продукты реакции собирают в стеклянные микрофильтровальные 96-луночные планшеты (Millipore MAHF C1H60) с применением Packard Filtermate. Осадок промывают физиологическим раствором с фосфатным буфером, и количество фосфата, введенного в cJun, количественно оценивают сцинтилляционными измерениями с применением Packard Topcount-NXT. Все анализы проводят в условиях, в которых введение фосфата может быть линейным по отношению ко времени и концентрации фермента. Значения IC₅₀ рассчитывают как концентрацию ингибитора, при которой фосфорилирование c-Jun может быть понижено до 50% от контрольного значения.

Анализ JNK2. Анализ проводят в формате 96-луночного планшета в конечном объеме 100 мкл. Конечная концентрация анализа составляет 6,6 мкМ АТФ (3-кратный АТФ Km), от 0,2 до 0,53 мкг/мл JNK2 и 100 мкг/мл cJUN. JNK2 разводят в следующем буфере для разведений (20 мМ HEPES pH 7,6, 0,1 мМ ЭДТА, 2,5 мМ MgCl₂, 0,004% (мас./об.) Triton X100, 2 мкг/мл лейпептина, 20 мМ В-глицеринфосфата, 0,1 mM Na₃VO₄ дитиотреитола) и затем предварительно смешивают с cJun, разведенной в буфере на основе субстратного раствора (20 мМ HEPES pH 7,6, 50 мМ NaCl, 0,1 мМ ЭДТА, 2,5 мМ MgCl₂, 0,05% (масс./об.) Triton X100). Смесь JNK2/cJun mix (85 мкл) добавляют к ингибитору (5 мкл), разведенному в

100% ДМСО с получением конечной концентрации ДМСО для анализа 5% (об./об.). Смесь ферmenta, субстрата и ингибитора уравновешивают при комнатной температуре в течение 15 мин. Реакцию начинают добавлением 10 мкл 10× АТФ в киназном буфере (130 мМ MgCl₂, 6 мМ дитиотреитола, 150 мМ пара-нитрофенилфосфата, 100 мКМ/млγ-[³³P]-АТФ). Реакцию проводят в течение 60 мин перед выпадением в осадок белка через трихлоруксусную кислоту (7,2% ТХК конечная). Через 30 мин инкубирования с ТХК, продукты реакции собирают в стеклянные микрофильтровальные 96-луночные планшеты (Millipore MAHF CIH60) с применением Packard Filtermate. Осадок промывают физиологическим раствором с фосфатным буфером, и количество фосфата, введенного в c-Jun, может быть количественно оценено сцинтилляционными измерениями с применением Packard Topcount-NXT. Все анализы проводят в условиях, в которых введение фосфата может быть линейным по отношению ко времени и концентрации ферmenta. Значения IC₅₀ рассчитывают как концентрацию ингибитора, при которой фосфорилирование c-Jun может быть понижено до 50% от контрольного значения.

Клеточные анализы

RAW264,7 фосфо-cJun анализ цельных клеток. Клетки RAW264,7 покупают в American Tissue Culture Collection и хранят в среде для выращивания, состоящей из 90% модифицированной по методу Дульбекко среде Игла с высоким содержанием глюкозы (Invitrogen), 10% фетальной бычьей сыворотки (Hyclone) и 2 мМ L-глутамина (Invitrogen). Все клетки культивируют при 37°C в 95% воздуха и 5% CO₂. Клетки помещают с плотностью 1,0×10⁵ клеток на лунку в 96-луночный планшет в 120 мкл среды для выращивания. Исходный раствор соединения диаминопirimидина (30 мМ) серийно разводят в ДМСО, затем в среде для выращивания и добавляют в каждую лунку в виде 10x концентрированного раствора в объеме 15 мкл, перемешивают и инкубируют с клетками. Носитель (ДМСО) сохраняют в конечной концентрации 0,2% во всех лунках. Через 30 мин клетки активируют с липополисахаридом (ALEXIS Biochemicals) в конечной концентрации 25 нг/мл. Липополисахарид добавляют в виде 10x концентрированного раствора в среде для выращивания в объеме 15 мкл на лунку. Планшеты с клетками культивируют в течение 1 ч, затем среду для клеток удаляют. Уровень c-Jun белка, который может быть фосфорилирован на серине 63, измеряют согласно инструкциям производителя для набора Whole Cell Lysate Kit-Phospho-c-Jun (Ser 63) Assay (Meso Scale Discovery) за исключением того, что концентрацию NaCl в лизином буфере повышают до конечной концентрации 350 мМ. Значения IC₅₀ рассчитывают как концентрацию соединения диаминопirimидина, при которой уровень фосфорилированного c-Jun белка может быть понижен до 50% от контроля. Определенные соединения из табл. 1, 2 и 3 имеют значение IC₅₀ от 0,01 до 30 мКМ в этом анализе.

Анализ образования IL-2 в Т-клетках Jurkat. Т-клетки Jurkat (клон E6-1) покупают в American Tissue Culture Collection и хранят в среде для выращивания, содержащей среду RPMI 1640, содержащую 2 мМ L-глутамина (Mediatech), с 10% фетальной бычьей сыворотки (Hyclone) и пенициллином/стрептомицином. Все клетки культивируют при 37°C в 95% воздуха и 5% CO₂. Клетки размещают с плотностью 1×10⁵ клеток на лунку в 120 мкл среды в 96-луночный планшет. Исходный раствор соединения диаминопirimидина (20 мМ) разводят средой для выращивания и добавляют в каждую лунку в виде 10× концентрированного раствора в объеме 15 мкл, смешивают и предварительно инкубируют с клетками в течение 30 мин. Носитель (диметилсульфоксид) сохраняют в конечной концентрации 0,2% во всех образцах. Через 30 мин клетки активируют ФМА (ацетат форболмиристата; конечная концентрация 50 нг/мл) и ФГА (футогемаглутинин; конечная концентрация 1 мкг/мл). ФМА и ФГА добавляют в виде 10× концентрированного раствора в среде для выращивания в объеме 15 мкл на лунку. Планшеты с клетками культивируют в течение 6 ч. Клетки осаждают центрифугированием, среду удаляют и хранят при -20°C. Аликвоты среды анализируют согласно инструкциям производителя для набора Human IL-2 Tissue Culture Kit (Meso Scale Discovery). Значения IC₅₀ рассчитывают как концентрацию соединения диаминопirimидина, при которой производство IL-2 может быть снижено до 50% от контрольного. Определенные соединения из табл. 1, 2 и 3 имеют значение IC₅₀ от 0,01 до 10 мКМ в этом анализе.

Клинический протокол

Фаза 1, рандомизированное двухкомпонентное исследование для оценки безопасности, переносимости и фармакокинетики однократных и многократных нарастающих доз соединения 1 у здоровых субъектов.

Первичной целью является оценка безопасности и переносимости однократных и многократных пероральных доз соединения 1 у здоровых субъектов.

Вторичными целями являются оценка фармакокинетики (ФК) соединения 1 после однократных и многократных пероральных доз.

План исследования.

Это двухкомпонентное исследование, которое проводят во вплоть до двух исследовательских центрах.

Часть 1 представляет собой рандомизированное двойное слепое исследование с плацебо контролем для оценки безопасности, переносимости и ФК соединения 1 после однократной пероральной дозы у здоровых субъектов. Исследователей и участников исследования лечат в слепом режиме в течение всего

исследования, но спонсор демаскирован. Выбранный план исследования представляет собой увеличивающиеся дозы в последовательных группах.

В 1 части приблизительно 56 субъектов произвольно распределяют и включают в семь запланированных типологических групп. Каждая группа состоит из восьми субъектов; шесть субъектов получают соединение 1 и два субъекта получают плацебо.

Во время проведения части 1 каждый субъект участвует в фазе скрининга, фазе лечения и приходит на контрольные посещения. Субъектов проверяют на пригодность. Субъектов, которые соответствуют всем критериям включения и не имеют критериев невключения при скрининге возвращают на клиническую базу в 1 день для проведения оценки исходного состояния и госпитализируют в клиническую базу с 1 по 4 день. Субъекты получают однократную пероральную дозу исследуемого продукта (ИП; соединение 1 или плацебо) в 1 день натощак, согласно графику рандомизации. Образцы крови и мочи собирают в заранее определенное время для оценки ФК и/или клинических лабораторных исследований и/или диагностического анализа. Безопасность отслеживается в течение всего исследования. Субъектов выписывают из клинической базы на 4 день после завершения требуемых для исследования процедур и возвращают в клиническую базу для контрольного посещения на 7 день (± 1 день). В случае, если субъект выбывает из исследования, проводят визит досрочного прекращения участия в исследовании.

После каждой типологической группы, делают обзор данных безопасности и обзор данных ФК при необходимости. Обзор параметров проводят перед каждым повышением дозы вместе с конкретным повышением дозы.

Часть 2 представляет собой рандомизированное двойной слепое исследование с плацебо контролем для оценки безопасности, переносимости и ФК соединения 1 после многократных пероральных доз (вплоть до 14 дней дозирования) у здоровых субъектов. Исследователей и участников исследования лекчат в слепом режиме в течение всего исследования, но спонсор демаскирован. Выбранный план исследования представляет собой увеличивающиеся дозы в последовательных группах.

Часть 2 не начинают, пока не будут оценены общие суточные дозы, достигающие, включительно, 240 мг, в 1 части. Только те дозы, которые являются безопасными и переносятся в части 1, будут вводиться в части 2.

В части 2 приблизительно 48 субъектов произвольно распределяют и включают в шесть запланированных типологических групп. Каждая группа состоит из восьми субъектов; шесть субъектов получают соединение 1 и два субъекта получают плацебо.

Во время проведения частии 2 каждый субъект участвует в фазе скрининга, базовой фазе, фазе лечения и приходит на контрольные посещения. Субъектов проверяют на пригодность. Субъектов, которые соответствуют всем критериям включения и не имеют критериев невключения при скрининге возвращают на клиническую базу в 1 день для проведения оценки исходного состояния и госпитализируют в клиническую базу с 1 по 17 день. Первую дозу ИП (соединения 1 или плацебо) вводят в 1 день натощак, согласно графику рандомизации. Такую же общую суточную дозу вводят натощак со 2 по 14 день. Образцы крови собирают в заранее определенное время для оценки ФК и/или клинических лабораторных исследований и/или определения диагностических биомаркеров. Образцы мочи собирают в заранее определенное время для клинических лабораторных исследований. Безопасность отслеживается в течение всего исследования. Субъектов выписывают из клинической базы на 17 день после завершения требуемых для исследования процедур и возвращают в клиническую базу для контрольного посещения на 21 день (± 1 день). В случае если субъект выбывает из исследования, проводят визит досрочного превращения участия в исследовании.

После каждой типологической группы делают обзор данных безопасности и обзор данных ФК при необходимости. Обзор параметров проводят перед каждым повышением дозы вместе с конкретным повышением дозы.

Выборочная совокупность исследования: приблизительно 104 здоровых взрослых субъектов (мужчин или женщин с отсутствием репродуктивного потенциала) любой расы возрастом от 18 до 50 лет, включительно, включают в исследование, в котором приблизительно 56 субъектов участвуют в части 1 и приблизительно 48 субъектов участвуют в части 2.

Длительность исследования: предполагаемая длительность исследования, включая части 1 и 2, начиная с первого визита первого пациента до последнего визита последнего пациента, составляет приблизительно 8 месяцев.

Предполагаемая длительность клинической фазы в части 1, начиная с первого визита первого пациента до последнего визита последнего пациента, составляет приблизительно 4 месяца. Предполагаемая длительность участия каждого субъекта в части 1, начиная со скрининга до контрольного посещения, составляет, приблизительно 4 недели.

Часть 2 не начинают, пока не будут оценены общие суточные дозы, достигающие, включительно, 240 мг, в 1 части. Только те дозы, которые являются безопасными и переносятся в части 1, будут вводиться в части 2. Предполагаемая длительность клинической фазы части 2, начиная с первого визита первого пациента до последнего визита последнего пациента, составляет, приблизительно, 6 месяцев.

Предполагаемая длительность участия каждого субъекта в части 2, начиная со скрининга до контрольного посещения, составляет, приблизительно 6 недель.

Конец исследования определяют либо как дату последнего визита последнего субъекта для завершения исследования, либо как дату получения последних данных от последнего субъекта, которые требуются для первичного, вторичного и/или разведочного анализа, как определено в протоколе и/или плане статистического анализа, в зависимости от того, что является более поздней датой.

Исследовательское лечение.

Часть 1: приблизительно 56 субъектов произвольно распределяют и включают в семь запланированных типологических групп. Каждая группа состоит из восьми субъектов; шесть субъектов получают соединение 1 и два субъекта получают плацебо.

Дозы в 1 части вводят в виде активного фармацевтического ингредиента (АФИ) в капсулах (или подобранного плацебо) один раз в сутки (ОРС).

Для части 1 запланированы следующие дозы соединения 1, представленные в табл. 17.

Таблица 17. Дозы соединения 1 в 1 части

Группа	доза соединения 1 (общая суточная доза)
1A	10 мг
1B	30 мг
1C	60 мг
1D	120 мг
1E	240 мг
1F	480 мг
1G	720 мг

Если возникают связанные с желудочно-кишечным трактом проблемы, такие как непереносимая тошнота или рвота, общие суточные дозы могут быть понижены или могут вводиться два раза в сутки (ДРС) или три раза в сутки (ТРС).

Исследуемый продукт вводят только в одной дозе единовременно, и введение следующей дозы не начинают до тех пор, пока безопасность и переносимость предыдущей дозы не будет оценена и признана приемлемой исследователями и медицинскими наблюдателями от спонсора.

Часть 2: часть 2 не начинают, пока не будут оценены общие суточные дозы, достигающие, включительно, 240 мг, в 1 части. Только те дозы, которые являются безопасными и переносятся в части 1, будут вводиться в части 2.

Приблизительно 48 субъектов произвольно распределяют и включают в шесть запланированных типологических групп, где каждая группа состоит из восьми субъектов. В каждой группе шесть субъектов получают соединение 1 и два субъекта получают плацебо.

Планируемый режим дозирования в части 2 включает соединение 1 в капсулах (или подобранного плацебо) ОРС в течение 14 дней. Для части 2 запланированы следующие дозы соединения 1, представленные в табл. 18.

Таблица 18. Дозы соединения 1 во 2 части

Группа	доза соединения 1 (общая суточная доза)	длительность
2A	10 мг	Суточно x 14 дней
2B	30 мг	Суточно x 14 дней
2C	60 мг	Суточно x 14 дней
2D	120 мг	Суточно x 14 дней
2E	240 мг	Суточно x 14 дней
2F	480 мг	Суточно x 14 дней

Предложенные в части 2 дозы могут быть модифицированы и/или исключены в зависимости от данных, полученных в части 1. Если требуется изменение предложенного шага повышения дозы, максимальный шаг повышения дозы в части 2 составляет ≤3-кратной предыдущей дозы. Кроме того, максимальная доза, вводимая в части 2, не превышает максимально переносимую дозу (МПД) в части 1 и не превышает 480 мг в сутки в течение 14 дней.

Если возникают связанные с желудочно-кишечным трактом проблемы, такие как непереносимая тошнота или рвота, общие суточные дозы могут быть понижены или могут вводиться ДРС или ТРС.

Исследуемый продукт вводят только в одной дозе единовременно, и введение следующей дозы не начинают до тех пор, пока безопасность и переносимость предыдущей дозы не будет оценена и признана приемлемой исследователями и медицинскими наблюдателями от спонсора. Кроме того, если определенная доза не переносится в части 1, то эта доза или более высокая доза не будет вводиться в части 2 за

исключением случаев ЖК непереносимости (например, тошнота, рвота), которые ослабляют альтернативным режимом дозирования (т.е., ДРС или ТРС).

Обзор оценок безопасности. Безопасность отслеживается в течение всего исследования. Оценка безопасности включает описание НЯ, РЕ, жизненно важных функций, 12-канальных ЭКГ, клинических лабораторных тестов на безопасность (включая пробы функции печени [ПФП], общий холестерин, триглицериды, липопротеин высокой плотности [ЛПВП] и липопротеина низкой плотности [ЛПНП] в дополнение к стандартной клинической химии, гематологии и исследованию мочи), обзор сопутствующих препаратов/процедур, тесты СКК и отслеживание стула и тесты на беременность для субъектов женского пола. Все НЯ отслеживаются и записываются в течение всего исследования с момента подписания информированного согласия (ИС) до завершения исследования, а также те, которые становятся известными исследователю в течение 28 дней после последней дозы ИП (и те СНЯ, которые становятся известными исследователю в любое время после исследования и которые предположительно могут быть связаны с ИП). Все сопутствующие лекарственные средства и процедуры наблюдаются и записываются с момента, когда субъект подписал ИС до завершения исследования. Контрольное посещение предписано для всех пациентов. Если субъект выбывает из исследования, проводят визит досрочного превращения участия в исследовании.

Обзор фармакокинетических оценок. В обеих частях исследования образцы крови собирают в заранее определенное время для определения уровней соединения 1 в плазме. Для групп 1С - 1G из части 1 (запланированные дозы от 60 мг до 720 мг), образцы мочи собирают в заранее определенное время для диагностических метаболических анализов. Выраженные метаболиты в плазме и моче идентифицируют, и соединение 1 в моче может быть количественно охарактеризовано как часть диагностических анализов.

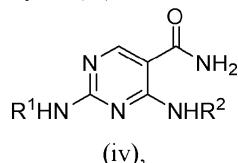
Следующие параметры ФК оценивают для соединения 1, если это приемлемо: максимальная концентрация препарата в плазме (C_{max}); время достижения C_{max} (T_{max}); площадь под кривой "концентрация в плазме-время" от нулевого момента времени до бесконечности (AUC_{∞}); площадь под кривой "концентрация в плазме-время" от нуля до времени достижения последней концентрации, поддающейся количественному определению (AUC_t); площадь под кривой "концентрация в плазме-время" от нулевого момента времени до τ ($AUC_{0-\tau}$), где τ является интервалом дозирования ($t_{1/2,2}$); выраженный общий клиренс плазмы при пероральном дозировании (CL/F); выраженный общий объем распределения при пероральном дозировании, основанный на конечной фазе (Vz/F); отношение аккумуляции (OA) на основе $AUC_{0-\tau}$ в 1 и 14 дни.

Концентрации соединения 1 в образцах мочи, собранных в части 1, могут быть далее количественно оценены с применением согласованных методов, если диагностические анализы показывают, что соединение 1 находится в моче в избытке. Следующие параметры ФК, относящиеся к анализам мочи, могут быть затем определены, если это применимо: общее количество лекарственного средства, выведенного неизменным в моче во время периода сбора, начиная от момента перед применением препарата (час 0) до конца сбора (A_e); суммарный процент введенной дозы, выведенный неизменной в моче во время периода сбора, начиная от момента перед применением препарата (час 0) до конца сбора (f_e); почечный клиренс (CL_r).

В описании даны ссылки на множество источников, описание которых включено сюда в качестве ссылки полностью.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

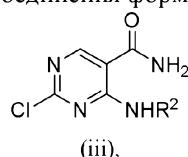
1. Способ получения соединения формулы (iv)



где R^1 является незамещенным C_{1-8} алкилом или замещенным или незамещенным насыщенным гидроксил- C_{3-10} циклоалкилом,

R^2 является незамещенным C_{1-8} алкилом или замещенным или незамещенным гидроксил- C_{3-10} циклоалкилом,

где, если гидроксил- C_{3-10} циклоалкильная группа замещена, то эта группа замещена C_{1-10} алкилом;



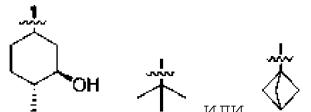
с $R^1\text{NH}_2$ в присутствии основания или кислоты Льюиса в растворителе,

где указанный растворитель представляет собой диметилсульфоксид (ДМСО), сульфолан, ацетонитрил, N,N-диметилформамид (ДМФ), N,N-диметилацетамид (ДМАц), N-метил-2-пирролидон (NMP), этиanol (EtOH), н-пропанол (н-PrOH), изопропиловый спирт (ИПС), н-бутанол (н-BuOH), третбутианол (т-БиОН), этилацетат (EtOAc), изопропилацетат (ИПА), толуол, 2-метилтетрагидрофуран (МеTГФ), тетрагидрофуран (ТГФ), дихлорметан (ДХМ) или их смесь;

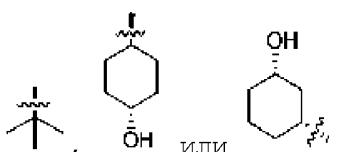
указанным основанием является N,N-диизопропилэтиламин, 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен (ДБУ), триэтиламин, трет-бутиламин, карбонат натрия, карбонат калия, гидрокарбонат натрия, ацетат натрия или фосфат калия;

указанной кислотой Льюиса является ZnCl₂, ZnBr₂, AlCl₃ или Zn(OTf)₂.

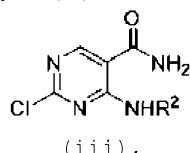
2. Способ по п.1, где R² является



3. Способ по п.1, где R¹ является



4. Способ получения соединения формулы (iii)



где R² является незамещенным C₁₋₈алкилом или замещенным или незамещенным гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкилом,

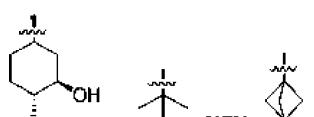
где, если гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкильная группа замещена, то эта группа замещена C₁₋₁₀алкилом;

где способ включает взаимодействие 2,4-дихлорпиримидин-5-карбоксамида с R²NH₂ в присутствии основания в растворителе,

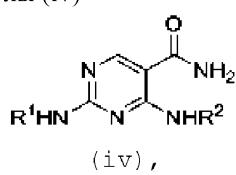
где указанным основанием является N,N-диизопропилэтиламин, карбонат калия, гидроортогофосфат калия, ортофосфат калия или бикарбонат натрия;

растворителем является ТГФ, NMP, вода или их смесь.

5. Способ по п.4, где R² является



6. Способ очистки соединения формулы (iv)



где R¹ является незамещенным C₁₋₈алкилом или замещенным или незамещенным гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкилом;

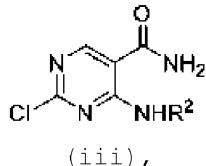
и R² является незамещенным C₁₋₈алкилом или замещенным или незамещенным гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкилом,

где, если гидроксил-C₃₋₁₀циклоалкильная группа замещена, то эта группа замещена C₁₋₁₀алкилом;

где способ включает 1) растворение соединения формулы (iv) в растворителе при от 60 до 70°C; 2) добавление воды в полученный раствор; 3) охлаждение раствора до от 0 до 25°C; и 4) сбор твердого вещества,

где растворителем является смесь 2-пропанола и воды в объемном соотношении около 3:1, ДМСО или этиanol.

7. Соединение формулы (iii)

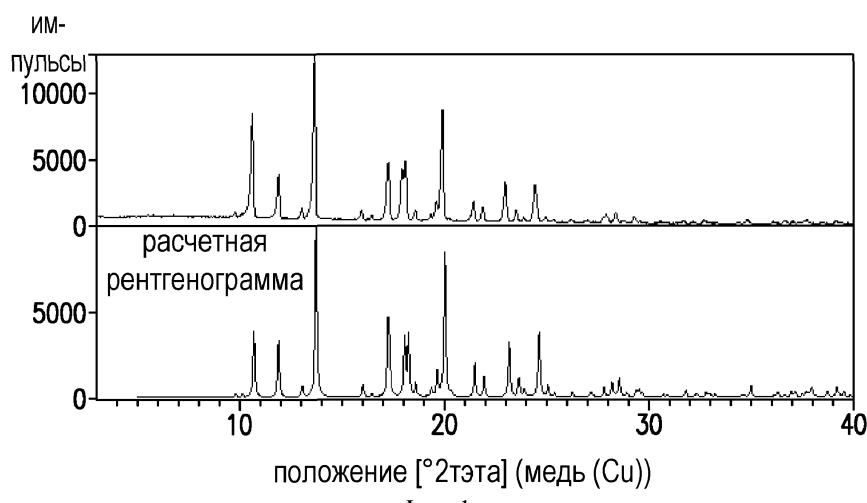
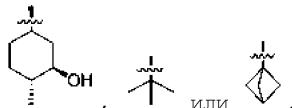


и его таутомеры,

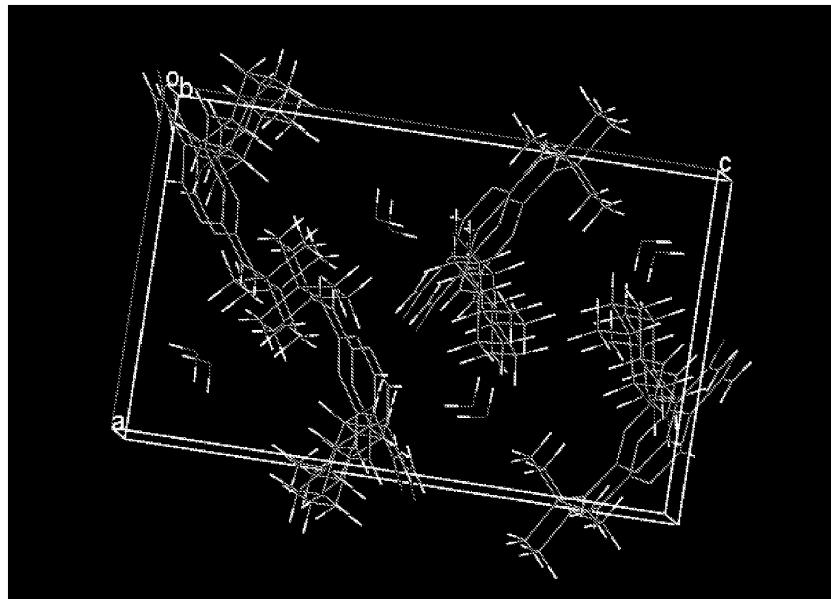
где R^2 является незамещенным C_{1-8} -алкилом или замещенным или незамещенным насыщенным гидроксил- C_{3-10} циклоалкилом,

где, если гидроксил- C_{3-10} циклоалкильная группа замещена, то эта группа замещена C_{1-10} алкилом.

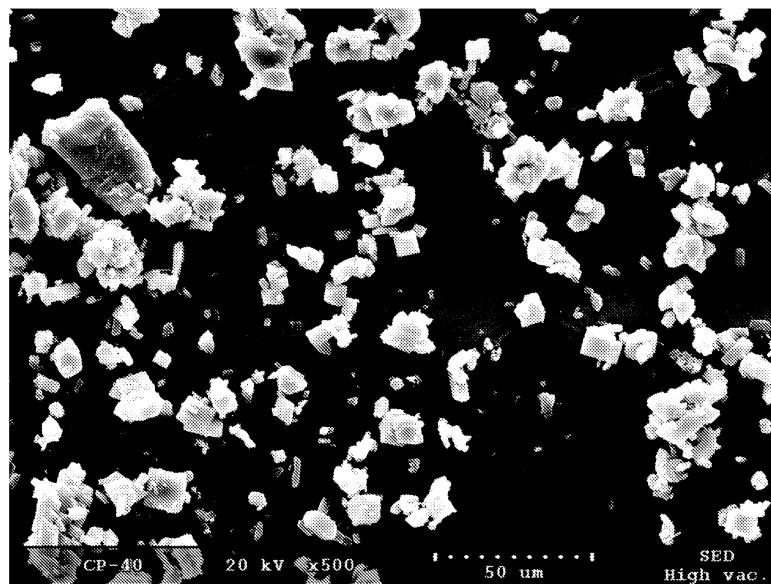
8. Соединение по п. 7, где R^2 является



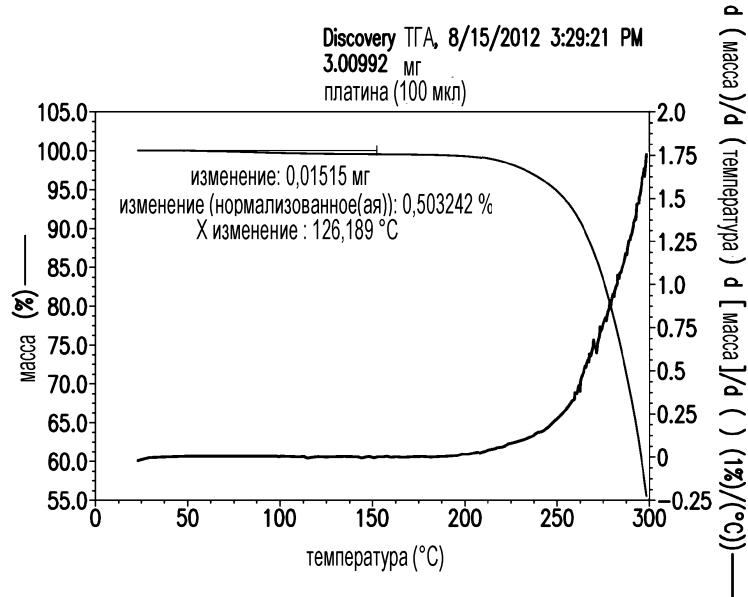
Фиг. 1



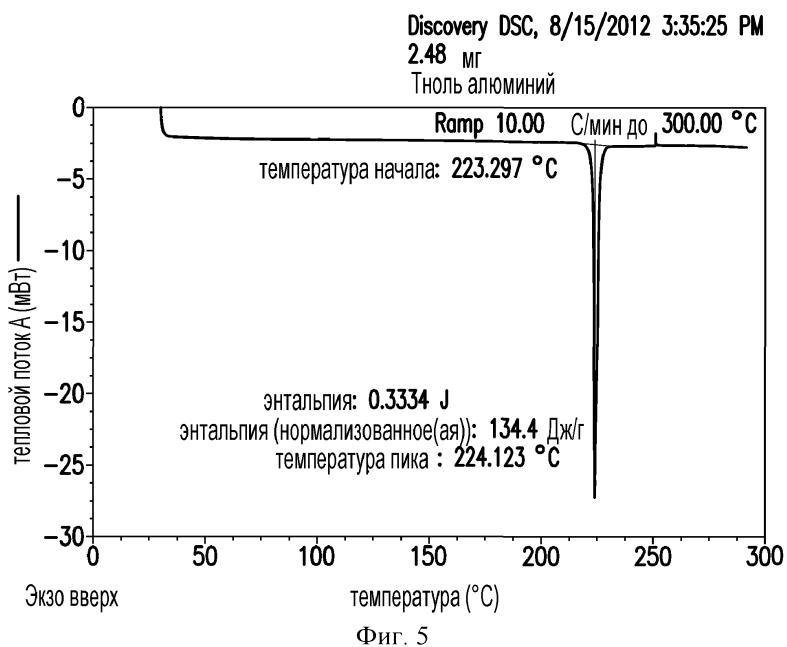
Фиг. 2



ФИГ. 3



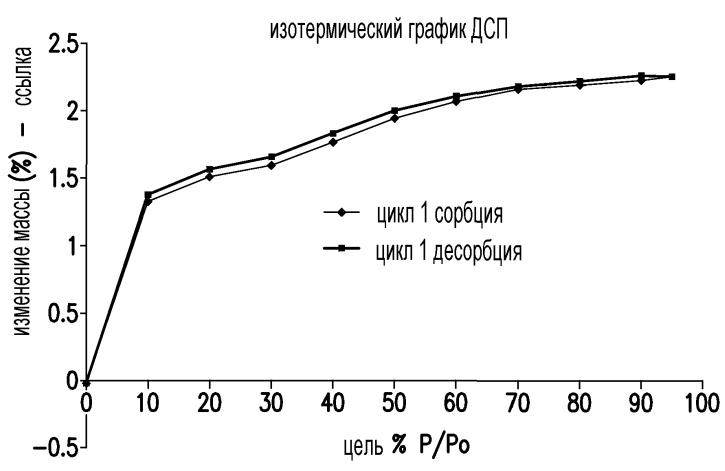
ФИГ. 4



Фиг. 5

дата: 19 Sep 2012
время: 10:29 am

тепл. (°C): 25.0 °C
МЕТ.: 0-95-0 DMDT 0.01.sao
MRef: 5.0745



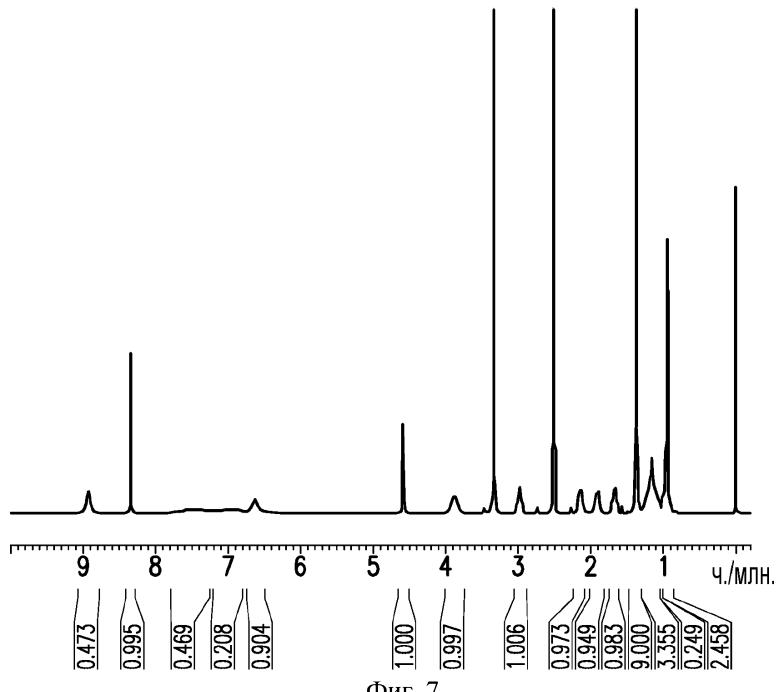
Фиг. 6



текущие параметры данных

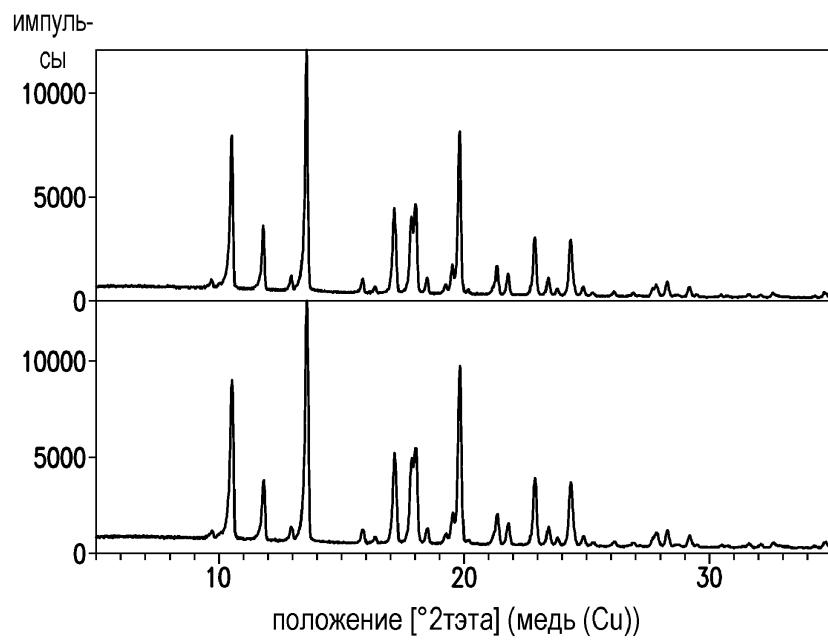
		CHANNEL f1	
EXPNO	10	NUC1	1H
PROCNO	1	P1	9.25 usec
F5 - приемочные параметры		PL1	-3.00 dB
дата	20120904	PL1W	30.32182693 W
время	9.30	SF01	300.1418535 MHz
INSTRUM	spect	F5 -	параметры процесса
PROBHD	5 mm PABBO BB-	SI	32768
PULPROG	ug30	SF	300.1400003 MHz
TD	65536	WDW	EM
растворитель	ДМСО	SSB	0
NS	32	LB	0.30 He
DS	2	GB	0
		PC	1.00

PROTON ДМСО D:\\ ARD 22

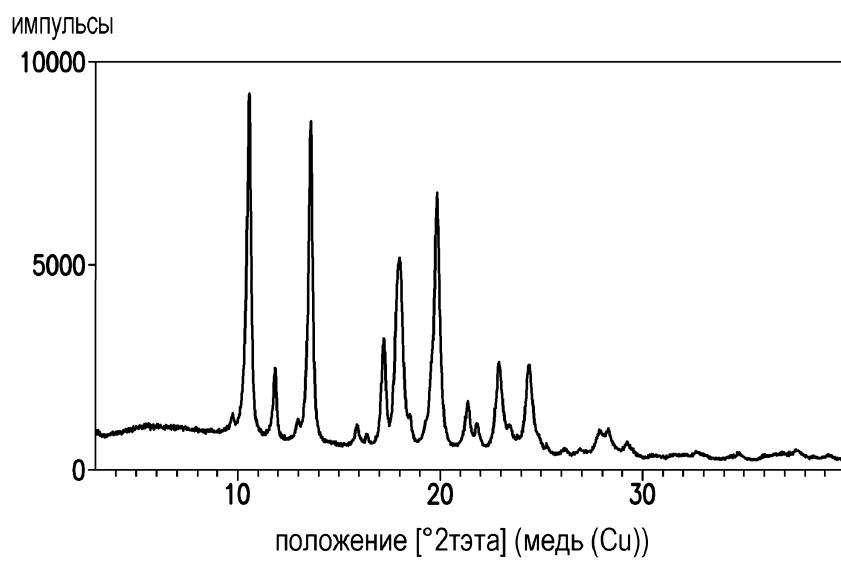


Фиг. 7

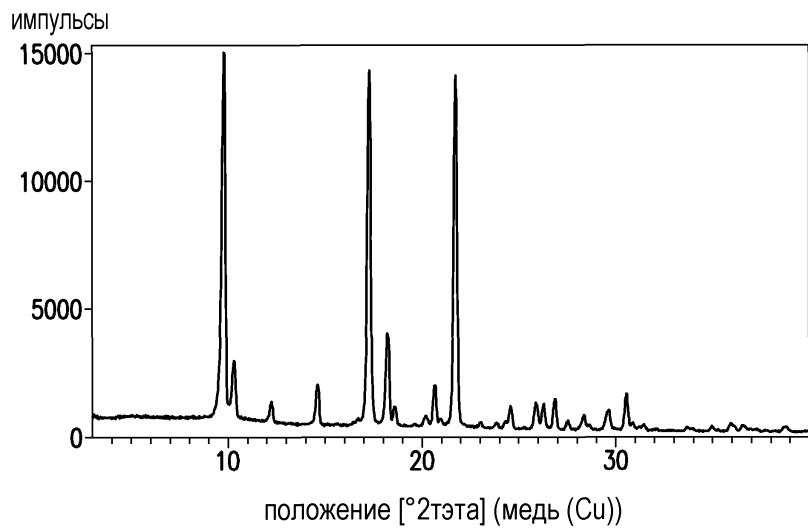
036964



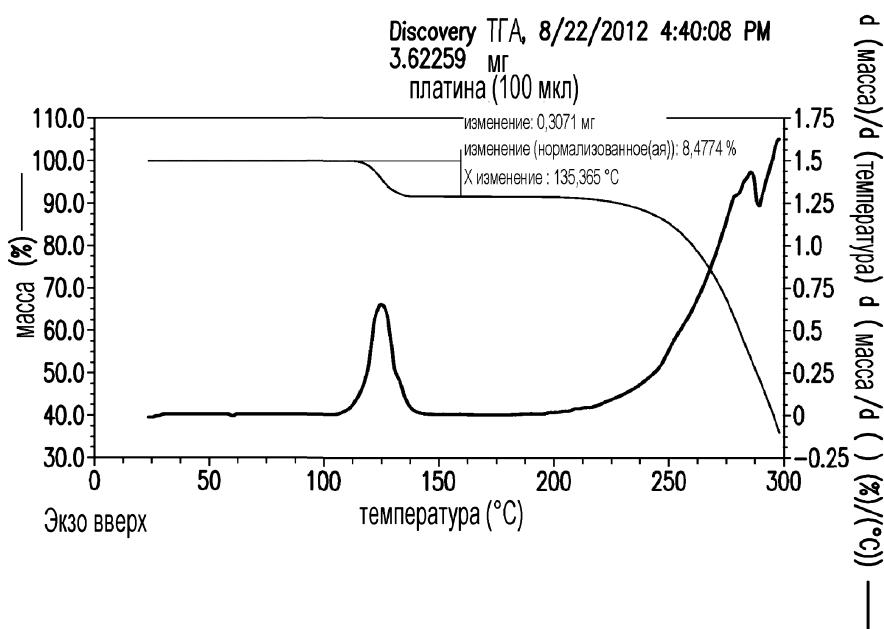
Фиг. 8



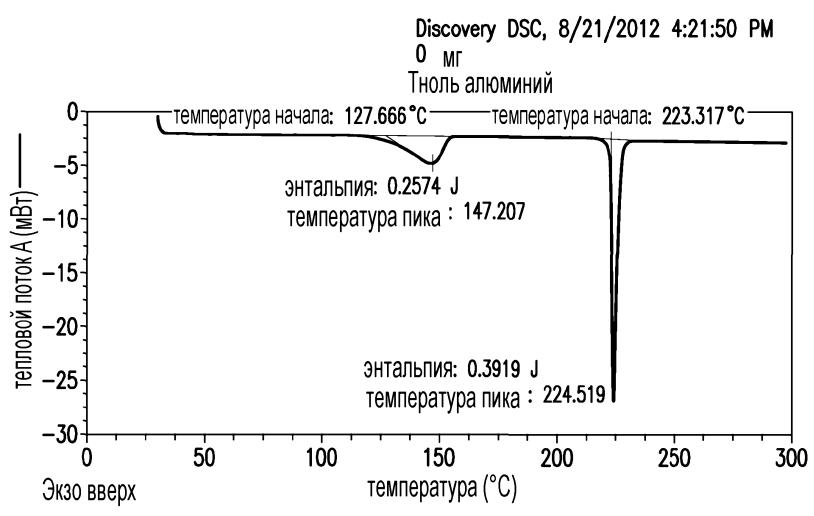
Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11



Фиг. 12

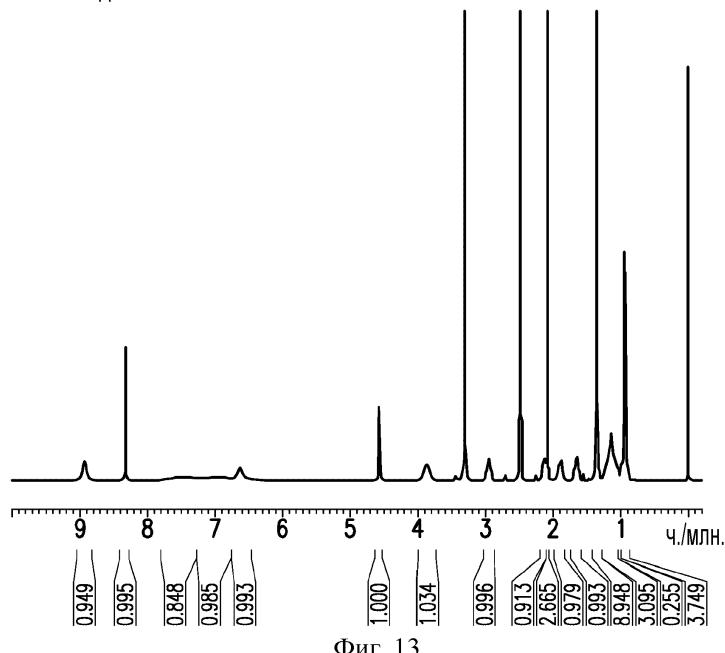


текущие параметры данных

NAME EQ RT в ацетоне
 EXPNO 10
 PROCNO 1
 F5 - приемочные параметры
 дата 20120904
 ВОЕМЯ 9.30
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 MM PABBO BB-
 PULPROC ug30
 TD 65536
 растворитель ДМСО
 NS 32
 DS 2

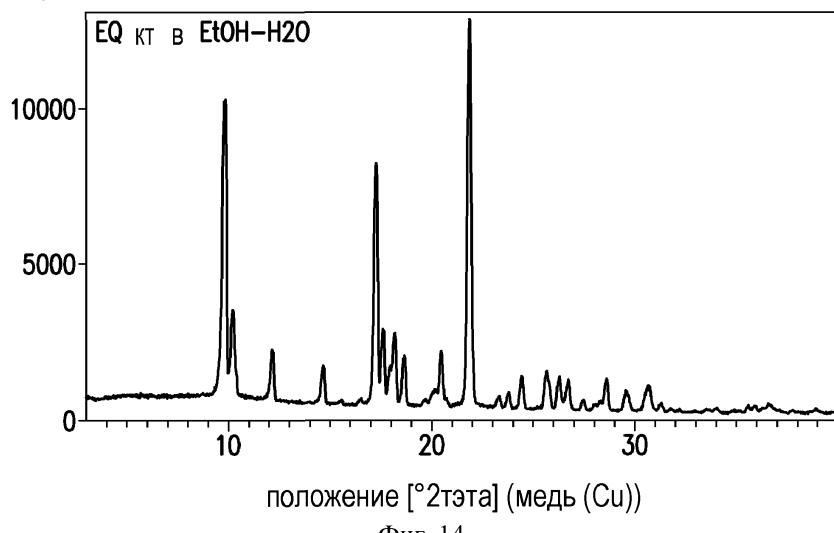
CHANNEL f1
 NUC1 1H
 P1 9.25 usec
 PL1 -3.00 dB
 PL1W 30.32182693 W
 SF01 300.1418535 MHe
 F5 - параметры процесса
 SI 32768
 SF 300.1400003 MHe
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 He
 GB 0
 PC 1.00

EQ RT in в ацетоне
 PROTON ДМСО D:\\ ARD 23

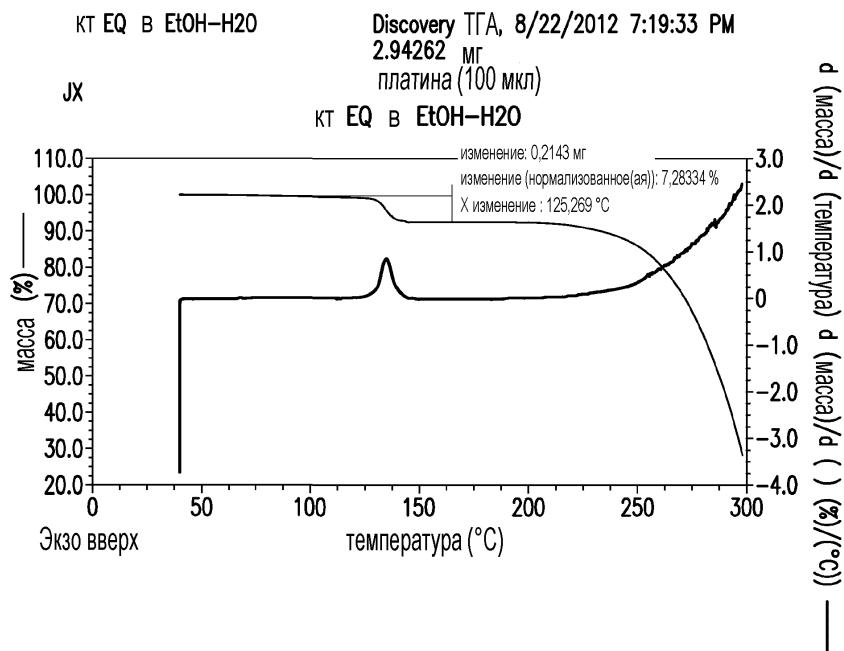


Фиг. 13

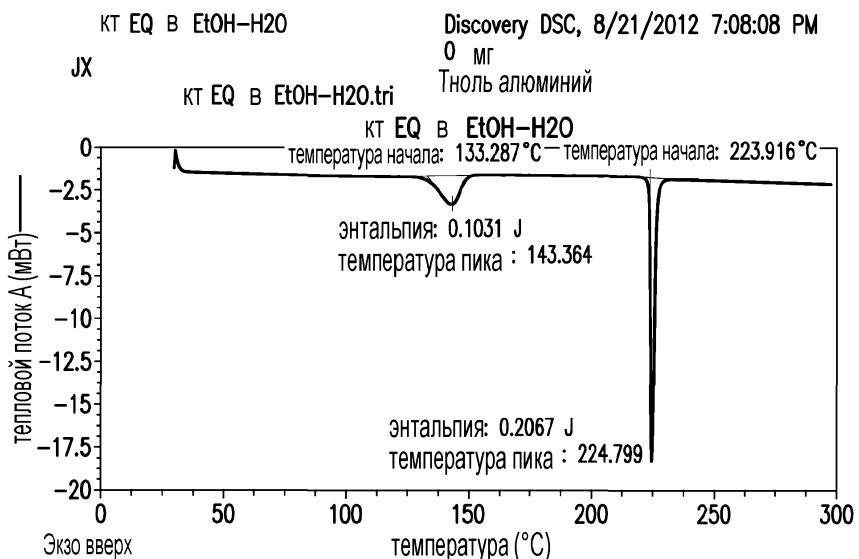
ИМПУЛЬСЫ



Фиг. 14



Фиг. 15



Фиг. 16

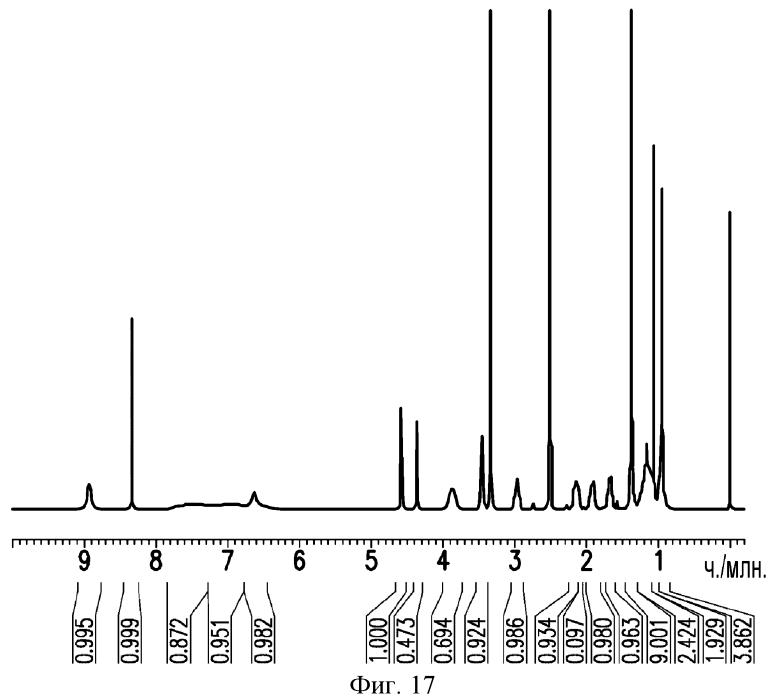


текущие параметры данных
NAME EQ RT В EtOH-H2O

EXPNO 10
PROCNO 1
F5 - приемочные параметры
дата 20120904
время 9.30
INSTRUM spect
PROBHD 5 MM PABBO BB-
PULPROG ug30
TD 65536
растворитель ДМСО
NS 32
DS 2

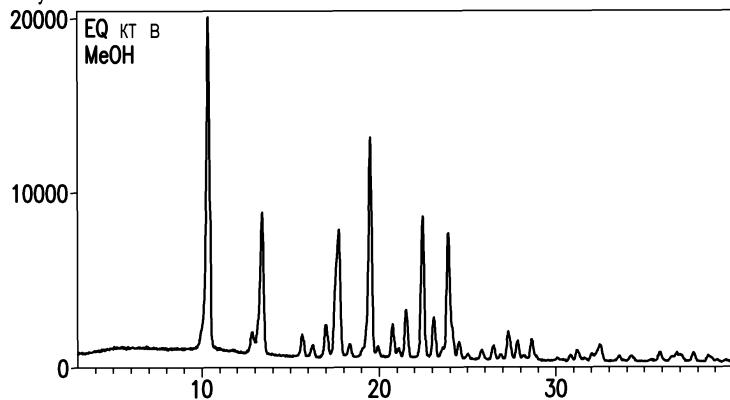
— CHANNEL f1 —
NUC1 1H
P1 9.25 usec
PL1 -3.00 dB
PL1W 30.32182693 W
SF01 300.1418535 MHz
F5 - параметры процесса
SI 32768
SF 300.1400003 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 He
GB 0
PC 1.00

EQ RT В EtOH-H2O
PROTON ДМСО D:\\ ARD 14

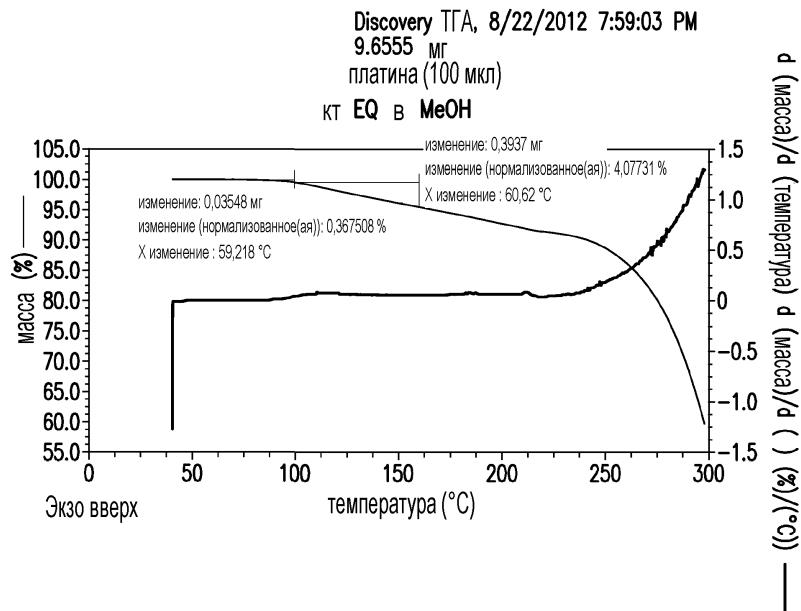


Фиг. 17

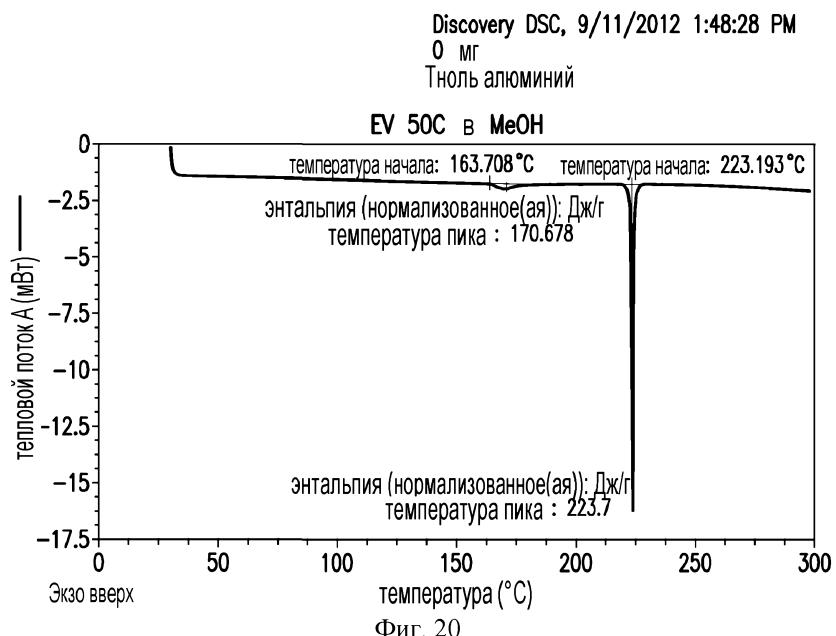
импульсы

положение [2θ] (медь (Cu))

Фиг. 18



Фиг. 19



Фиг. 20

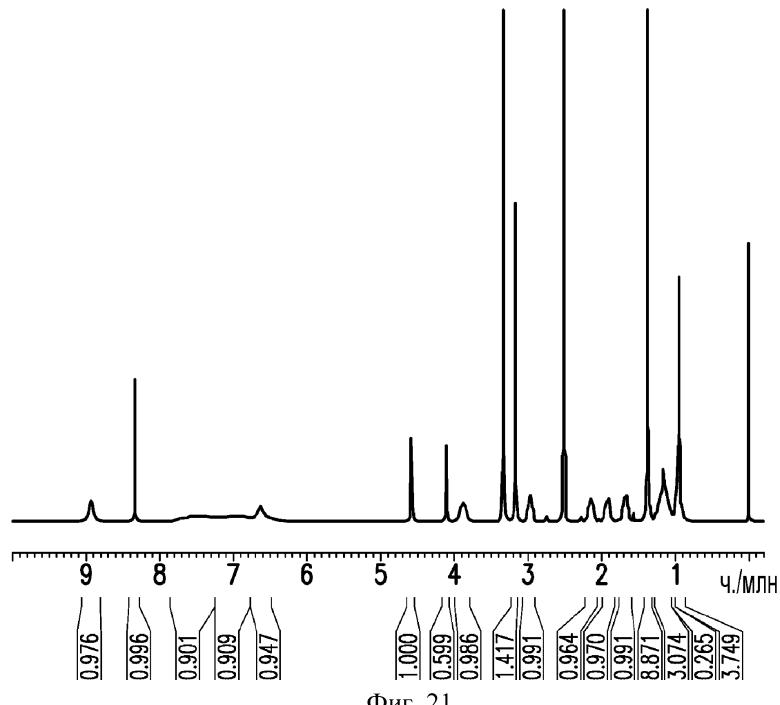


текущие параметры данных

NAME EQ RT В MeOH
 EXPNO 10
 PROCNO 1
 F5 - приемочные параметры
 дата 20120904
 время 9.30
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 MM PABBO BB-
 PULPROG uq30
 TD 65536
 растворитель ДМСО
 NS 32
 DS 2

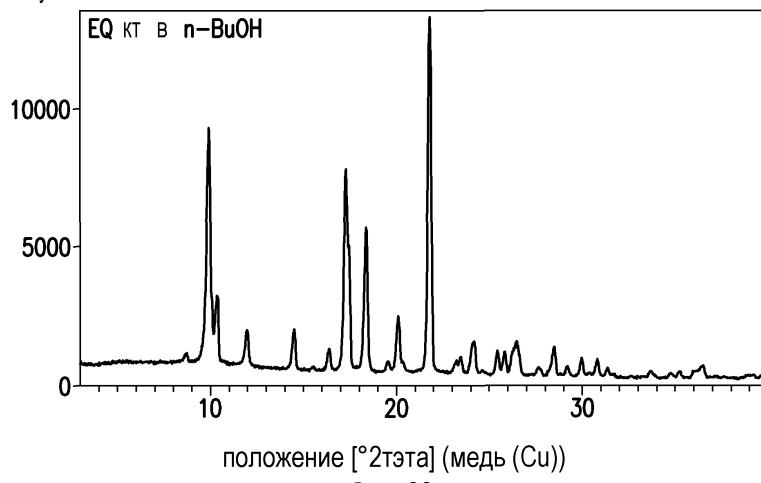
— CHANNEL f1 —
 NUC1 1H
 P1 9.25 usec
 PL1 -3.00 dB
 PL1W 30.32182693 W
 SF01 300.1418535 MHz
 F5 - параметры процесса
 SI 32768
 SF 300.1400003 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 Hz
 GB 0
 PC 1.00

EQ KT В MeOH
 PROTON ДМСО D:\\ ARD 25

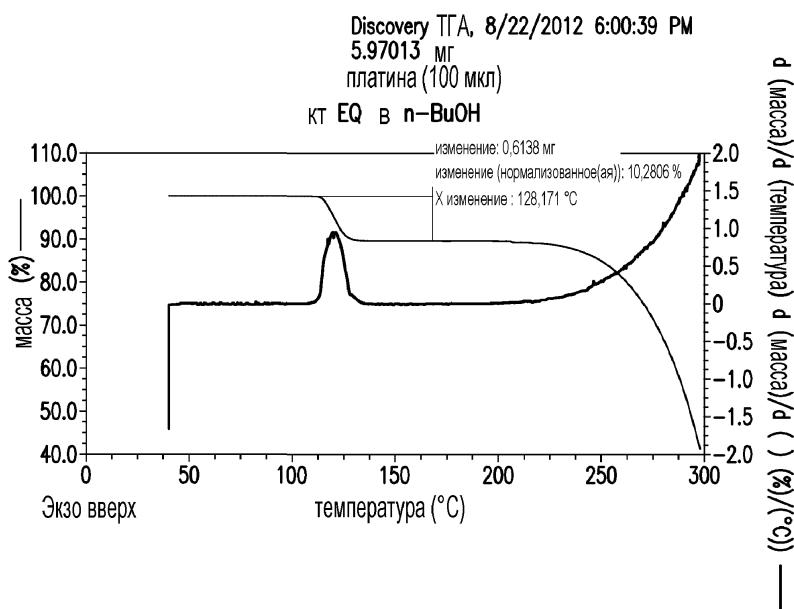


Фиг. 21

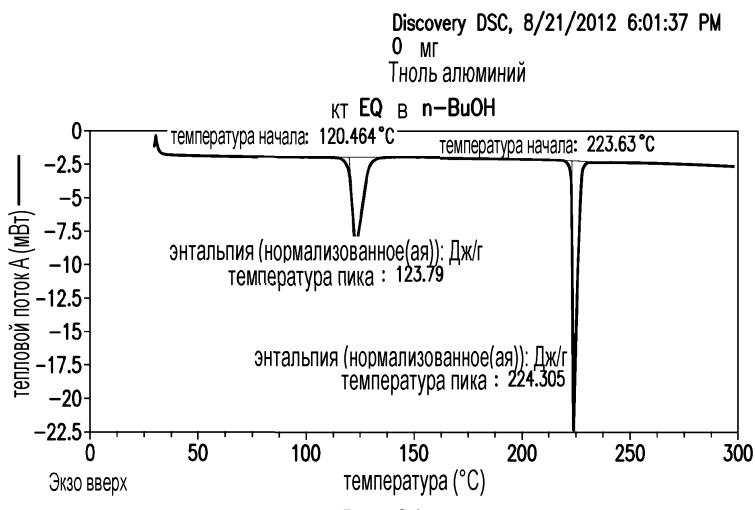
ИМПУЛЬСЫ



Фиг. 22



Фиг. 23



Фиг. 24

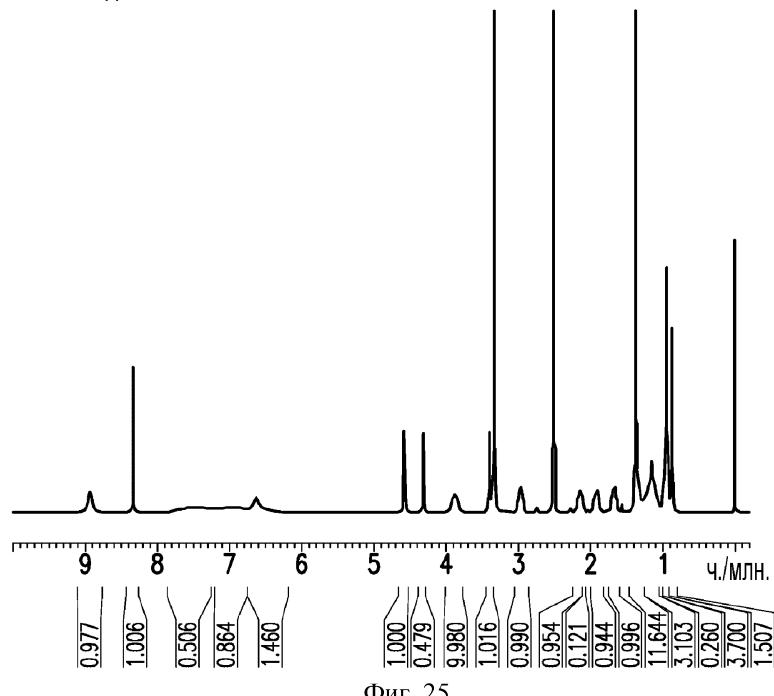


текущие параметры данных
NAME EQ RT В n-BuOH

EXPNO 10
PROCNO 1
F5 - приемочные параметры
дата 20120904
время 9.30
INSTRUM spect
PROBHD 5 MM PABBO BB-
PULPROG zg30
TD 65536
растворитель ДМСО
NS 32
DS 2

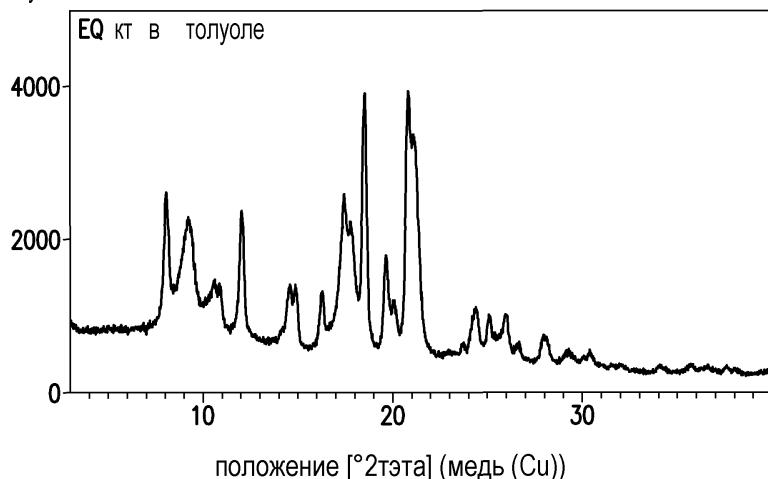
— CHANNEL f1 —
NUC1 1H
SWH 6186.119 Hz
FIDRES 0.094423 Hz
AQ 5.2953587 СЕК.
RG 25.4
DW 80.800 usec
DE 6.50 usec
TE 297.5 K
D1 1.0000000 СЕК.
TDO 1
F5 - параметры процесса
SI 32768
SF 300.1400003 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 0.30 Hz
GB 0
PC 1.00

EQ КТ В n-BuOH
PROTON ДМСО D:\\ ARD 26

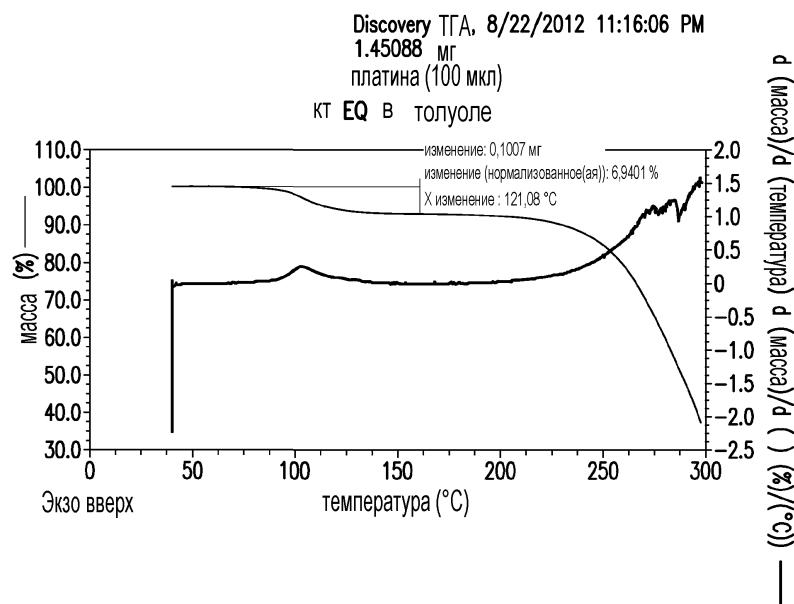


Фиг. 25

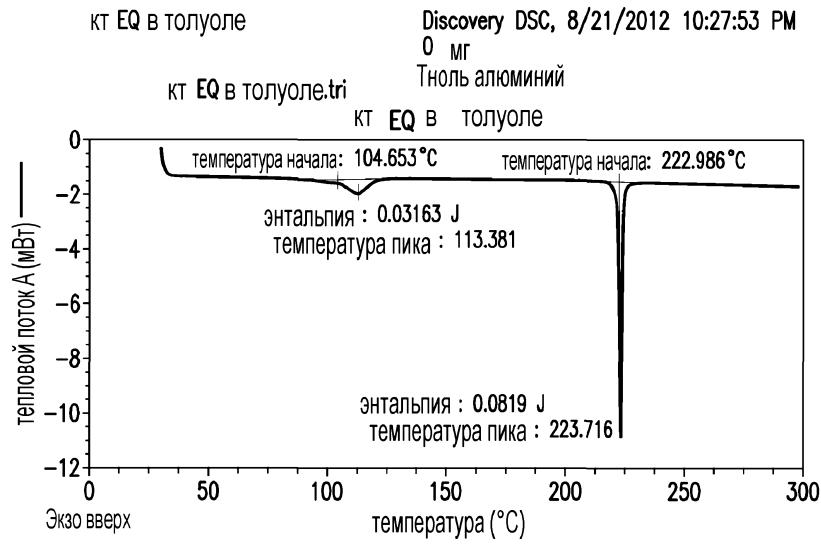
импульсы



Фиг. 26



Фиг. 27



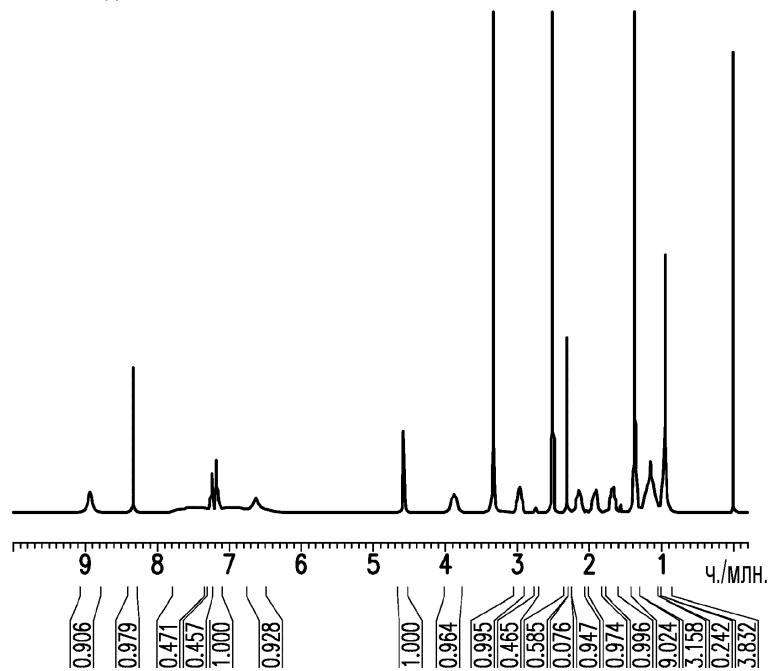
Фиг. 28



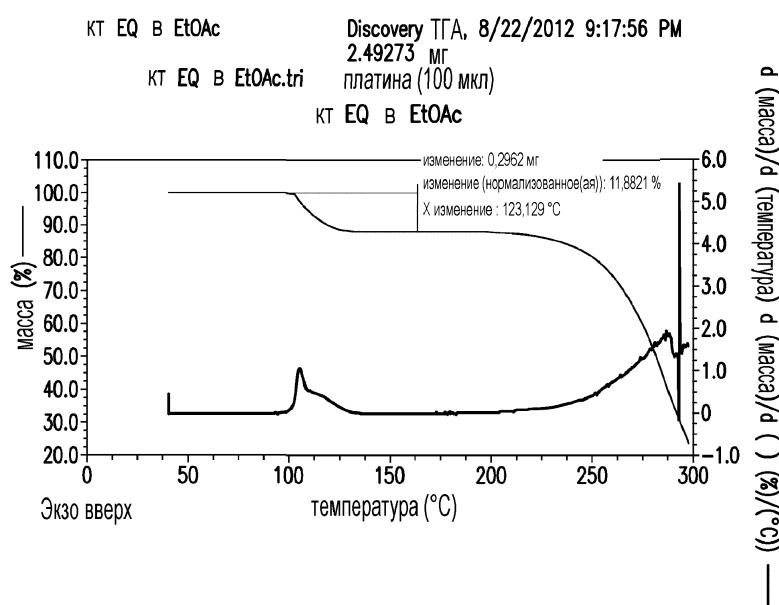
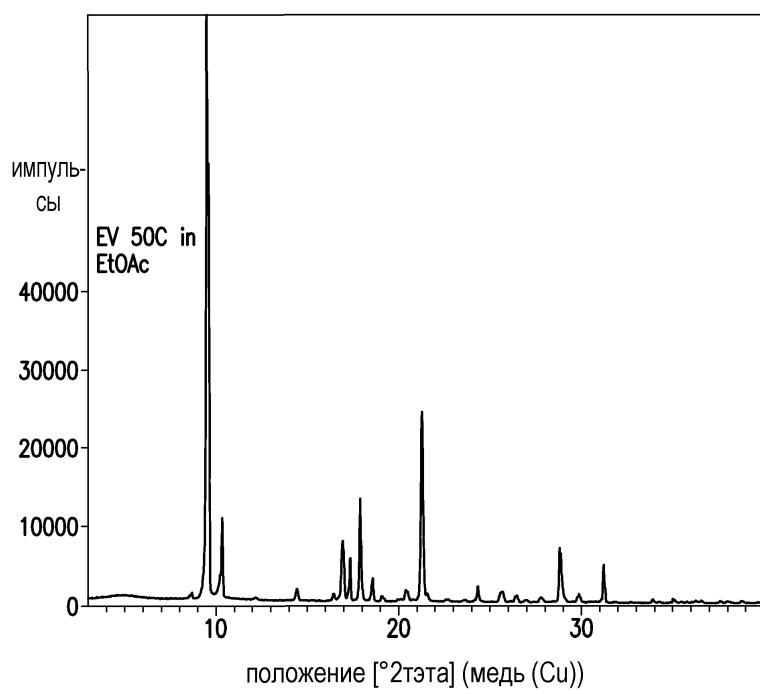
текущие параметры данных
 NAME EQ КТ В ТОЛУОЛЕ
 EXPNO 10 SWH 6186.119 He
 PROCNO 1 FIDRES 0.094423 He
 F5 - приемочные параметры AQ 5.2953587 СЕК.
 дата 20120904 RG 25.4
 время 9.30 DW 80.800 usec
 INSTRUM spect DE 6.50 usec
 PROBHD 5 MM PABBO BB- TE 297.5 K
 PULPROG ug30 D1 1.0000000 СЕК.
 TD 65536 TDO 1
 растворитель ДМСО
 NS 32
 DS 2

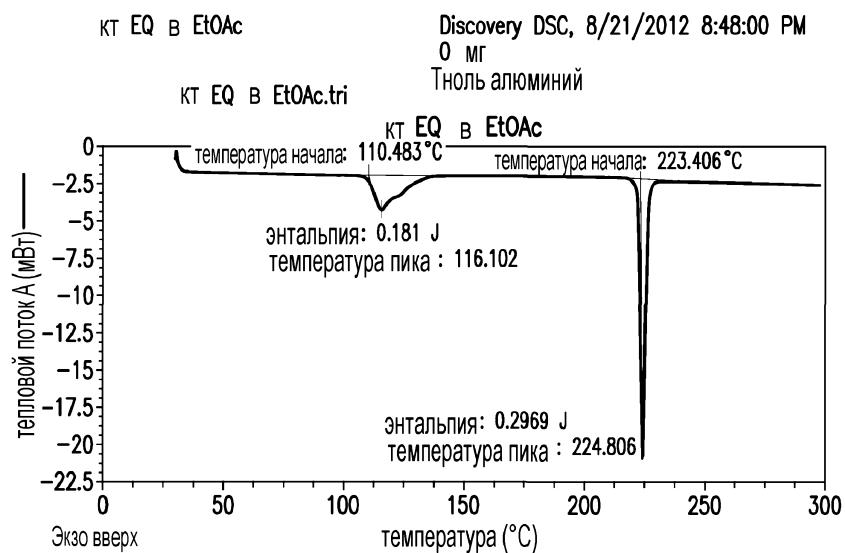
— CHANNEL f1 —
 NUC1 1H
 P1 9.25 usec
 PL1 -3.00 dB
 PL1W 30.32182693 W
 SF01 300.1418535 MHe
 F5 - параметры процесса
 SI 32768
 SF 300.1400003 MHe
 WDW EM
 SSB 0
 LB 0.30 He
 GB 0
 PC 1.00

EQ КТ В ТОЛУОЛЕ
 PROTON ДМСО D:\\ ARD 27



Фиг. 29





Фиг. 32



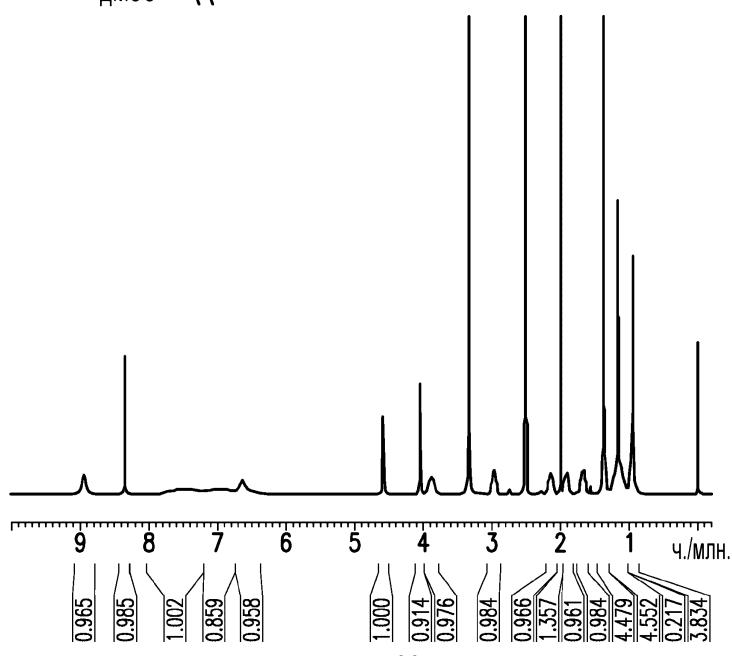
текущие параметры данных

NAME	EV 50C в EtOAc
EXPNO	10
PROCNO	1
F5 - приемочные параметры	
дата	20120904
время	9.30
INSTRUM	spect
PROBHD	5 MM PABBO BB-
PULPROG	ug30
TD	65536
растворитель	ДМСО
NS	32
DS	2

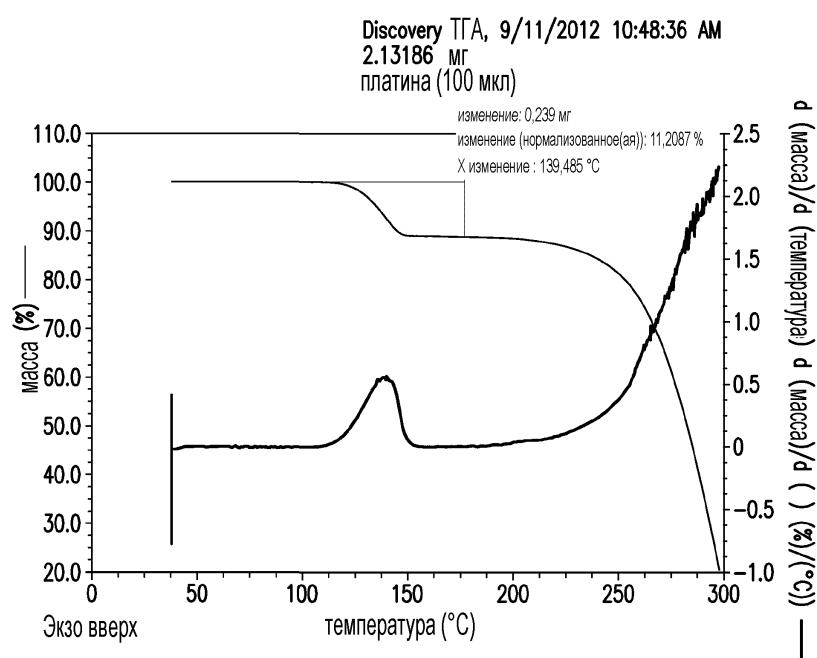
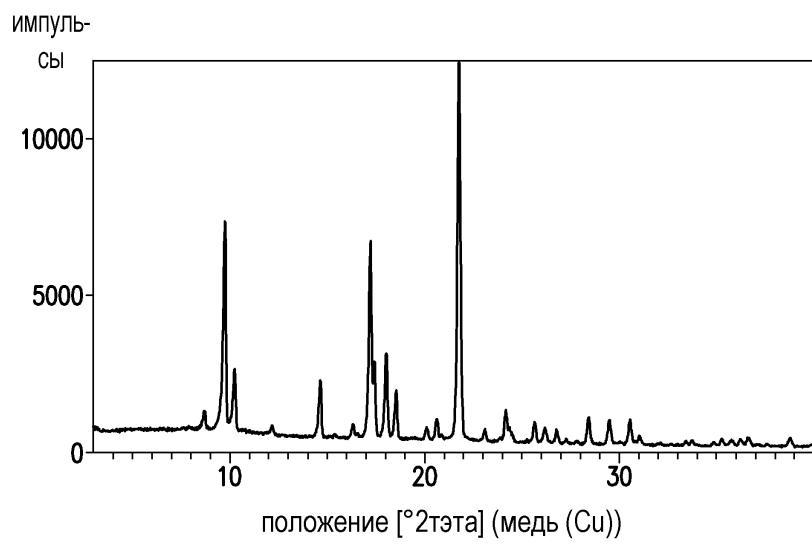
CHANNEL f1

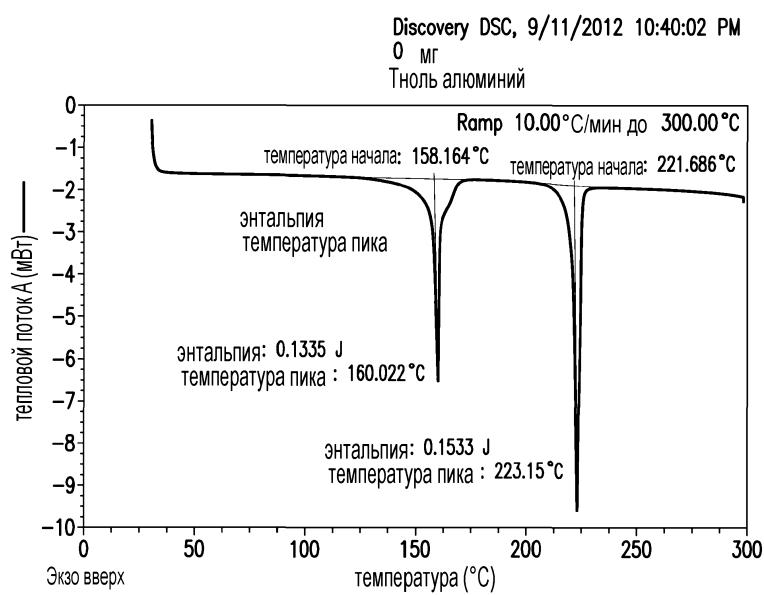
NUC1	1H
P1	9.25 usec
PL1	-3.00 dB
PL1W	30.32182693 W
SF01	300.1418535 MHz
F5 -	параметры процесса
SI	32768
SF	300.1400003 MHz
WDW	EM
SSB	0
LB	0.30 He
GB	0
PC	1.00

EV 50C в EtOAc
 PROTON ДМСО D:\\ ARD 28

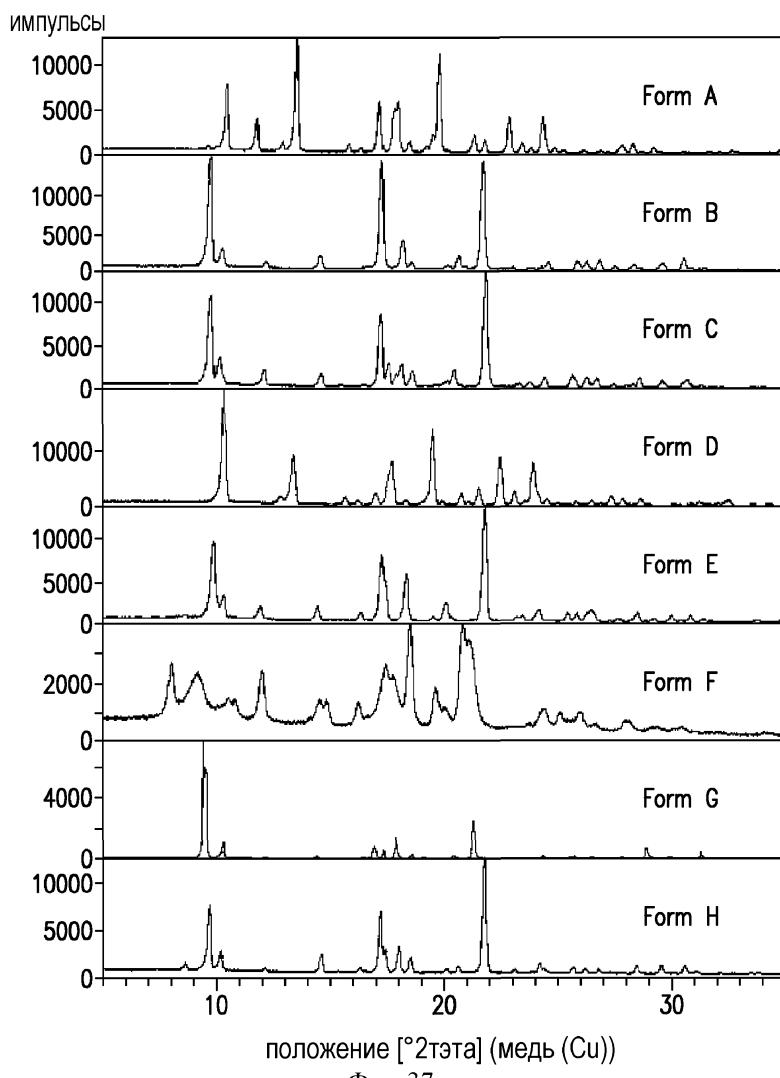


Фиг. 33

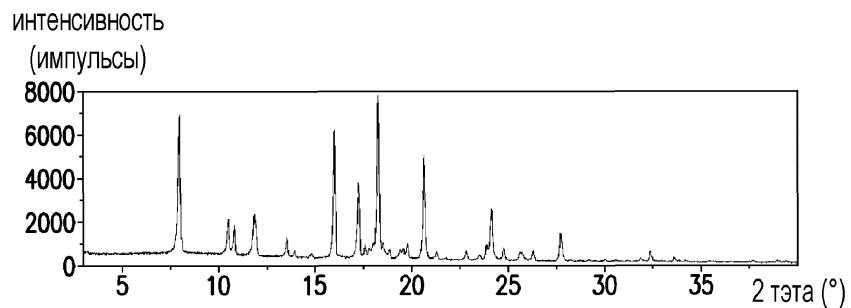




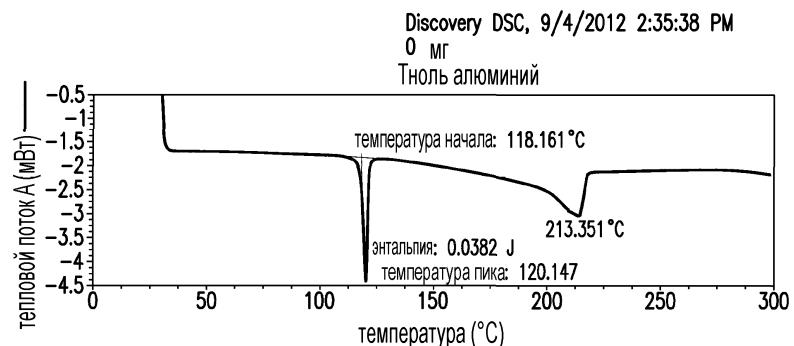
Фиг. 36



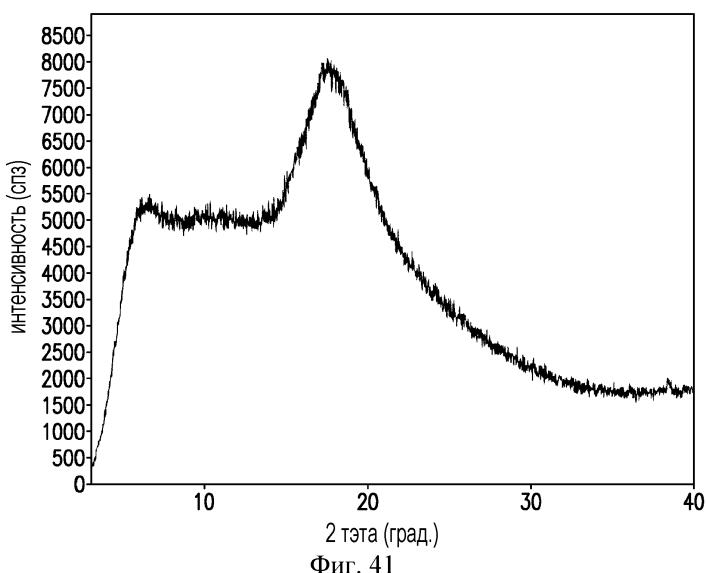
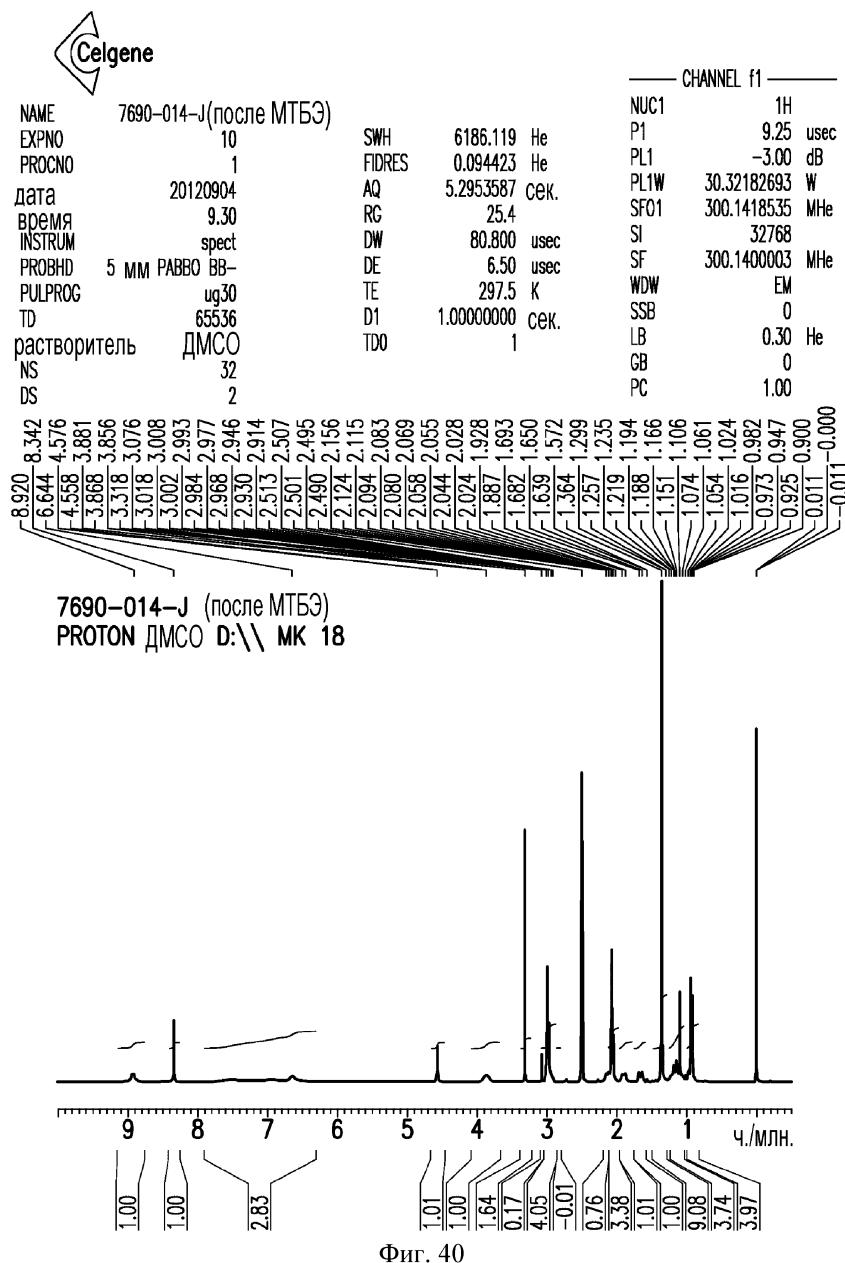
Фиг. 37

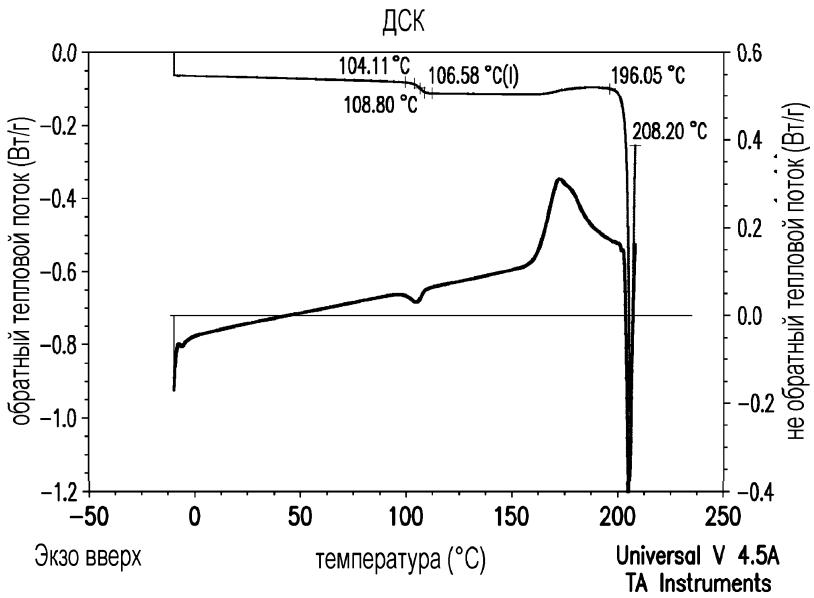


Фиг. 38

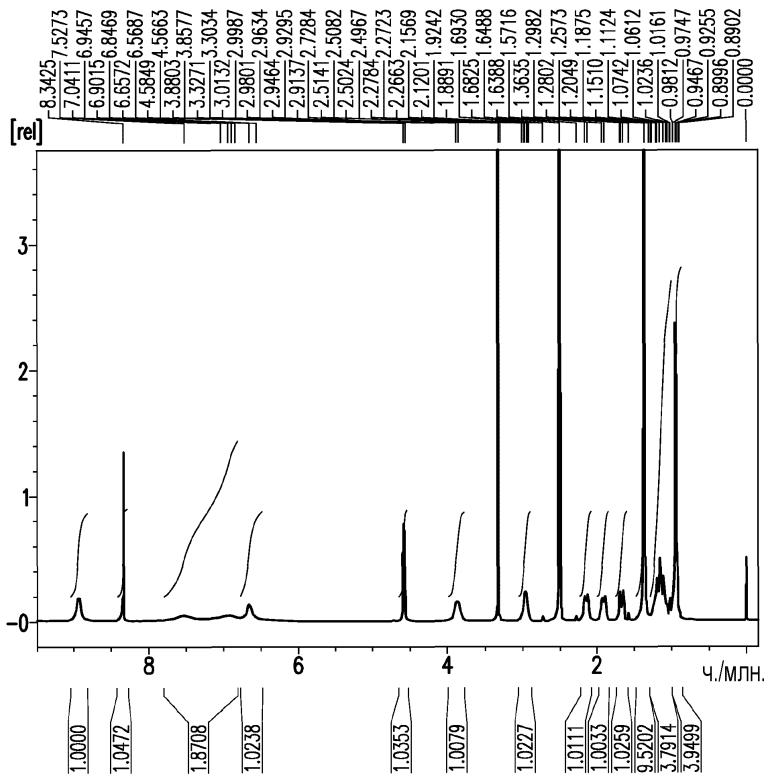


Фиг. 39

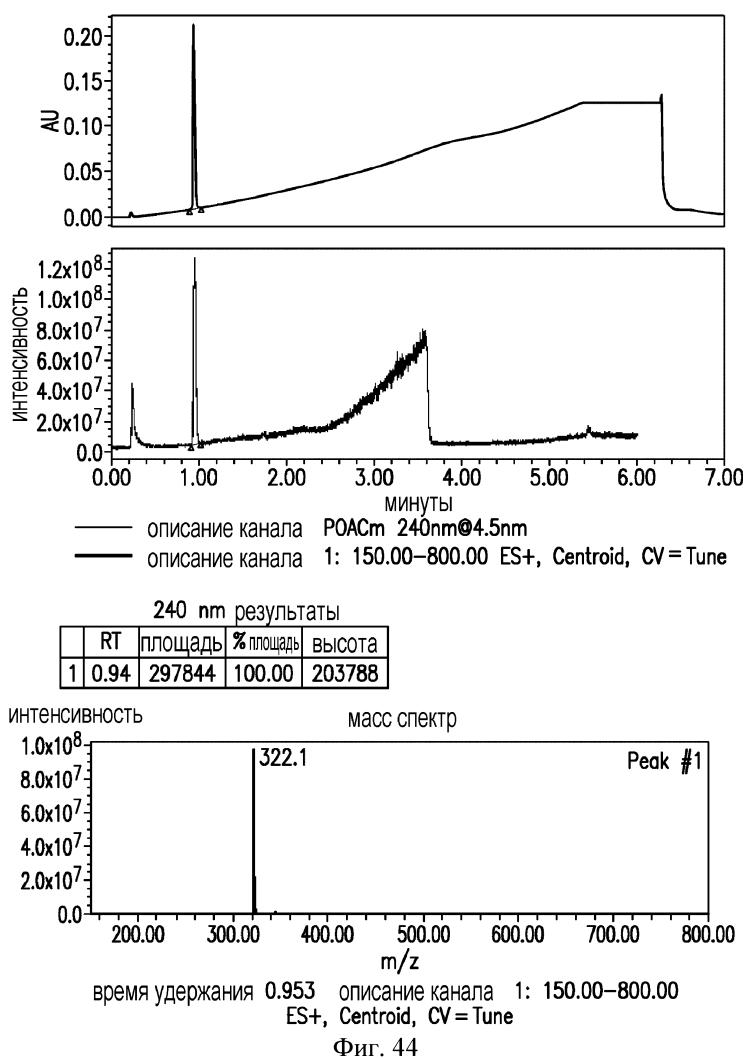




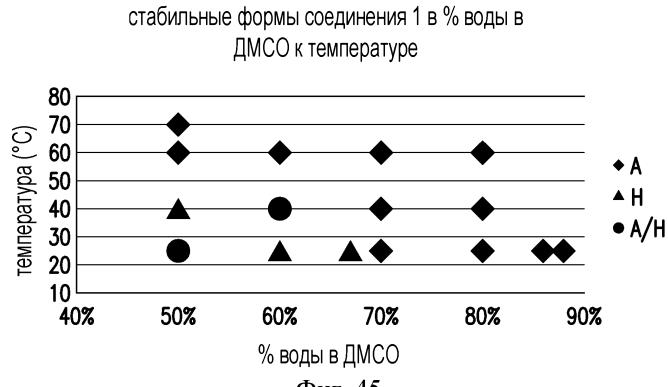
Фиг. 42



Фиг. 43



Фиг. 44



Фиг. 45