



MD/EP 4157831 T2 2025.04.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 4157831 (13) T2

(51) Int. Cl.:C07D 403/14 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

<p>(21) Numărul de depozit: e 2023 0385</p> <p>(22) Data de depozit: 2021.06.02</p> <p>(96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european:21734728.5, 2021.06.02</p> <p>(97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european:4157831, 2023.04.05</p> <p>(31) Numărul cererii prioritare: 202063033618 P</p> <p>(32) Data de depozit a cererii prioritare: 2020.06.02</p> <p>(33) Țara cererii prioritare: US</p>	<p>(49) Data publicării traducerii fascicului de brevet european validat: BOPI nr. 04/2025, 2025.04.30</p> <p>(80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 44/2024, 2024.10.30</p> <p>(82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 04/2023, 2023.04.30</p>
<p>(71) Solicitant: INCYTE CORPORATION, US</p> <p>(72) Inventatori: ZHOU Jiacheng, US; DAI Yingrui, US; JIA Zhongjiang, US; PAN Yongchun, US; PARKS James M., US; TOMAINE Anthony J., US; WANG Jianji, US; ZHANG Aibin, US</p> <p>(73) Titular: INCYTE CORPORATION, US</p> <p>(74) Mandatar autorizat: PARASCA Dumitru</p>	

(54) Procedee de obținere a unui inhibitor JAK1

(57) Rezumat:

Prezenta cerere de brevet furnizează procese pentru prepararea 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetid-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamidei, și a sării acidului fosforic al acesteia, care sunt utile ca un inhibitor selectiv al JAK1 (kinază Janus 1), precum și ca forme de sare și intermediari legați de aceasta.

Revendicări: 33

Figuri: 3

MD/EP 4157831 T2 2025.04.30

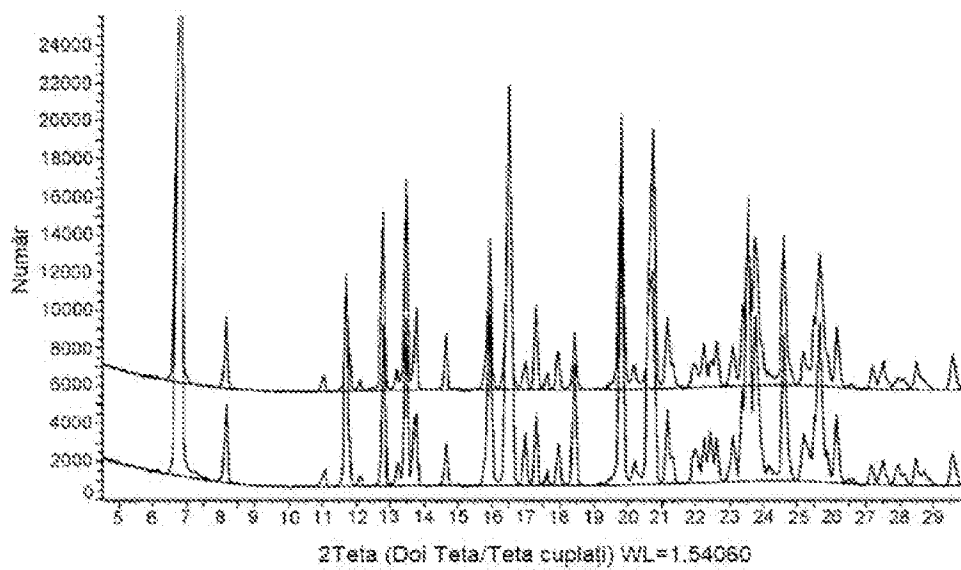


FIG. 3

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de titular)****REFERINȚĂ ÎNCRUCIȘATĂ LA APLICAȚII ÎNRUDITE**

5 Această aplicație revendică prioritatea, și beneficiul la, cererea de brevet provizorie S.U.A. nr. 63/033.618, depusă pe 2 iunie 2020.

DOMENIUL TEHNIC

10 Prezenta cerere de brevet furnizează procedee pentru prepararea 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetid-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamidei, și a sării acidului fosforic a acesteia, care este utilă ca inhibitor selectiv al JAK1 (Kinază Janus 1), precum și a formelor de sare și intermediarilor înrudiți cu aceasta.

FUNDAL

15 Protein kinazele (PK) reglează diverse procese biologice incluzând creșterea, supraviețuirea, diferențierea celulară, formarea organului, morfogeneza, neovascularizarea, repararea și regenerarea țesutului, printre altele. Protein kinazele joacă de asemenea roluri specializate în găzduirea bolilor la oameni incluzând cancerul. Citokinele, polipeptide sau glicoproteine cu masă moleculară scăzută, reglează multe

20 căi implică în răspunsul inflamator al gazdei la septicemie. Citokinele influențează diferențierea, proliferarea și activarea celulară, și pot modula atât răspunsurile proinflamatorii cât și răspunsurile antiinflamatorii pentru a permite gazdei să reacționeze adecvat la patogeni. Semnalizarea unei game largi de citokine implică familia de Kinaze Janus (JAK-uri) de protein tirozin kinaze și traductoare de semnal și activatoare ale transcripției (STAT-uri). Există patru JAK-uri de mamifer cunoscute: JAK1 (Kinază Janus-1), JAK2, JAK3 (cunoscute de asemenea ca Kinază Janus, leucocite; JAKL; și L-JAK), și TYK2 (protein-tirozin kinază 2).

25 Răspunsurile imune și inflamatorii stimulate de citokine contribuie la patogeneza bolilor: patologii cum ar fi imunodeficiența combinată severă (SCID) apar din supresia sistemului imunitar, în timp ce un răspuns imun/inflamator hiperactiv sau necorespunzător contribuie la patologia bolilor autoimune (*de exemplu*, astm, lupus eritematos sistemic, tiroidită, miocardită), și a bolilor cum ar fi sclerodermie și osteoartrită (Ortmann, R. A., T. Cheng, și colab. (2000) *Arthritis Res* 2(1): 16-32).

30 Deficiențele în expresia JAK-urilor sunt asociate cu multe stări de boală. De exemplu, șoarecii Jak1-/- sunt răniți la naștere, nu reușesc să alăpteze, și mor perinatal (Rodig, S. J., M. A. Meraz, și colab. (1998) *Cell* 93(3): 373-83). Embriunii de șoareci Jak2-/- sunt anemici și mor în jurul zilei 12,5 postcoitum din cauza absenței eritropoiezei definitive.

35 Calea JAK/STAT, și în particular toate cele patru JAK-uri, se crede că joacă un rol în patogeneza răspunsului astmatic, bolii pulmonare obstructive cronice, bronșitei, și a altor boli inflamatorii înrudite ale tractului respirator inferior. Multiple citokine care semnalizează prin JAK-uri au fost legate de bolile/afecțiunile inflamatorii ale tractului respirator superior, cum ar fi cele care afectează nasul și sinusurile (*de exemplu*, rinită și sinuzită) indiferent dacă există reacții alergice clasice sau nu. Calea JAK/STAT a fost de asemenea implicată în boli/afecțiuni inflamatorii ale ochiului și răspunsurilor alergice cronice.

40 Activarea JAK/STAT în cancer poate avea loc prin stimularea citokinelor (*de exemplu* IL-6 sau GM-CSF) sau printr-o reducere a supresorilor endogeni ai semnalizării JAK cum ar fi SOCS (supresor sau semnalizare de citokine) sau PIAS (inhibitor proteic al STAT activat) (Boudny, V., și Kovarik, J., *Neoplasms*. 49:349-355, 2002). Activarea semnalizării STAT, precum și a altor căi în aval ale JAK-urilor (*de exemplu*, Akt), au fost corelate cu prognoza slabă în multe tipuri de cancer (Bowman, T., și colab. *Oncogene* 19:2474-2488, 2000). Nivelurile ridicate de citokine în circulație care semnalizează prin JAK/STAT joacă un rol causal în cașexie și/sau oboseala cronică. Ca atare, inhibarea JAK poate fi benefică pentru pacienții cu cancer din motive care se extind dincolo de potențiala activitate antitumorală.

45 Tirozin kinaza JAK2 poate fi benefică pentru pacienții cu tulburări mieloproliferative, *de exemplu*, policitemia vera (PV), trombocitemie esențială (ET), metaplazie mieloidă cu mielofibroză (MMM) (Levin, și colab., *Cancer Cell*, vol. 7, 2005: 387-397). Inhibarea kinazei JAK2V617F scade proliferarea celulelor hematopoietice, sugerând JAK2 ca potențială țintă pentru inhibarea farmacologică la pacienții cu PV, ET, și MMM.

55 Inhibarea JAK-urilor poate aduce beneficii pacienților care suferă de tulburări imunitare ale pielii cum ar fi psoriazis, și sensibilizarea pielii. Se crede că întreținerea psoriazisului depinde de un număr de citokine inflamatorii în plus față de diferitele chemokine și factori de creștere (JCI, 113:1664-1675), din care multe prin semnalizarea JAK-urilor (Adv Pharmacol. 2000;47:113-74).

Astfel, agenții noi sau îmbunătățiți care inhibă kinazele cum ar fi JAK-urile, sunt în continuare necesari pentru dezvoltarea de noi și mai eficiente produse farmaceutice care vizează creșterea sau supresia căilor imune și inflamatorii (cum ar fi agenții imunosupresivi pentru transplanturile de organe), precum și

de agenți pentru prevenirea și tratamentul bolilor autoimune, a bolilor care implică un răspuns inflamator hiperactiv (*de exemplu*, eczemă), alergii, cancer (*de exemplu*, prostată, leucemie, mielom multiplu), și unele reacții imunitare (*de exemplu*, iritații ale pielii sau dermatită de contact sau diaree) cauzate de alți agenți terapeutici. Inhibitorii JAK-urilor sunt în curs de dezvoltare. În timp ce există inhibitori ai JAK și procese de preparare a lor în literatură, rămâne o necesitate pentru noi procese pentru prepararea acestor inhibitori având proprietăți adecvate utile în fabricarea pentru vânzare, eficiente, de calitate ridicată a produsului medicamentos. Prezenta divulgare este descrisă aici direcționată spre acest scop.

REZUMAT

Prezenta divulgare furnizează procedee de preparare a inhibitorului selectiv al JAK1, 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1*H*,1'*H*-4,4'-bipirazol-1-il)azetidină-1-il]-2,5-difluoro-*N*-[(1*S*)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamidă, sau a formelor de sare ale acesteia, incluzând sarea acidului fosforic de 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1*H*,1'*H*-4,4'-bipirazol-1-il)azetidină-1-il]-2,5-difluoro-*N*-[(1*S*)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil] benzamidă, și compuși intermediari înrudiți cu aceasta.

SCURTĂ DESCRIERE A DESENELOR

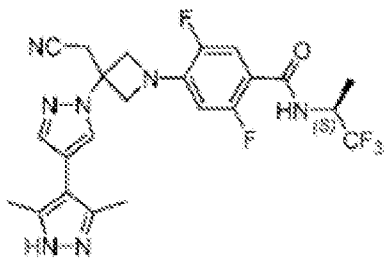
FIG. 1. prezintă o urmă reprezentativă de calorimetrie cu scanare diferențială (DSC) pentru acidul fosforic al Compusului 1, preparat în conformitate cu procesul descris în Exemplul 1.

FIG. 2 prezintă o urmă reprezentativă de analiză termogravimetrică (TGA) pentru acidul fosforic al Compusului 1, preparat în conformitate cu procesul descris în Exemplul 1.

FIG. 3 prezintă o urmă reprezentativă de difracție cu raze X pe pulbere (XRPD) pentru acidul fosforic al Compusului 1, preparat în conformitate cu procesul descris în Exemplul 1, suprapusă cu o urmă XRPD a acidului fosforic al Compusului 1 preparat în conformitate cu un procedeu descris în brevetul S.U.A. nr.: 9.382.231.

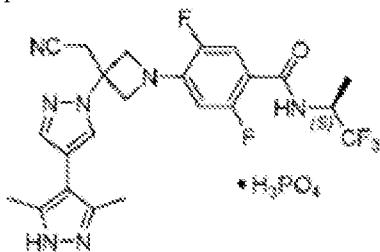
DESCRIERE DETALIATĂ

Prezenta divulgare furnizează procese de preparare a inhibitorului selectiv JAK1, 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1*H*,1'*H*-4,4'-bipirazol-1-il)azetidină-1-il]-2,5-difluoro-*N*-[(1*S*)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamidă (vezi mai jos), la care se face referire în acest document ca „Compusul 1”. Baza liberă a compusului este prezentată mai jos.



Baza liberă a Compusului 1

Prezenta divulgare furnizează de asemenea un proces de preparare al sării acidului fosforic al bazei libere a Compusului 1 (vezi mai jos), sare a acidului fosforic de 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1*H*,1'*H*-4,4'-bipirazol-1-il)azetidină-1-il]-2,5-difluoro-*N*-[(1*S*)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamidă, la care se face referire în acest document ca „sare a acidului fosforic a Compusului 1”, „fosfat al Compusului 1”, sau „sare fosfat a Compusului 1”.



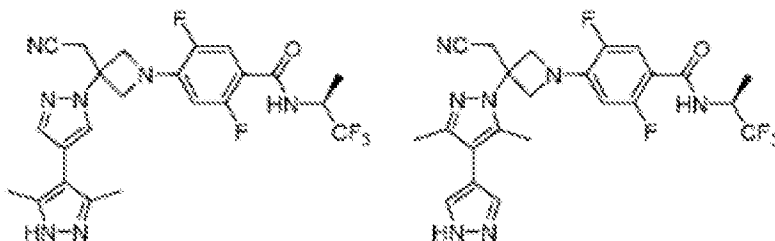
Sare a acidului fosforic al Compusului 1

Un proces exemplificativ de preparare a Compusului 1 și a sării sale a acidului fosforic este divulgat în US2014/0343030, care este încorporat aici prin referință în întregime. Procesele de preparare ale bazei libere a Compusului 1 și ale sării sale a acidului fosforic prezentate aici au câteva avantaje față de procesul divulgat în US2014/0343030, făcând procesele furnizate aici mai adecvate pentru procesele de fabricare pe scară largă. De exemplu, un proces exemplificativ descris aici este o sinteză convergentă care

asigură randamente ridicate, crescând eficacitatea unei sinteze multi-etapă în comparație cu sinteza liniară din US2014/0343030. Randamentele produselor intermediare cum ar fi cele prezentate în Schema 2 (*vezi mai jos*) variază de la aproximativ 93% până la aproximativ 94% pe o scară care variază de la aproximativ 670 grame până la aproximativ 2000 grame. În plus, randamentele bazei libere a Compusului 1 și a sării sale a acidului fosforic așa cum se arată în Schema 5 (*vezi mai jos*) variază de la aproximativ 90% până la aproximativ 97% pe o scară care variază de la 430 grame până la aproximativ 5800 grame. Randamentul general al procesului furnizat aici începând cu prepararea de (S)-2,4,5-trifluoro-N-[1,1,1-trifluoropropan-2-il]benzamidă (Compusul **1a**, Schema 2, *vezi mai jos*) până la baza liberă a Compusului 1 este de la aproximativ 68% până la aproximativ 70% într-o sinteză cu cinci etape, în timp ce randamentul general care utilizează procesul în US2014/0343030 este mai mic de 5%, necesitând șase etape începând cu prepararea de (S)-2,4,5-trifluoro-N-[1,1,1-trifluoropropan-2-il]benzamidă până la baza liberă a Compusului 1.

Procesele divulgate aici oferă o bună puritate a produsului și randament ridicat pe o scară largă. De exemplu, în US2014/0343030 reacția de cuplare Suzuki a 4-{3-(cianometil)-3-[4-(4,4,5,5-tetrametil-15-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol-1-il]azetidină-1-il}-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamidei cu 4-bromo-3,5-dimetil-1H-pirazolul în prezența unui catalizator de paladiu pentru a genera baza liberă a Compusului 1, conduce la randament scăzut (randament mai mic de aproximativ 10%, Exemplul 7) și necesită îndepărtarea contaminanților de paladiu din produs. Într-un proces exemplificativ furnizat aici, etapa de cuplare Suzuki care implică un catalizator de paladiu este efectuată într-o sinteză paralelă separată pentru a genera un compus bipirazol (Compusul **2x**, Schema 1, *vezi mai jos*), care este apoi cuplat cu (S)-4-(3-(cianometilen)azetidină-1-il)-2,5-difluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă pentru a genera baza liberă a Compusului 1 (Schema 5, *vezi mai jos*). Compusul **2x** poate fi purificat cu ușurință ca sare HCl foarte cristalină. Procesul de cristalizare permite Compusului **2x** să fie mai ușor purificat pentru a îndepărta impuritățile de paladiu decât complexul multi-azot conținând baza liberă a Compusului 1. Acest lucru reprezintă un avantaj față de procesul anterior care a necesitat o separare cromatografică pe coloană cu un randament scăzut. În plus, plasarea etapei de cuplare a paladiului mai devreme în procesul sintetic a îmbunătățit randamentul general.

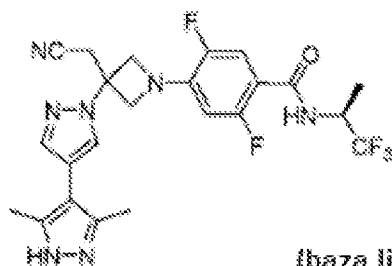
În plus, utilizarea compusului bipirazol (Compusul **2x**) într-o reacție de adăugare Michael cu Compusul **1x**, a condus în mod neașteptat la un grad ridicat de regioselectivitate. În unele realizări, regioselectivitatea a fost de aproximativ 20:1 sau mai mare în favoarea regioizomerului dorit, baza liberă a Compusului 1, față de regioizomerul nedorit (Compusul R prezentat mai jos). Pe baza efectelor electronice, compusul regioizomer R a fost produsul așteptat, deoarece cele două grupări metil donatoare de electroni fac gruparea 1H-NH a Compusului **2x** mai nucleofilică decât gruparea 1'H-NH. Fără a se limita la o teorie particulară, se crede că acea hindranță sterică a grupării 1H-NH conduce la un grad neașteptat de ridicat de regioselectivitate.



Baza liberă a Compusului 1

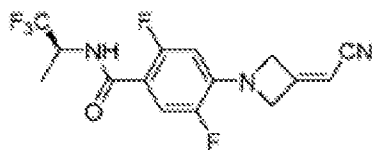
Compusul R

În unele realizări, prezenta divulgare se referă la un proces de preparare a



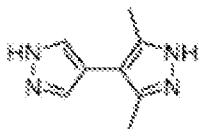
(baza liberă a Compusului 1),

sau o sare a acestuia, cuprinzând punerea în reacție a



(Compusul 1x)

cu



(Compusul 2x)

pentru a forma baza liberă a Compusului 1, sau o sare a acestuia.

5 În unele realizări, punerea în reacție a Compusului 1x cu Compusul 2x este efectuată în prezența 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enei (DBU) și a unei componente de solvent organic. În unele realizări, componenta de solvent organic cuprinde dimetilformamidă (DMF).

10 În unele realizări, punerea în reacție a Compusului 1x cu Compusul 2x este efectuată la o temperatură de la aproximativ 40°C până la aproximativ 70°C, de la aproximativ 45°C până la aproximativ 65°C, sau de la aproximativ 50°C până la aproximativ 60°C. În unele realizări, temperatura este de la aproximativ 50°C până la aproximativ 60°C. De exemplu, temperatura este de aproximativ 60°C.

În unele realizări, procesul de preparare a bazei libere a Compusului 1 cuprinde în plus o prelucrare după ce reacția este completă. De exemplu, prelucrarea poate cuprinde adăugarea de apă la amestecul de reacție și colectarea bazei libere solide a Compusului 1 prin filtrare, care poate fi spălată cu apă.

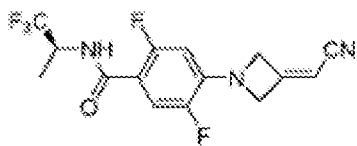
15 În unele realizări, prezenta divulgare furnizează un proces de preparare a sării acidului fosforic al Compusului 1 cuprinzând punerea în reacție a unei baze libere a Compusului 1 preparată printr-un proces descris aici cu acidul fosforic. În unele realizări, sarea Compusului 1 este o sare a acidului fosforic a Compusului 1 care este preparat printr-un proces cuprinzând punerea în reacție a unei baze libere a Compusului 1 cu acidul fosforic.

20 În unele realizări, punerea în reacție a unei baze libere a Compusului 1 cu acidul fosforic este efectuată în prezența componentei solvent. În unele realizări, componenta solvent cuprinde metanol, izopropanol, sau un amestec al acestora.

25 În unele realizări, punerea în reacție a unei baze libere a Compusului 1 cu acidul fosforic este efectuată la o temperatură de la aproximativ 40°C până la aproximativ 70°C sau de la aproximativ 45°C până la aproximativ 55°C. De exemplu, temperatura este de aproximativ 50°C.

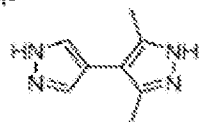
În unele realizări, acidul fosforic este o soluție apoasă de aproximativ 85% din masă acid fosforic. În unele realizări, punerea în reacție a unei baze libere a Compusului 1 cu acidul fosforic cuprinde în plus adăugarea unei a doua componente solvent la amestecul de reacție. De exemplu, a doua componentă solvent cuprinde n-heptan.

30 Prezenta divulgare furnizează de asemenea un proces de preparare a compuşilor intermediari, de exemplu,



(Compusul 1x)

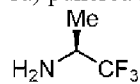
și



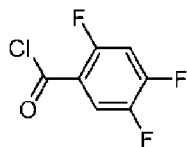
(Compusul 2x)

35 În unele realizări, prezenta divulgare furnizează un proces de preparare a Compusului 1x cuprinzând:

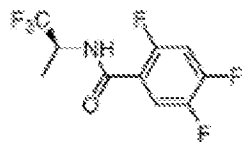
1a) punerea în reacție a



cu

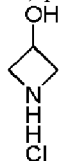


în prezența unei baze pentru a forma



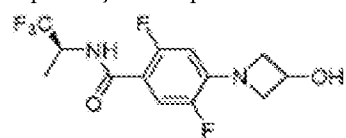
(Compusul 1a);

2a) punerea în reacție a unui Compus 1a cu



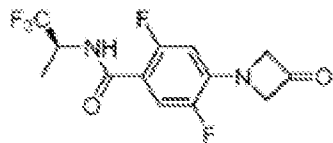
5

în prezența DBU pentru a forma



(Compusul 1b);

3a) punerea în reacție a unui Compus 1b cu diacetat de iodobenzen și TEMPO pentru a forma



(Compusul 1c);

10

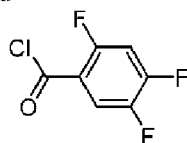
și

4a) punerea în reacție a unui Compus 1c cu dietil cianometilfosfonat în prezența unei baze pentru a forma Compusul 1x.

15

În operația 1a, (2S)-1,1,1-trifluoropropan-2-amina poate fi reacționată cu clorura de 2,4,5-trifluorobenzoyl în prezența unei baze pentru a forma Compusul 1a. În unele realizări, baza este N,N-diizopropiletilamină sau soluție apoasă de hidroxid de sodiu. În unele realizări, baza este hidroxid de sodiu apos. În unele realizări, punerea în reacție este efectuată în prezența unei componente de solvent organic (de exemplu, toluen). În unele realizări, punerea în reacție este efectuată la o temperatură de la aproximativ 0°C până la aproximativ 10°C sau de la aproximativ 0°C până la aproximativ 5°C. În unele realizări, o sare de (2S)-1,1,1-trifluoropropan-2-amină (de exemplu, o sare HCl) este convertită în baza sa liberă înainte de reacția cu

20



De exemplu, în unele realizări, sarea de (2S)-1,1,1-trifluoropropan-2-amină (de exemplu, o sare HCl) este convertită în baza sa liberă *in-situ*. În unele realizări, operația 1a cuprinde în plus o prelucrare pentru a obține Compusul 1a după ce reacția este considerată completă, de exemplu, prin HPLC. De exemplu, prelucrarea poate cuprinde separarea fazelor amestecului de reacție și spălarea fazei organice cu de exemplu, o soluție apoasă 0,5 M de hidroxid de sodiu. În unele realizări, solidul Compusului 1a poate fi suspendat în *n*-heptan la aproximativ 50°C timp de aproximativ 1 oră. Solidele pot fi colectate prin filtrare și spălate cu *n*-heptan.

25

30

În operația 2a, Compusul 1a poate fi reacționat cu clorhidrat de azetidină-3-ol în prezența a 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enă (DBU) pentru a forma Compusul 1b. În unele realizări, punerea în reacție este efectuată într-o componentă de solvent organic, care include de exemplu, acetonitril. În unele realizări, DBU poate fi adăugat la amestecul de reacție dintre Compusul 1a și clorhidratul de azetidină-3-ol în porții. În unele realizări, punerea în reacție este efectuată la o temperatură de la aproximativ 50°C până la aproximativ 75°C sau de la aproximativ 55°C până la aproximativ 70°C. De exemplu, temperatura este de

la aproximativ 58°C până la aproximativ 68°C. În unele realizări, operația 2a cuprinde în plus o prelucrare pentru a obține Compusul **1b** după ce reacția este considerată completă, de exemplu, prin HPLC. Prelucrarea poate cuprinde adăugarea unei soluții apoase de acid clorhidric 1,0 M la amestecul Compusului **1a** cu clorhidratul de azetidină-3-ol și DBU, agitând amestecul cu soluție de acid clorhidric la temperatura ambiantă, adăugând apă la amestecul agitat, și agitând amestecul la care s-a adăugat apă. Prelucrarea poate cuprinde suplimentar izolarea solidului Compusului **1b** și clătirea solidului cu apă.

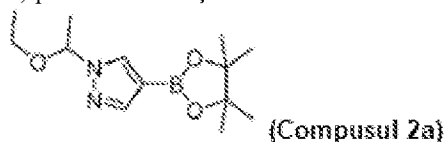
În operația 3a, Compusul **1b** poate fi reacționat cu diacetat de iodobenzen și radicalul liber de 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi (TEMPO) pentru a forma Compusul **1c**. În unele realizări, punerea în reacție este efectuată într-o componentă de solvent organic, care include de exemplu, clorură de metilen. În unele realizări, punerea în reacție este efectuată la o temperatură de la aproximativ 0°C până la aproximativ 20°C sau de la aproximativ 5°C până la aproximativ 15°C. De exemplu, temperatura este de la aproximativ 10°C până la aproximativ 12°C. În unele realizări, operația 3a cuprinde în plus o prelucrare pentru a obține Compusul **1c** după ce reacția este considerată completă, de exemplu, prin HPLC. Prelucrarea poate cuprinde stingerea reacției cu o soluție apoasă de tiosulfat de sodiu și fosfat de potasiu. Pot fi separate două faze și faza organică poate fi spălată cu apă. Soluția organică poate fi concentrată sub presiune redusă pentru a da Compusul **1c** ca solid. Solidul Compusului **1c** poate fi resuspendat în *n*-heptan la temperatura camerei timp de aproximativ 30 minute și spălat cu *n*-heptan.

În operația 4a, Compusul **1c** poate fi reacționat cu dietil cianometilfosfonat în prezența unei baze pentru a forma Compusul **1x**. Baza include de exemplu, *tert*-butoxid de potasiu. În unele realizări, punerea în reacție este efectuată în prezența unei componente de solvent organic, care include de exemplu, THF, etanol, sau un amestec al acestora. În unele realizări, se poate adăuga dietil cianometilfosfonat la o soluție de 1,0 M de *tert*-butoxid de potasiu în THF de la aproximativ 5°C până la aproximativ 25°C. În unele realizări, echivalenții molari ai soluției de *tert*-butoxid de potasiu în THF la Compusul **1c** sunt de aproximativ 0,95. În unele realizări, echivalenții molari ai soluției de *tert*-butoxid de potasiu în THF la Compusul **1c** sunt mai puțin de aproximativ 0,95 (de exemplu, de aproximativ 0,94, de aproximativ 0,93, de aproximativ 0,92, de aproximativ 0,91, sau de aproximativ 0,90). În unele realizări, Compusul **1c** poate fi dizolvat într-un amestec de componente de solvent organic (de exemplu, etanol și tetrahidrofuran). În unele realizări, amestecul de dietil cianometilfosfonat și 1,0 M *tert*-butoxid de potasiu poate fi adăugat la amestecul conținând Compusul **1c**. În unele realizări, operația 4a cuprinde în plus o prelucrare pentru a obține Compusul **1x** după ce reacția este considerată completă, de exemplu, prin HPLC. Prelucrarea poate cuprinde adăugarea apei la amestecul de reacție. Solidul poate fi colectat prin filtrare și spălat cu apă și *n*-heptan. În unele realizări, solidul poate fi resuspendat suplimentar în metil *tert*-butil eter, colectat prin filtrare, și spălat cu MTBE.

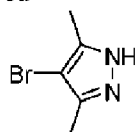
În unele realizări, procesul de preparare al bazei libere a Compusului **1**, sau a unei săruri a acesteia, cuprinde în plus prepararea Compusului **1x** în care Compusul **1x** poate fi preparat printr-un proces care cuprinde punerea în reacție a unui Compus **1c** cu dietil cianometilfosfonat în prezența unei baze. În unele realizări, procesul cuprinde în plus prepararea Compusului **1c** în care Compusul **1c** poate fi preparat printr-un proces care cuprinde punerea în reacție a unui Compus **1b** cu diacetat de iodobenzen și TEMPO. În unele realizări, procesul cuprinde în plus prepararea Compusului **1b** în care Compusul **1b** poate fi preparat printr-un proces cuprinzând punerea în reacție a unui Compus **1a** cu clorhidratul de azetidină-3-ol în prezența DBU. În unele realizări, procesul cuprinde în plus prepararea Compusului **1a** în care Compusul **1a** poate fi preparat printr-un proces cuprinzând punerea în reacție a (2S)-1,1,1-trifluoropropan-2-aminei cu clorura de 2,4,5-trifluorobenzoil în prezența unei baze.

În unele realizări, prezenta divulgare furnizează un proces pentru prepararea Compusului **2x** cuprinzând:

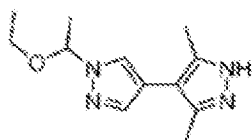
1b) punerea în reacție a



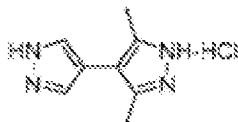
cu



pentru a forma

(Compusul **2b**);

2b) punerea în reacție a unui Compus **2b** cu acidul clorhidric pentru a forma

Compusul **2x HCl**); și

3b) punerea în reacție a unui compus **2x HCl** cu o bază pentru a forma Compusul **2x**.

5 În operația **1b**, Compusul **2a** poate fi reacționat cu 4-bromo-3,5-dimetilpirazol pentru a forma Compusul **2b**. În unele realizări, punerea în reacție este efectuată în prezența K_2HPO_4 , o componentă solvent, și un complex de paladiu. De exemplu, componenta solvent cuprinde 1-propanol, apă, sau un amestec al acestora. În unele realizări, complexul de paladiu este [1,1'-bis(di-terț-butilfosfino)ferocen] dicloropaladiu(II) (Pd-118). În unele realizări, punerea în reacție este efectuată la o temperatură de la

10 aproximativ 80°C până la aproximativ 100°C sau de la aproximativ 90°C până la aproximativ 100°C. De exemplu, temperatura este de aproximativ 90°C. În unele realizări, operația **1b** cuprinde în plus o prelucrare pentru a obține Compusul **2a**. Prelucrarea poate cuprinde răcirea amestecului de reacție până la aproximativ 17°C și separarea fazelor. Faza organică poate fi amestecată cu cărbune activat, încălzită la aproximativ 70°C, agitată timp de aproximativ 4 ore, și răcită la aproximativ 21°C. Amestecul cuprinzând Compusul **2a**

15 poate fi filtrat prin Celite. În unele realizări, operația **1b** cuprinde în plus amestecarea Compusului brut **2a** cu acetat de etil și o soluție apoasă de $NaHSO_3$, unde amestecul rezultat este încălzit de la aproximativ 65°C până la aproximativ 70°C timp de aproximativ 2,5 ore. Fazele pot fi separate și faza organică poate fi amestecată cu o soluție apoasă de $NaHSO_3$, unde amestecul rezultat este încălzit de la aproximativ 65°C

20 până la aproximativ 70°C timp de aproximativ 3,5 ore. Fazele pot fi separate și faza cuprinzând Compusul **2a** poate fi purificată prin cromatografie pe coloană utilizând acetat de etil ca eluant. În unele realizări, Compusul **2a** purificat este amestecat suplimentar cu clorură de metilen și Si-tiol, unde amestecul rezultat este filtrat.

În operația 2b, Compusul **2b** poate fi reacționat cu acid clorhidric pentru a forma Compusul **2x HCl**. În unele realizări, punerea în reacție este efectuată în prezența componentei solvent organic. De

25 exemplu, componenta solvent organic cuprinde 2-propanol. În unele realizări, punerea în reacție a Compusului **2b** cu acidul clorhidric este efectuată la o temperatură de la aproximativ 50°C până la aproximativ 75°C sau de la aproximativ 55°C până la aproximativ 70°C. De exemplu, temperatura este de la aproximativ 60°C până la aproximativ 65°C. În unele realizări, operația 2b cuprinde în plus o prelucrare pentru a obține Compusul **2b** după ce reacția este considerată completă, de exemplu, prin HPLC. De

30 exemplu, amestecul de reacție este răcit la temperatura camerei și agitat timp de aproximativ 1 oră. Solidul Compusului **2b** poate fi colectat prin filtrare și spălat cu 2-propanol.

În operația 3b, Compusul **2x HCl** poate fi reacționat cu o bază pentru a forma Compusul **2x**. Prezenta divulgare se referă de asemenea la un proces de preparare a Compusului **2x** cuprinzând punerea

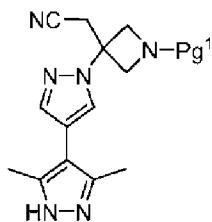
35 în reacție a unui Compus **2x HCl** cu o bază. Exemplele de baze includ KOH, LiOH, K_2CO_3 , Na_2CO_3 , și alte baze care pot neutraliza Compusul **2x HCl** la baza sa liberă. În unele realizări, baza este NaOH. În unele realizări, punerea în reacție a Compusului **2x HCl** cu o bază este efectuată la o temperatură de la aproximativ 10°C până la aproximativ 20°C sau de la aproximativ 15°C până la aproximativ 20°C. De exemplu, temperatura este de la aproximativ 15°C până la aproximativ 18°C. În unele realizări, operația 3b cuprinde

40 în plus o prelucrare pentru a obține Compusul **2x** după ce reacția este completă. De exemplu, solidul Compusului **2x** poate fi colectat prin filtrare și spălat cu apă și *n*-heptan.

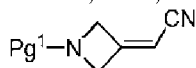
În unele realizări, procesul de preparare a bazei libere a Compusului 1, sau a unei săruri a acestuia, cuprinde în plus prepararea Compusului **2x** în care Compusul **2x** poate fi preparat printr-un proces care

45 cuprinde punerea în reacție a unui compus **2x HCl** cu o bază. În unele realizări, procesul cuprinde în plus prepararea Compusului **2x HCl** în care Compusul **2x HCl** este preparat printr-un proces care cuprinde punerea în reacție a unui Compus **2b** cu acid clorhidric. În unele realizări, procesul cuprinde în plus prepararea Compusului **2b** în care Compusul **2b** este preparat printr-un proces care cuprinde punerea în reacție a unui Compus **2a** cu 4-bromo-3,5-dimetilpirazol.

În unele realizări, prezenta cerere de brevet mai furnizează un proces pentru prepararea unui compus cu Formula **A**:

**A.**

În unele realizări, procesul de preparare a Compusului cu Formula **A** cuprinde punerea în reacție a 3,5-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazolului cu un compus cu Formula **B**:

**B**

5 în care Pg¹ este o grupare amină de protecție. În unele realizări, Pg¹ este *terț*-butoxicarbonil.

În unele realizări, punerea în reacție a 3,5-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazolului cu un compus cu Formula **B** este efectuată în prezența 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enei.

În unele realizări, mai puțin de 1 echivalent de 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enă este utilizat pe baza 1 echivalent al compusului cu Formula **B**.

10 În unele realizări, de la aproximativ 0,2 până la aproximativ 0,3 echivalenți de 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enă sunt utilizați pe baza 1 echivalent al compusului cu Formula **B**.

În unele realizări, mai mult de aproximativ 1 echivalent de 3,5-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol este utilizat pe baza 1 echivalent al compusului cu Formula **B**.

15 În unele realizări, de la aproximativ 1,0 până la aproximativ 2,0 echivalenți de 3,5-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol sunt utilizați pe baza 1 echivalent al compusului cu Formula **B**.

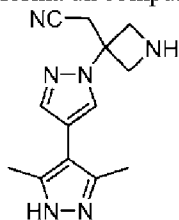
În unele realizări, de la aproximativ 1,0 până la aproximativ 1,1 echivalenți de 3,5-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol sunt utilizați pe baza 1 echivalent al compusului cu Formula **B**.

În unele realizări, de la aproximativ 1,0 până la aproximativ 1,1 echivalenți de 3,5-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol sunt utilizați pe baza 1 echivalent al compusului cu Formula **B**.

20 În unele realizări, punerea în reacție a 3,5-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazolului cu un compus cu Formula **B** este efectuată la aproximativ temperatura camerei.

În unele realizări, reacția 3,5-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazolului cu compusul cu Formula **B** este efectuată în prezența unei componente solvent. În unele realizări, componenta solvent cuprinde dimetil sulfoxid. În unele realizări, componenta solvent cuprinde dimetil sulfoxid și clorură de metilen.

25 În unele realizări, procesul furnizat aici cuprinde în plus deprotejarea compusului cu Formula **A** pentru a forma un compus cu Formula **C**:

**C**

sau o sare a acestuia.

30 În unele realizări, deprotejarea compusului cu Formula **A** cuprinde punerea în reacție a unui compus cu Formula **A** în prezența unui acid puternic (*de exemplu*, acid clorhidric).

În unele realizări, deprotejarea compusului cu Formula **A** cuprinde punerea în reacție a unui compus cu Formula **A** în prezența unei halogenuri de trialkilsilil.

În unele realizări, halogenura de trialkilsilil este iodură de trimetilsilil.

35 În unele realizări, deprotejarea compusului cu Formula **A** este efectuată în prezența unei componente solvent. În unele realizări, componenta solvent cuprinde clorură de metilen. În unele realizări, componenta solvent cuprinde clorură de metilen și metanol.

În unele realizări, deprotejarea compusului cu Formula **A** este efectuată la aproximativ temperatura camerei.

40 În unele realizări, procesul furnizat aici cuprinde în plus punerea în reacție a unui compus cu Formula **C**, sau a unei săruri a acestuia, cu o bază, pentru a forma forma de bază liberă a compusului cu Formula **C**.

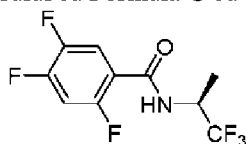
În unele realizări, procesul furnizat aici cuprinde în plus punerea în reacție a unui compus cu Formula C, sau a unei săruri a acestuia, cu o bază amină, pentru a forma forma de bază liberă a compusului cu Formula C.

În unele realizări, baza este o tri(alchil C₁₋₆)amină.

5 În unele realizări, baza este trietilamină.

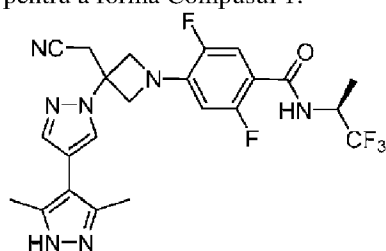
În unele realizări, reacția compusului cu Formula C, sau a unei săruri a acestuia, cu o bază amină este efectuată în prezența unei componente solvent. În unele realizări, componenta solvent cuprinde clorură de metilen.

10 În unele realizări, procesul furnizat aici cuprinde în plus punerea în reacție a formei de bază liberă a compusului cu Formula C cu Compusul 1a:



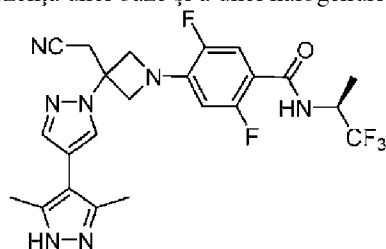
1a.

pentru a forma Compusul 1:



sau o sare a acestuia.

15 În unele realizări, forma de bază liberă a compusului cu Formula C este reacționată cu Compusul 1a în prezența unei baze și a unei halogenuri metalice alcaline pentru a forma Compusul 1:



sau o sare a acestuia.

În unele realizări, baza este o bază bicarbonat.

20 În unele realizări, baza este bicarbonat de sodiu.

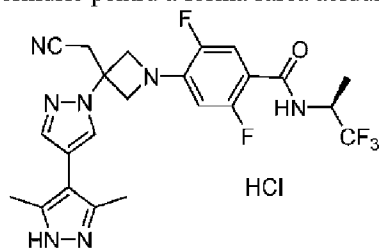
În unele realizări, halogenura metalică alcalină este clorură de litiu.

În unele realizări, punerea în reacție a formei de bază liberă a compusului cu Formula C cu Compusul 1a este efectuată la o temperatură de la aproximativ 80°C până la aproximativ 90°C.

25 În unele realizări, reacția formei de bază liberă a compusului cu Formula C cu Compusul 1a este efectuată în prezența unei componente solvent. În unele realizări, componenta solvent cuprinde dimetil sulfoxid. În unele realizări, componenta solvent cuprinde dimetil sulfoxid și acetat de izopropil.

În unele realizări, procesul furnizat aici cuprinde în plus punerea în reacție a unui Compus 1 cu un acid puternic pentru a forma o formă de sare a Compusului 1.

30 În unele realizări, procesul furnizat aici cuprinde în plus punerea în reacție a unui Compus 1 cu acidul clorhidric pentru a forma sarea acidului clorhidric a Compusului 1:



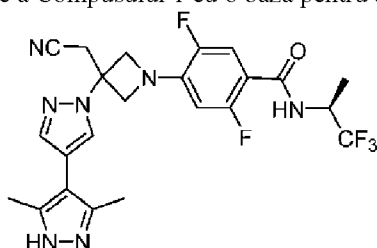
În unele realizări, este utilizat mai mult de 1 echivalent de acid clorhidric pe baza 1 echivalent al Compusului 1.

În unele realizări, reacția Compusului 1 cu acidul clorhidric este efectuată la aproximativ temperatura camerei.

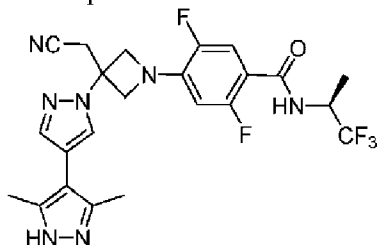
5 În unele realizări, acidul clorhidric este o soluție alcoolică de acid clorhidric.

În unele realizări, acidul clorhidric este o soluție de izopropanol a acidului clorhidric.

În unele realizări, procesul furnizat aici cuprinde în plus punerea în reacție a unei săruri a acidului clorhidric a Compusului 1 cu o bază pentru a forma forma de bază liberă a Compusului 1:



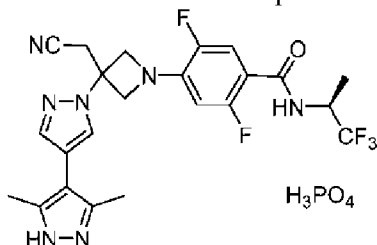
10 În unele realizări, procesul furnizat aici cuprinde în plus punerea în reacție a unei săruri a acidului clorhidric a Compusului 1 cu o bază bicarbonat pentru a forma forma de bază liberă a Compusului 1:



În unele realizări, baza este bicarbonat de potasiu.

În unele realizări, bicarbonatul de potasiu este o soluție apoasă de bicarbonat de potasiu.

15 În unele realizări, procesul furnizat aici cuprinde în plus punerea în reacție a formei de bază liberă a Compusului 1 cu acidul fosforic pentru a forma sarea acidului fosforic a Compusului 1:



Procesul conform revendicării 69, în care reacția formei de bază liberă a Compusului 1 cu acidul fosforic este efectuată la aproximativ temperatura camerei.

20 În unele realizări, reacția formei de bază liberă a Compusului 1 cu acidul fosforic este efectuată în prezența unei componente solvent. În unele realizări, componenta solvent cuprinde apă. În unele realizări, componenta solvent cuprinde apă și alcool izopropilic.

În unele realizări, procesul furnizat aici cuprinde în plus izolarea sării acidului fosforic al Compusului 1.

25 În unele realizări, sarea acidului fosforic a Compusului 1 este izolată prin recristalizare.

În unele realizări, sarea acidului fosforic a Compusului 1 este izolată prin recristalizare dintr-o componentă solvent cuprinzând metanol.

În unele realizări, sarea acidului fosforic a Compusului 1 este izolată prin recristalizare dintr-o componentă solvent cuprinzând izopropanol.

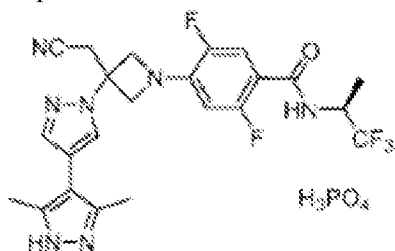
30 În unele realizări, sarea acidului fosforic a Compusului 1 este izolată prin recristalizare dintr-o componentă solvent cuprinzând metilciclohexan.

În unele realizări, sarea acidului fosforic a Compusului 1 este izolată prin recristalizare dintr-o componentă solvent cuprinzând unul sau mai multe dintre metanol, izopropanol, și metilciclohexan.

35 În unele realizări, sarea acidului fosforic a Compusului 1 este izolată prin recristalizare dintr-o componentă solvent cuprinzând metanol, izopropanol, și metilciclohexan.

În unele realizări, sarea acidului fosforic a Compusului 1 este izolată prin recristalizare dintr-o componentă solvent cuprinzând metanol, izopropanol, și metilciclohexan; și recristalizată ulterior dintr-o componentă solvent cuprinzând metanol și izopropanol.

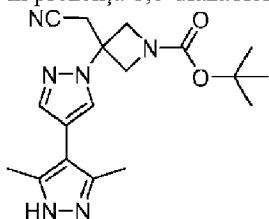
În unele realizări, prezenta cerere de brevet mai furnizează un proces de preparare a sării acidului fosforic a Compusului 1:



Sare a acidului fosforic a Compusului 1

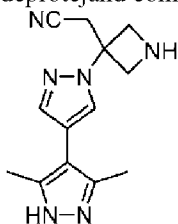
cuprinzând:

- 5 punerea în reacție a 3,5-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol cu 3-(cianometil)azetidină-1-carboxilat de *tert*-butil în prezența 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enei pentru a forma compusul cu Formula A-1:



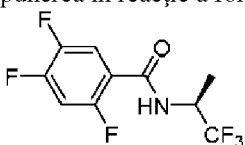
A-1;

deprotețând compusul cu Formula A-1 pentru a forma compusul cu Formula C-1:



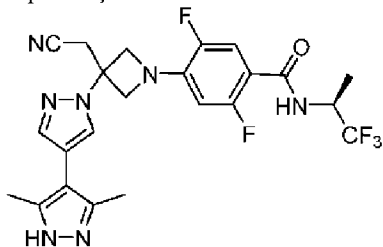
C-1

- 10 sau o sare a acestuia;
punerea în reacție a unui compus cu Formula C-1 cu trietilamină pentru a forma forma de bază liberă a compusului cu Formula C-1;
punerea în reacție a formei de bază liberă a compusului cu Formula C-1 cu Compusul 1a:

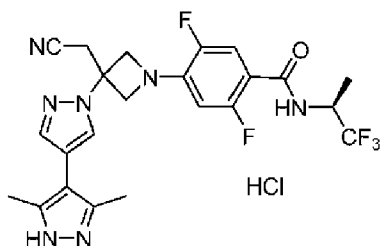


1a

- 15 în prezența bicarbonatului de sodiu și a clorurii de litiu pentru a forma Compusul 1:



punerea în reacție a unui Compus 1 cu acidul clorhidric pentru a forma sarea acidului clorhidric a Compusului 1:



punerea în reacție a unei săruri a acidului clorhidric a Compusului 1 cu bicarbonatul de potasiu pentru a forma forma de bază liberă a Compusului 1; și

punerea în reacție a formei de bază liberă a Compusului 1 cu acidul fosforic pentru a forma sarea acidului fosforic a Compusului 1.

În unele realizări, prezenta divulgare furnizează un compus care este 3,5-dimetil-1H,1'H-[4,4']bipirazolil (Compusul **2x**), clorhidrat de 3,5-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol (Compusul **2x HCl**), 1-(1-etoxietil)-3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol (Compusul **2b**), sau 1-(1-etoxietil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (Compusul **2a**), sau o sare a oricăroră din cele anterior menționate.

În unele realizări, prezenta divulgare furnizează un compus care este 3,5-dimetil-1H,1'H-[4,4']bipirazolil (Compusul **2x**) sau o sare a acestuia.

În unele realizări, prezenta divulgare furnizează un compus care este (S)-4-(3-(cianometilen)azetidin-1-il)-2,5-difluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (Compusul **1x**), (S)-2,5-difluoro-4-(3-oxoazetidin-1-il)-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il) benzamidă (Compusul **1c**), (S)-2,5-difluoro-4-(3-hidroxiiazetidin-1-il)-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (Compusul **1b**), sau (S)-2,4,5-trifluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (Compusul **1a**), sau o sare a oricăroră din cele anterior menționate.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „aproximativ” se referă la plus sau minus 10% din valoare.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „punere în reacție” este utilizat așa cum este cunoscut în domeniu și se referă în general la aducerea împreună a reactivilor chimici într-o astfel de o manieră care să permită interacțiunea lor la nivel molecular pentru a obține o transformare chimică sau fizică. În unele realizări, punerea în reacție implică cel puțin doi reactivi. În unele realizări, etapa de reacție sau operare a unui proces sintetic poate implica una sau mai multe substanțe în plus față de reactivi cum ar fi un solvent și/sau un catalizator. Etapele de reacție sau operare ale proceselor descrise aici, pot fi efectuate pentru un timp și în condiții adecvate pentru prepararea produsului identificat. Termenii „combinând” și „amestecând” cu privire la reactivii unei reacții chimice sunt utilizați interschimbabil aici cu termenul „punere în reacție”. Termenul „cuplare” poate fi considerat de asemenea interschimbabil cu „punere în reacție” dar poate fi utilizat în conjuncție cu o etapă de reacție sau operare care implică legarea a două fragmente organice.

Procesele descrise aici pot fi monitorizate în conformitate cu orice metodă adecvată cunoscută în domeniu. De exemplu, formarea produsului poate fi monitorizată cu mijloace spectroscopice, cum ar fi spectroscopia de rezonanță magnetică nucleară (de exemplu, ^1H sau ^{13}C), spectroscopia cu infraroșii, spectrofotometria (de exemplu, UV-vizibil), sau spectrometria de masă; sau prin cromatografie cum ar fi cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC) sau cromatografia în strat subțire. Compușii obținuți prin reacții pot fi purificați prin orice metodă adecvată cunoscută în domeniu. De exemplu, cromatografie (presiune medie) pe un adsorbant adecvat (de exemplu, gel de siliciu, alumina și altele asemenea), HPLC, sau cromatografie preparativă în strat subțire; distilare; sublimare, triturare, sau recristalizare. Puritya compușilor, în general, este determinată prin metode fizice cum ar fi măsurarea punctului de topire (în cazul unui solid), obținerea unui spectru RMN, sau efectuarea unei separări HPLC. Dacă punctul de topire scade, dacă semnale nedorite din spectrul RMN sunt scăzute, sau dacă maximele străine dintr-o urmă HPLC sunt îndepărtate, se poate spune că compusul a fost purificat. În unele realizări, compușii sunt substanțial purificați.

Prepararea compușilor poate implica protejarea și deprotejarea diferitelor grupări chimice. Necesitatea de protejare și deprotejare, și selecția grupărilor de protecție adecvate, pot fi cu ușurință determinate de către o persoană calificată în domeniu. Chimia grupărilor de protecție poate fi găsită, de exemplu, în Wuts și Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, ed. a 4-a, John Wiley & Sons: New York, 2006, care este încorporată aici prin referință în întregime.

Reacțiile proceselor descrise aici pot fi efectuate la temperaturi adecvate care pot fi cu ușurință determinate de către specialistul calificat. Temperaturile de reacție vor depinde de, de exemplu, punctele de topire și de fierbere ale reactivilor și solventului, dacă este prezent; termodinamicile reacției (de exemplu, reacțiile exotermice vigouroase pot necesita să fie efectuate la temperaturi reduse); și cineticile reacției (de

exemplu, o barieră energetică de activare ridicată poate necesita temperaturi ridicate). „Temperatura ridicată” se referă la temperaturi peste temperatura camerei (de aproximativ 22°C).

Reacțiile proceselor descrise aici pot fi efectuate în solvenți adecvați care pot fi cu ușurință selectați de către o persoană calificată în domeniul sintezei organice. Solvenții adecvați pot fi substanțial nereactivi cu materiile prime (reactanți), intermediarii, sau produsele la temperaturile la care sunt efectuate reacțiile, adică, temperaturi care pot varia de la temperatura de înghețare a solventului până la temperatura de fierbere a solventului. O reacție dată poate fi efectuată într-un solvent sau într-un amestec de mai mult de un solvent. Depinzând de etapa de reacție sau de operare, pot fi selectați solvenții adecvați pentru acea etapă particulară de reacție sau de operare. Solvenții adecvați includ apă, alcani (cum ar fi pentani, hexani, heptani, ciclohexani, etc., sau un amestec al acestora), solvenți aromatici (cum ar fi benzen, toluen, xilen, etc.), alcoolii (cum ar fi metanol, etanol, izopropanol, etc.), eteri (cum ar fi dialchileteri, metil *terț*-butil eter (MTBE), tetrahidrofuran (THF), dioxan, etc.), esteri (cum ar fi acetat de etil, acetat de butil, etc.), solvenți hidrocarbură halogenați (cum ar fi diclorometan (DCM), cloroform, dicloroetan, tetracloroetan), dimetilformamidă (DMF), dimetilsulfoxid (DMSO), acetonă, acetonitril (ACN), hexametilfosforamidă (HMPA) și N-metil piroolidonă (NMP). Astfel de solvenți pot fi utilizați în formele lor fie umede sau fie anhidre.

Rezoluția amestecurilor racemice ale compușilor poate fi efectuată prin oricare din numeroasele metode cunoscute în domeniu. De exemplu, rezoluția amestecurilor racemice poate fi efectuată prin eluare pe o coloană ambalată cu un agent de rezoluție activ optic (de exemplu, dinitrobenzoilfenilglicină). Compoziția adecvată de solvent de eluare poate fi determinată de către o persoană calificată în domeniu.

Metode

Compușii furnizați aici (de exemplu, baza liberă a Compusului 1 și sarea acidului fosforic a Compusului 1) sunt inhibitori ai JAK, mai specific, inhibitori selectivi ai JAK1. Un inhibitor selectiv al JAK1 este un compus care inhibă preferențial activitatea JAK1 față de alte kinaze Janus. De exemplu, compușii furnizați inhibă preferențial JAK1 față de unul sau mai mulți dintre JAK2, JAK3, și TYK2. În unele realizări, compușii inhibă preferențial JAK1 față de JAK2 (de exemplu, au un raport IC_{50} JAK2/JAK1 >1). În unele realizări, compușii sunt de aproximativ 10 ori mai selectivi pentru JAK1 față de JAK2. În unele realizări, compușii sunt de aproximativ 3 ori, de aproximativ 5 ori, de aproximativ 10 ori, de aproximativ 15 ori, sau de aproximativ 20 de ori mai selectivi pentru JAK1 față de JAK2 după cum s-a calculat prin măsurarea IC_{50} la 1 mM ATP (de exemplu, vezi Exemplul A).

JAK1 joacă un rol central într-un număr de căi de semnalizare ale citokinelor și factorului de creștere care, atunci când sunt dereglate, pot conduce sau contribui la stări de boală. De exemplu, nivelurile IL-6 sunt ridicate în artrita reumatoidă, o boală în care s-a sugerat că au efecte detrimentale (Fonesca, J.E. și colab., *Autoimmunity Reviews*, 8:538-42, 2009). Deoarece IL-6 semnalizează, cel puțin parțial, prin JAK1, antagonizând IL-6 direct sau indirect prin inhibarea JAK1, este de așteptat să furnizeze beneficiu clinic (Guschin, D., N., și colab *Embo J* 14: 1421, 1995; Smolen, J. S., și colab. *Lancet* 371:987, 2008). Mai mult, în unele cancere JAK1 este mutant, conducând la creșterea și supraviețuirea constitutivă indesezirabilă a celulei tumorale (Mullighan CG, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106:9414-8, 2009; Flex E., și colab. *J Exp Med*. 205:751-8, 2008). În alte boli autoimune și cancere, nivelurile sistemice ridicate de citokine inflamatorii care activează JAK1 pot contribui de asemenea la boală și/sau la simptomele asociate. Prin urmare, pacienții cu astfel de boli pot beneficia de inhibarea JAK1. Inhibitorii selectivi ai JAK1 pot fi eficienți în timp ce evită efectele inutile și potențial nedorite ale inhibării altor kinaze JAK.

Inhibitorii selectivi ai JAK1, față de alte kinaze JAK, pot avea multiple avantaje terapeutice față de inhibitorii mai puțin selectivi. Cu privire la selectivitatea împotriva JAK2, un număr important de citokine și factori de creștere semnalizează prin JAK2 incluzând, de exemplu, eritropoietină (Epo) și trombopoietină (Tpo) (Parganas E, și colab. *Cell*. 93:385-95, 1998). Epo este un factor de creștere cheie pentru producția de celule roșii sanguine; prin urmare o lipsă a semnalizării dependente de Epo poate conduce la un număr redus de celule roșii sanguine și la anemie (Kaushansky K, *NEJM* 354:2034-45, 2006). Tpo, un alt exemplu al unui factor de creștere dependent de JAK2, joacă un rol central în controlarea proliferării și maturării megakariocitelor - celulele din care sunt produse trombocitele (Kaushansky K, *NEJM* 354:2034-45, 2006). Ca atare, semnalizarea Tpo redusă ar scădea numărul de megakariocite (megakariocitopenie) și ar scădea numărul de trombocite în circulație (trombocitopenie). Acest lucru poate conduce la o sângerare nedorită și/sau necontrolabilă. Inhibarea redusă a altor JAK-uri, cum ar fi JAK3 și Tyk2, poate fi de asemenea de dorit, deoarece s-a arătat că oamenii care nu au o versiune funcțională a acestor kinaze suferă de numeroase maladii cum ar fi imunodeficiență combinată severă sau sindromul hiperimunoglobuliniei E (Minegishi, Y, și colab. *Immunity* 25:745-55, 2006; Macchi P, și colab. *Nature*. 377:65-8, 1995). Prin urmare un inhibitor JAK1 cu afinitate redusă pentru alte JAK-uri ar avea avantaje semnificative față de un inhibitor mai puțin selectiv în ceea ce privește efectele secundare reduse care implică supresia imună, anemia și trombocitopenia.

Este de asemenea descris un compus, care poate fi preparat în conformitate cu procedeul invenției, sau o compoziție farmaceutică a acestuia, pentru utilizare în metode pentru tratarea unei boli sau tulburări asociate cu JAK la un individ (de exemplu, pacient) prin administrarea la individul care are nevoie de un astfel de tratament a unei cantități eficiente terapeutic sau doză a compusului sau compoziției farmaceutice a acestuia. O boală asociată cu JAK poate include orice boală, tulburare sau afecțiune care este direct sau indirect legată de expresia sau activitatea JAK, incluzând supraexprimarea și/sau nivelurile normale de activitate. O boală asociată cu JAK poate include de asemenea orice boală, tulburare sau afecțiune care poate fi prevenită, ameliorată, sau vindecată prin modularea activității JAK.

Exemplele de boli asociate cu JAK includ boli care implică sistemul imunitar incluzând, de exemplu, respingerea transplanului de organ (de exemplu, respingerea alogrefei și boala grefă versus gazdă).

Alte exemple de boli asociate cu JAK includ boli autoimune cum ar fi scleroză multiplă, artrită reumatoidă, artrită juvenilă, artrită psoriazică, diabet de tip I, lupus, psoriazis, boală inflamatorie intestinală, colită ulcerativă, boală Crohn, miastenia gravis, nefropatii imunoglobulinice, miocardită, tulburări tiroidiene autoimune, boală pulmonară obstructivă cronică (BPOC), și altele asemenea. În unele realizări, boala autoimună este o tulburare autoimună buloasă a pielii cum ar fi pemfigus vulgaris (PV) sau pemfigoid bulos (BP).

Alte exemple de boli asociate cu JAK includ afecțiuni alergice cum ar fi astm, alergii alimentare, dermatită eszematosă, dermatită de contact, dermatită atopică (eczemă atopică), și rinită. Alte exemple de boli asociate cu JAK includ boli virale cum ar fi virusul Epstein Barr (EBV), hepatita B, hepatita C, HIV, HTLV 1, virusul Varicella-Zoster (VZV) și virusul Human Papilloma (HPV).

Alte exemple de boli asociate cu JAK includ boli asociate cu răsucirea cartilajului, de exemplu, artrită gutoasă, artrită septică sau infecțioasă, artrită reactivă, distrofie simpatică reflexă, algodistrofie, sindrom Tietze, atropatie costală, osteoartrită deformantă endemică, boală Mseleni, boală Handigodu, degenerare care rezultă din fibromialgie, lupus eritematos sistemic, sclerodermie, sau spondilită anchilozantă.

Alte exemple de boli asociate cu JAK includ malformații ale cartilajului congenital, incluzând crondroliză ereditară, crondrodizplazii, și pseudocrondrodizplazii (de exemplu, microtie, enotie, și crondrodizplazie metafizară).

Alte exemple de boli sau afecțiuni asociate cu JAK includ tulburări ale pielii cum ar fi psoriazis (de exemplu, psoriazis vulgaris), dermatită atopică, eczemă a pielii, iritare a pielii, sensibilizare a pielii (*de exemplu*, dermatită de contact sau dermatită de contact alergică). De exemplu, anumite substanțe incluzând unele farmaceutice, când sunt aplicate topic pot cauza sensibilizarea pielii. În unele realizări, coadministrarea sau administrarea secvențială a cel puțin unui inhibitor al JAK din divulgare împreună cu agentul care determină sensibilizarea nedorită poate fi de ajutor în tratarea unei astfel de sensibilizări nedorite sau dermatite. În unele realizări, tulburarea pielii este tratată prin administrarea topică a cel puțin unui inhibitor al JAK din divulgare.

În alte realizări, boala asociată cu JAK este cancerul, incluzându-le pe cele caracterizate prin tumori solide (de exemplu, cancer la prostată, cancer renal, cancer hepatic, cancer pancreatic, cancer gastric, cancer la sân, cancer pulmonar, cancere de cap și gât, cancer la tiroidă, glioblastom, sarcom Kaposi, boală Castleman, leiomiiosarcom uterin, melanom etc.), cancere hematologice (*de exemplu*, limfom, leucemie cum ar fi leucemie limfoblastică acută (ALL), leucemie mielogenă acută (AML) sau mielom multiplu), și cancer la piele cum ar fi limfom cutanat cu celule T (CTCL) și limfom cutanat cu celule B. Exemplele de CTCL-uri includ sindromul Sezary și micoza fungoidă.

În unele realizări, inhibitorii JAK descriși aici, sau în combinație cu alți inhibitori ai JAK, cum ar fi cei raportați în publicația S.U.A. nr. 20070135461, pot fi utilizați pentru a trata cancerele asociate cu inflamația. În unele realizări, cancerul este asociat cu boala inflamatorie intestinală. În unele realizări, boala inflamatorie intestinală este colită ulcerativă. În unele realizări, boala inflamatorie intestinală este boală Crohn. În unele realizări, cancerul asociat cu inflamația este cancer asociat cu colita. În unele realizări, cancerul asociat cu inflamația este cancer la colon sau cancer colorectal. În unele realizări, cancerul este cancer gastric, tumoare carcinoidă gastrointestinală, tumoare stromală gastrointestinală (GIST), adenocarcinom, cancer al intestinului subțire, sau cancer rectal.

Bolile asociate cu JAK le pot include în plus pe cele caracterizate prin expresia de: mutații JAK2 cum ar fi cei care au cel puțin o mutație în domeniul pseudo-kinazei (de exemplu, JAK2V617F); mutații JAK2 care au cel puțin o mutație în afara domeniului pseudo-kinază; mutații JAK1; mutații JAK3; mutații ai receptorului de eritropoietină (EPOR); sau expresia dereglată de CRLF2.

Bolile asociate cu JAK pot include în plus tulburări mieloproliferative (MPD-uri) cum ar fi policitemia vera (PV), trombocitemie esențială (ET), mielofibroză cu metaplasie mieloidă (MMM), mielofibroză primară (PMF), leucemie mielogenă cronică (CML), leucemie mielomonocitară cronică

(CMML), sindrom hipereozinofilic (HES), mastocitoză sistemică (SMCD), și altele asemenea. În unele realizări, tulburarea mieloproliferativă este mielofibroză (de exemplu, mielofibroză primară (PMF) sau post mielofibroză policitemia vera/trombocitemie esențială (Post-PV/ET MF)). În unele realizări, tulburarea mieloproliferativă este mielofibroză trombocitemică postesențială (Post-ET MF). În unele realizări,

5 În unele realizări, inhibitorii JAK descriși aici pot fi utilizați în plus pentru a trata sindromul mielodisplazic (MDS) la un pacient care are nevoie de aceasta. În unele realizări, pacientul menționat este dependent de transfuzia de celule roșii sanguine.

Așa cum s-a utilizat în acest document, sindroamele mielodisplazice intenționează să cuprindă 10 tulburările hematopoietice eterogene și clonale care sunt caracterizate prin hematopoieza ineficientă pe una sau mai multe dintre liniile majore de celule mieloidă. Sindroamele mielodisplazice sunt asociate cu insuficiența măduvei osoase, citopeniile sângelui periferic, și o tendință de progres la leucemie mieloidă acută (AML). Mai mult, anormalitățile citogenetice clonale pot fi detectate în aproximativ 50% din cazuri cu MDS. În 1997, Organizația Mondială a Sănătății (WHO) în conjuncție cu Societatea pentru 15 Hematopatologie (SH) și Asociația Europeană de Hematopatologie (EAHP), au propus noi clasificări pentru neoplasmele hematopoietice (Harris, și colab., J Clin Oncol 1999;17:3835-3849; Vardiman, și colab., Blood 2002;100:2292-2302). Pentru MDS, WHO a utilizat nu numai criteriile morfologice de la clasificarea Franco-Americană-Britanică (FAB), ci de asemenea a încorporat caracteristici disponibile genetice, biologice, și clinice pentru a defini subseturi de MDS (Bennett, și colab., Br J Haematol 1982;51:189-199). În 2008, clasificarea WHO a MDS (Tabelul 1) a fost perfecționată mai departe pentru a 20 permite o subclasificare precisă și relevantă din punct de vedere al prognozei displaziei nedescendente prin încorporarea de noi informații clinice și științifice (Vardiman, și colab., Blood 2009;114:937-951; Swerdlow, și colab., WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, ediția a 4-a, Lyon Franța: IARC Press; 2008:88-103; Bunning și Germing, „Myelodysplastic syndromes/neoplasms” în capitolul 5, Swerdlow, și colab., eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, (ed. ediția a 4-a): Lyon, Franța: IARC Press;2008:88-103).

Tabelul 1. Clasificarea WHO din 2008 pentru sindromul mielodisplazic de novo

Subtip	Sânge	Măduvă osoasă
Citopenie refractară cu displazie nedescendentă (RCUD)	Singur sau bicitopenie	Displazie în $\geq 10\%$ din 1 linie celulară, $< 5\%$ blaste
Anemie refractară cu sideroblaste inelare (RARS)	Anemie, fără blaste	$\geq 15\%$ din sideroblaste înfășurate pe precursorii eritroidei, numai displazie de eritroidă, $< 5\%$ blaste
Citopenie refractară cu displazie multidescendentă	Citopenie, $< 1 \times 10^9/L$ monocite	Displazie în $\geq 10\%$ a celulelor în ≥ 2 descendenți hematopoietici, $\pm 15\%$ sideroblaste inelare, $< 5\%$ blaste
Anemie refractară cu exces de blaste-1 (RAEB-1)	Citopenie, $\leq 2\%$ până la 4% blaste, $< 1 \times 10^9/L$ monocite	Displazie unidescendentă sau multidescendentă, fără tije Auer, 5% până la 9% blaste
Anemie refractară cu exces de blaste-2 (RAEB-2)	Citopenie, $\leq 5\%$ până la 19% blaste, $< 1 \times 10^9/L$ monocite	Displazie unidescendentă sau multidescendentă, \pm tije Auer, 10% până la 19% blaste
Sindrom mielodisplazic, neclasificat (MDS-U)	Citopenie	Displazie unidescendentă sau fără displazie dar citogenetici MDS caracteristici, $< 5\%$ blaste
MDS asociate cu del(5q) izolat	Anemie, trombocite normale sau crescute	Eritroidă unidescendentă. Del(5q) izolat, $< 5\%$ blaste

30 În unele realizări, sindromul mielodisplazic este citopenie refractară cu displazie unidescendentă (RCUD).

În unele realizări, sindromul mielodisplazic este anemie refractară cu sideroblaste inelare (RARS).

În unele realizări, sindromul mielodisplazic este citopenie refractară cu displazie multidescendentă.

1). În unele realizări, sindromul mielodisplazic este anemie refractară cu exces de blaste-1 (RAEB-

2). În unele realizări, sindromul mielodisplazic este anemie refractară cu exces de blaste-2 (RAEB-

5 În unele realizări, sindromul mielodisplazic este sindrom mielodisplazic, neclasificat (MDS-U).

În unele realizări, sindromul mielodisplazic este sindrom mielodisplazic asociat cu del(5q) izolat.

În unele realizări, sindromul mielodisplazic este refractar la agenții de stimulare ai eritropoezei.

Prezenta divulgare mai furnizează un compus, care poate fi preparat în conformitate cu un proces al invenției, pentru utilizare în metode pentru tratarea psoriazisului sau a altor tulburări ale pielii prin administrarea unei formulări topice conținând compusul.

10 În unele realizări, inhibitorii JAK descriși aici pot fi utilizați pentru a trata hipertensiunea arterială pulmonară.

Prezenta divulgare mai furnizează un compus, care poate fi preparat în conformitate cu un proces al invenției, pentru utilizare într-o metodă de tratare a efectelor secundare dermatologice ale altor farmaceutice prin administrarea compusului. De exemplu, numeroși agenți farmaceutici conduc la reacții alergice nedorite care se pot manifesta ca eczemă acneiformă sau dermatită înrudită. Exemplele de agenți farmaceutici care au astfel de efecte secundare nedorite, includ medicamente contra cancerului cum ar fi gefitinib, cetuximab, erlotinib, și altele asemenea. Compușii furnizați aici pot fi administrați sistemic sau topic (de exemplu, localizați în vecinătatea dermatitei) în combinație cu (de exemplu, simultan sau secvențial) agentul farmaceutic având efectul secundar dermatologic nedorit. În unele realizări, compusul furnizat aici poate fi administrat topic împreună cu unul sau mai multe alte produse farmaceutice, unde celelalte produse farmaceutice când sunt aplicate topic în absența unui compus furnizat aici cauzează dermatită de contact, sensibilizare alergică de contact, sau tulburări similare ale pielii. Corespunzător, sunt furnizate aici compoziții din divulgare care includ formulări topice conținând compusul și un agent farmaceutic suplimentar care poate cauza dermatită, tulburări ale pielii, sau efecte secundare înrudite.

25 Alte boli asociate cu JAK includ inflamații și boli inflamatorii. Exemplele de boli inflamatorii includ sarcoidoză, boli inflamatorii ale ochiului (*de exemplu*, irită, uveită, sclerită, conjunctivită, sau boli înrudite), boli inflamatorii ale tractului respirator (*de exemplu*, ale tractului respirator superior incluzând nasul și sinusurile cum ar fi rinită sau sinuzită sau ale tractului respirator inferior incluzând bronșită, boală pulmonară obstructivă cronică, și altele asemenea), miopatie inflamatorie cum ar fi miocardită, și alte boli inflamatorii. În unele realizări, boala inflamatorie a ochiului este blefarită.

Inhibitorii JAK descriși aici pot fi utilizați suplimentar pentru a trata leziunile de reperfuzie de ischemie sau o boală sau afecțiune legată de un eveniment ischemic inflamator cum ar fi accidentul vascular cerebral sau stopul cardiac. Inhibitorii JAK descriși aici pot fi utilizați suplimentar pentru a trata o stare de boală ghidată de endotoxină (de exemplu, complicații după chirurgia de bypass sau stări endotoxice cronice care contribuie la insuficiența cardiacă cronică). Inhibitorii JAK descriși aici pot fi utilizați suplimentar pentru a trata anorexia, cașexia, sau oboseala cum ar fi cea care rezultă din, sau este asociată cu cancerul. Inhibitorii JAK descriși aici pot fi utilizați suplimentar pentru a trata restenoza, sclerodermia, sau fibroza. Inhibitorii JAK descriși aici pot fi utilizați suplimentar pentru a trata afecțiuni asociate cu hipoxia sau astroglioza cum ar fi, de exemplu, retinopatia diabetică, cancerul, sau neurodegenerarea. Vezi, de exemplu, Dudley, A.C. și colab. *Biochem. J.* 2005, 390(Pt 2):427-36 și Sriram, K. și colab. *J. Biol. Chem.* 2004, 279(19):19936-47. Epub 2 martie 2004. Inhibitorii JAK descriși aici pot fi utilizați pentru a trata boala Alzheimer.

45 Inhibitorii JAK descriși aici pot fi utilizați suplimentar pentru a trata alte boli inflamatorii cum ar fi sindromul de răspuns inflamator sistemic (SIRS) și șocul septic.

Inhibitorii JAK descriși aici pot fi utilizați suplimentar pentru a trata guta și dimensiunea crescută a prostatei datorată, de exemplu, hipertrofiei benigne a prostatei sau hiperplaziei benigne a prostatei.

50 Alte boli asociate cu JAK includ bolile de resorbție osoasă cum ar fi osteoporoza, osteoartrita. Resorbția osoasă poate fi de asemenea asociată cu alte afecțiuni cum ar fi dezechilibrul hormonal și/sau terapia hormonală, boala autoimună (de exemplu sarcoidoza osoasă), sau cancerul (de exemplu mielomul). Reducerea resorbției osoase din cauza inhibitorilor JAK poate fi de aproximativ 10%, de aproximativ 20%, de aproximativ 30%, de aproximativ 40%, de aproximativ 50%, de aproximativ 60%, de aproximativ 70%, de aproximativ 80%, sau de aproximativ 90%.

55 În unele realizări, inhibitorii JAK descriși aici pot fi utilizați suplimentar pentru a trata o tulburare a ochiului uscat. Așa cum s-a utilizat în acest document, „tulburarea ochiului uscat” intenționează să cuprindă stările de boală rezumate într-un raport oficial recent al Seminarului Ochului Uscat (DEWS), care a definit ochiul uscat ca „o boală multifactorială a lacrimilor și suprafeței oculare care conduce la simptome de discomfort, tulburare vizuală, și instabilitate a filmului lacrimal cu potențială deteriorare la suprafața oculară. Este însoțită de osmolaritatea crescută a filmului lacrimal și inflamația suprafeței oculare.” Lemp,

„The Definition and Classification of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop”, *The Ocular Surface*, 5(2), 75-92 aprilie 2007. În unele realizări, tulburarea ochiului uscat este selectată dintre tulburarea apoasă a ochiului uscat cu deficit de lacrimi (ADDE) sau tulburarea evaporativă a ochiului uscat, sau combinații adecvate ale acestora. În unele realizări, tulburarea ochiului uscat este sindromul Sjogren al ochiului uscat (SSDE). În unele realizări, tulburarea ochiului uscat este sindromul non-Sjogren al ochiului uscat (NSSDE).

Prezenta divulgare furnizează un compus, care poate fi preparat în conformitate cu un proces al invenției, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare într-o metodă de tratare a conjunctivitei, uveitei (incluzând uveita cronică), corioditei, retinitei, ciclitei, scleritei, episcleritei, sau iritei; de tratare a inflamației sau durerii legate de transplantul de cornee, LASIK (keratomileuză in situ asistată cu laser), keratectomiei fotorefractiv, sau LASEK (keratomileuză subepitelială asistată cu laser); de inhibarea pierderii acuității vizuale legate de transplantul de cornee, LASIK, keratectomie fotorefractivă, sau LASEK; sau de inhibare a respingerii transplantului la un pacient care are nevoie de aceasta, cuprinzând administrarea la pacient a unei cantități eficiente terapeutic de compus, sau de sare acceptabilă farmaceutic a acestuia.

Suplimentar, compușii furnizați aici, sau în combinație cu alți inhibitori ai JAK, cum ar fi cei raportați în U.S. cu nr. ser. 11/637.545, pot fi utilizați pentru a trata disfuncția respiratorie sau insuficiența asociate cu infecția virală, cum ar fi gripa și SARS.

Prezenta divulgare furnizează baza liberă a Compusului 1 și sarea acidului fosforic a Compusului 1, care pot fi preparate în conformitate cu un proces al invenției, pentru utilizare într-o metodă de tratare a oricăroră dintre bolile sau tulburările descrise aici. Prezenta divulgare furnizează utilizarea bazei libere a Compusului 1 și a sării acidului fosforic a Compusului 1, care pot fi preparate în conformitate cu un proces al invenției, pentru prepararea unui medicament pentru utilizare într-o metodă de tratare a oricăroră dintre bolile sau tulburările descrise aici.

Prezenta divulgare furnizează baza liberă a Compusului 1 și sarea acidului fosforic a Compusului 1, care pot fi preparate în conformitate cu un proces al invenției, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru utilizare într-o metodă de modulare a JAK1. Prezenta divulgare furnizează de asemenea utilizarea bazei libere a Compusului 1 și a sării acidului fosforic a Compusului 1, care pot fi preparate în conformitate cu un proces al invenției, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia, pentru prepararea unui medicament pentru utilizare într-o metodă de modulare a JAK1.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „punere în contact” se referă la aducerea împreună a radicalilor indicați într-un sistem *in vitro* sau într-un sistem *in vivo*. De exemplu, „punerea în contact” a JAK cu un compus furnizat aici include administrarea unui compus din prezenta divulgare unui individ sau pacient, cum ar fi un om, având un JAK, precum și, de exemplu, introducerea unui compus furnizat aici într-o mostră conținând o preparare celulară sau purificată care conține JAK.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenii „individ” sau „pacient”, utilizați interschimbabil, se referă la orice animal, incluzând mamifere, preferabil șoareci, șobolani, alte rozătoare, iepuri, câini, pisici, porci, vite, oi, cai, sau primate, și cel mai preferabil oameni.

Așa cum s-a utilizat în acest document, exprimarea „cantitate eficientă terapeutic” se referă la cantitatea de compus activ sau agent farmaceutic care declanșează răspunsul biologic sau medicinal care este căutat într-un țesut, sistem, animal, individ sau om de către un cercetător, veterinar, medic sau alt clinician. În unele realizări, cantitatea eficientă terapeutic este de la aproximativ 5 mg până la aproximativ 1000 mg, sau de la aproximativ 10 mg până la aproximativ 500 mg.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „tratare” sau „tratament” se referă la unul sau mai multe dintre (1) inhibarea bolii; de exemplu, inhibarea unei boli, afecțiuni sau tulburări la un individ care experimentează sau afișează patologia sau simptomatologia bolii, afecțiunii sau tulburării (adică, oprirea dezvoltării suplimentare a patologiei și/sau simptomatologiei); și (2) ameliorarea bolii; de exemplu, ameliorarea unei boli, afecțiuni sau tulburări la un individ care experimentează sau afișează patologia sau simptomatologia bolii, afecțiunii sau tulburării (adică, inversarea patologiei și/sau simptomatologiei) cum ar fi scăderea severității bolii.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „prevenind” sau „prevenire” se referă de exemplu la, prevenirea unei boli, afecțiuni sau tulburări la un individ care poate fi predispus la boală, afecțiune sau tulburare, dar nu experimentează sau afișează încă patologia sau simptomatologia bolii.

Terapii de combinație

Metodele descrise aici pot cuprinde suplimentar administrarea unuia sau mai multor agenți terapeutici suplimentari. Unul sau mai mulți agenți terapeutici suplimentari pot fi administrați unui pacient simultan sau secvențial.

Metoda descrisă poate cuprinde suplimentar administrarea unui agent terapeutic suplimentar selectat dintre ImiD-uri, un agent anti-IL-6, un agent anti-TNF- α , un agent de hipometilare, și un modifikator al răspunsului biologic (BRM).

5 În general, un BRM este o substanță făcută din organisme vii pentru a trata boli, care pot apare natural în corp sau pot fi făcute în laborator. Exemplele de BRM-uri includ IL-2, interferon, diferite tipuri de factori de stimulare ai coloniilor (CSF, GM-CSF, G-CSF), anticorpi monoclonali cum ar fi abciximab, etanercept, infliximab, rituximab, trastuzumab, și ascorbat în doză mare.

În unele realizări, agentul anti-TNF- α este infliximab sau etanercept.

10 În unele realizări, agentul de hipometilare este un inhibitor de metiltransferază ADN. În unele realizări, inhibitorul de metiltransferază ADN este selectat dintre 5 azacitidină și decitabină.

În general, ImiD-urile sunt ca agenți imunomodulatori. În unele realizări, IMiD este selectat dintre talidomidă, lenalidomidă, pomalidomidă, CC-11006, și CC-10015.

15 Compuși descriși aici pot fi utilizați într-o metodă care cuprinde în plus administrarea unui agent terapeutic suplimentar selectat dintre globulină anti-timocitară, factor de stimulare al coloniei de granulocite umane recombinante (G-CSF), granulocitemonocite CSF (GM-CSF), un agent de stimulare a eritropoezei (ESA), și ciclosporine.

Compuși descriși aici pot fi utilizați într-o metodă care cuprinde în plus administrarea unui inhibitor suplimentar al JAK pacientului. În unele realizări, inhibitorul suplimentar al JAK este tofacitinib sau ruxolitinib.

20 Unul sau mai mulți agenți farmaceutici suplimentari cum ar fi, de exemplu, agenți chimioterapeutici, agenți antiinflamatori, steroizi, imunosupresive, precum și PI3K δ , mTor, Bcr-Abl, Flt-3, RAF și inhibitori FAK ai kinazei cum ar fi, de exemplu, cei descriși în WO 2006/056399, sau alți agenți, pot fi utilizați în combinație cu compușii descriși aici pentru tratament bolilor, tulburărilor sau afecțiunilor asociate cu JAK. Unul sau mai mulți agenți farmaceutici suplimentari pot fi administrați unui pacient simultan sau secvențial.

Exemplele de agenți chimioterapeutici includ inhibitori de proteozom (*de exemplu*, bortezomib), talidomidă, revlimid, și agenți care deteriorează ADN-ul cum ar fi melfalan, doxorubicină, ciclofosamidă, vincristină, etoposidă, carmustină, și altele asemenea.

Exemplele de steroizi includ corticosteroizi cum ar fi dexametazonă sau prednison.

30 Exemplele de inhibitori Bcr-Abli includ compușii, și sărurile acceptabile farmaceutic ale acestora, de genurile și speciile divulgate în brevetul S.U.A. nr. 5.521.184, WO 04/005281, și U.S. cu nr. ser. 60/578.491.

Exemplele de inhibitori adecvați ai Flt-3i includ compușii, și sărurile lor acceptabile farmaceutic, cum s-a divulgat în WO 03/037347, WO 03/099771, și WO 04/046120.

35 Exemplele de inhibitori adecvați ai RAFi includ compușii, și sărurile lor acceptabile farmaceutic, cum s-a divulgat în WO 00/09495 și WO 05/028444

Exemplele de inhibitori adecvați ai FAKi includ compușii, și sărurile lor acceptabile farmaceutic, cum s-a divulgat în WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595, și WO 01/014402.

40 În unele realizări, compușii furnizați aici (de exemplu, baza liberă a Compusului 1 și sarea acidului fosforic a Compusului 1) pot fi utilizați în combinație cu unul sau mai mulți alți inhibitori ai kinazei incluzând imatinib, în special pentru tratarea pacienților rezistenți la imatinib sau la alți inhibitori ai kinazei.

45 În unele realizări, un agent chimioterapeutic adecvat poate fi selectat dintre agenți antimetaboliți, inhibitori de topoizomerază I, analogi de platină, taxani, antraciclina, și inhibitori EGFR, și combinații ale acestora.

În unele realizări, agenții antimetaboliți includ capecitabină, gemcitabină, și fluorouracil (5-FU).

În unele realizări, taxanii includ paclitaxel, Abraxane[®] (paclitaxel particule legate la proteină pentru suspensie injectabilă), și Taxotere[®] (docetaxel).

În unele realizări, analogii de platină includ oxaliplatin, cisplatin, și carboplatin.

50 În unele realizări, inhibitorii de topoizomerază I includ irinotecan și topotecan.

În unele realizări, antraciclina include doxorubicină sau formulări lipozomale de doxorubicină.

În unele realizări, agentul chimioterapeutic este FOLFIRINOX (5-FU, lecovorin, irinotecan și oxaliplatin). În unele realizări, agentul chimioterapeutic este gemcitabină și Abraxane[®] (particule legate la proteina de paclitaxel pentru suspensie injectabilă).

55 În unele realizări, compușii furnizați aici (de exemplu, baza liberă a Compusului 1 și sarea acidului fosforic a Compusului 1) pot fi utilizați în combinație cu un agent chimioterapeutic în tratamentul cancerului, cum ar fi mielomul multiplu, și pot îmbunătăți răspunsul la tratament în comparație cu răspunsul la agentul chimioterapeutic singur, fără exacerbarea efectelor toxice ale acestuia. Exemplele de agenți farmaceutici suplimentari utilizați în tratamentul mielomului multiplu, de exemplu, pot include, fără

limitare, melfalan, melfalan plus prednison [MP], doxorubicină, dexametazonă, și Velcade (bortezomib). Alți agenți suplimentari utilizați în tratamentul mielomului multiplu includ Bcr-Abl, Flt-3, RAF și inhibitori FAK ai kinazei. Efectele aditive sau sinergice sunt rezultate dezirabile ale combinării unui inhibitor al JAK din prezenta divulgare cu un agent suplimentar. Mai mult, rezistența celulelor de mielom multiplu la agenți cum ar fi dexametazona poate fi reversibilă după tratamentul cu un inhibitor al JAK din prezenta divulgare. Agenții pot fi combinați cu compușii furnizați aici într-o formă de dozare singură sau continuă, sau agenții pot fi administrați simultan sau secvențial ca forme de dozare separate.

În unele realizări, un corticosteroid cum ar fi dexametazona este administrat unui pacient în combinație cu cel puțin un inhibitor al JAK unde dexametazona este administrată intermitent, spre deosebire de modul continuu.

În unele alte realizări, combinații ale compușilor furnizați aici cu alți agenți terapeutici, pot fi administrate unui pacient înainte de, în timpul, și/sau după un transplant de măduvă osoasă sau transplant de celule stem.

În unele realizări, agentul suplimentar terapeutic este fluocinolon acetamidă (Retisert®), sau rimexolon (AL-2178, Vexol, Alcon).

În unele realizări, agentul suplimentar terapeutic este ciclosporină (Restasis®).

În unele realizări, agentul suplimentar terapeutic este un corticosteroid. În unele realizări, corticosteroidul este triamcinolon, dexametazonă, fluocinolon, cortizon, prednisolon, sau flumetolon.

În unele realizări, agentul suplimentar terapeutic este selectat dintre Dehydrex™ (Holles Labs), Civamide (Opko), hialuronat de sodiu (Vismed, Lantibio/TRB Chemedia), ciclosporină (ST-603, Sirion Therapeutics), ARG101(T) (testosteron, Argentis), AGR1012(P) (Argentis), ecabet de sodiu (Senju-Ista), gefarnat (Santen), acid 15-(s)-hidroxieicosatetraenoic (15(S)-HETE), cevilemină, doxiciclină (ALTY-0501, Alacrity), minociclină, iDestrin™ (NP50301, Nascent Pharmaceuticals), ciclosporină A (Nova22007, Novagali), oxitetraciclină (Duramicină, MOLI901, Lantibio), CF101 (2S,3S,4R,5R)-3,4-dihidroxi-5-[6-[(3-iodofenil)metilamino]purin-9-il]-N-metil-oxolan-2-carbamil, Can-Fite Biopharma), voclosporin (LX212 sau LX214, Lux Biosciences), ARG103 (Agentis), RX-10045 (analog de resolvin sintetic, Resolvix), DYN15 (Dyanmis Therapeutics), rivoglitazonă (DE011, Daiichi Sanko), TB4 (RegeneRx), OPH-01 (Ophthalmis Monaco), PCS101 (Pericor Science), REV1-31 (Evolutec), Lacritin (Senju), rebamipidă (Otsuka-Novartis), OT-551 (Othera), PAI-2 (University of Pennsylvania și Temple University), pilocarpină, tacrolim, pimecrolim (AMS981, Novartis), loteprednol etabonat, rituximab, dicuafosol tetrasodic (INS365, Inspire), KLS-0611 (Kissei Pharmaceuticals), dehidroepiandrosteron, anakinra, efalizumab, micofenolat de sodiu, etanercept (Embrex®), hidroxiclorochină, NGX267 (TorreyPines Therapeutics), actemra, gemcitabină, oxaliplatin, L-asparaginază, sau talidomidă.

În unele realizări, agentul suplimentar terapeutic este un agent antiangiogenic, agonist colinergic, modulator al receptorului TRP-1, un blocant al canalului de calciu, un secretagog de mucină, stimulant MUC1, un inhibitor de calcineurină, un corticosteroid, un agonist al receptorului P2Y2, un agonist al receptorului muscarinic, un inhibitor mTOR, un alt inhibitor al JAK, inhibitor al kinazei Bcr-Abl, inhibitor al kinazei Flt-3, inhibitor al kinazei RAF, și inhibitori ai kinazei FAK cum ar fi, de exemplu, cei descriși în WO 2006/056399, care este încorporată aici prin referință în întregime. În unele realizări, agentul suplimentar terapeutic este un derivat de tetraciclină (de exemplu, minociclină sau doxiciclină). În unele realizări, agentul suplimentar terapeutic se leagă la FKBP12.

În unele realizări, agentul suplimentar terapeutic este un agent de alchilare sau agent de reticulare ADN; un agent antimetabolit/de demetilare (de exemplu, 5-fluorouracil, capecitabină sau azacitidină); o terapie antihormonală (de exemplu, antagoniști ai receptorului hormonal, SERM-uri, sau inhibitor de aromatază); un inhibitor mitotic (de exemplu vincristină sau paclitaxel); un inhibitor de topoizomerază (I sau II) (de exemplu mitoxantronă și irinotecan); un inductor apoptotic (de exemplu ABT-737); o terapie cu acizi nucleici (de exemplu antisens sau ARNi); liganzi ai receptorului nuclear (de exemplu, agoniști și/sau antagoniști: acid retinoic complet-trans sau bexaroten); agenți de țintire epigenetici cum ar fi inhibitori ai histon deacetilazei (de exemplu vorinostat), agenți de hipometilare (de exemplu decitabină); regulatori de stabilitate ai proteinei cum ar fi inhibitori ai Hsp90, ubichitină și/sau molecule de conjugare sau deconjugare asemănătoare cu ubichitina; sau un inhibitor EGFR (erlotinib).

În unele realizări, agenții suplimentari terapeutici sunt picături de demulcent pentru ochi (cunoscute de asemenea ca „lacrimi artificiale”), care includ, dar nu sunt limitate la, compoziții conținând polivinilalcool, hidroxipropil metilceluloză, glicerină, polietilen glicol (de exemplu PEG400), sau carboximetil celuloză. Lacrimile artificiale pot ajuta în tratamentul ochiului uscat prin compensarea capacității reduse de umectare și de lubrifiere a filmului lacrimal. În unele realizări, agentul suplimentar terapeutic este un medicament mucolitic, cum ar fi N-acetil-cisteina, care poate interacționa cu mucoproteinele, pentru a scădea prin urmare vâscozitatea filmului lacrimal.

În unele realizări, agentul suplimentar terapeutic include un antibiotic, antiviral, antifungal, anestezic, agenți antiinflamatori incluzând antiinflamatoarele steroidiene și nonsteroidiene, și agenți antialergici. Exemplele de medicamente adecvate includ aminoglicozide cum ar fi amikacină, gentamicină, tobramicină, streptomycină, netilmicină, și kanamicină; fluorochinolon cum ar fi ciprofloxacina, norfloxacina, ofloxacin, trovafloxacina, lomefloxacina, levofloxacina, și enoxacin; naftiridină; sulfonamidă; polimixin; cloramfenicol; neomicină; paramomicină; colistimetat; bacitracin; vancomicină; tetracilină; rifampin și derivații săi („rifampine”); cicloserină; beta-lactam; cefalosporină; amfotericină; fluconazol; flucitozină; natamicină; miconazol; ketoconazol; corticosteroizi; diclofenac; flurbiprofen; ketorolac; suprofen; cromolin; lodoxamidă; levocabastin; nafazolină; antazolină; feniramină; sau antibiotic azalidă.

În unele realizări, compuși furnizați aici pot fi utilizați în combinație cu un inhibitor al punctului de control imun în tratamentul bolilor cum ar fi cancerul. Exemplele de inhibitori ai punctului de control imun includ inhibitori împotriva moleculelor punctului de control imun cum ar fi CD27, CD28, CD40, CD122, CD96, CD73, CD47, OX40, GITR, CSF1R, JAK, PI3K delta, PI3K gama, TAM, arginază, CD137 (cunoscut de asemenea ca 4-1BB), ICOS, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, LAG3, TIM3, VISTA, PD-1, PD-L1 și PD-L2. În unele realizări, molecula punctului de control imun este o moleculă stimulatoră a punctului de control selectată dintre CD27, CD28, CD40, ICOS, OX40, GITR și CD137. În unele realizări, molecula punctului de control imun este o moleculă inhibitoră a punctului de control selectată dintre A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, IDO, KIR, LAG3, PD-1, TIM3, și VISTA. În unele realizări, compușii furnizați aici pot fi utilizați în combinație cu unul sau mai mulți agenți selectați dintre inhibitori KIR, inhibitori TIGIT, inhibitori LAIR1, inhibitori CD160, inhibitori 2B4 și inhibitori TGFR beta.

În unele realizări, inhibitorul unei molecule a punctului de control imun este un anticorp anti-PD1, anticorp anti-PD-L1, sau anticorp anti-CTLA-4.

În unele realizări, inhibitorul unei molecule a punctului de control imun este un inhibitor de PD-1, de exemplu, un anticorp monoclonal anti-PD-1. În unele realizări, anticorpul monoclonal anti-PD-1 este nivolumab, pembrolizumab (cunoscut de asemenea ca MK-3475), pidilizumab, SHR-1210, PDR001, sau AMP-224. În unele realizări, anticorpul monoclonal anti-PD-1 este nivolumab sau pembrolizumab. În unele realizări, anticorpul anti-PD1 este pembrolizumab.

În unele realizări, inhibitorul unei molecule a punctului de control imun este un inhibitor de PD-L1, de exemplu, un anticorp monoclonal anti-PD-L1. În unele realizări, anticorpul monoclonal anti-PD-L1 este BMS-935559, MEDI4736, MPDL3280A (cunoscut de asemenea ca RG7446), sau MSB0010718C. În unele realizări, anticorpul monoclonal anti-PD-L1 este MPDL3280A sau MEDI4736.

În unele realizări, inhibitorul unei molecule a punctului de control imun este un inhibitor de CTLA-4, de exemplu, un anticorp anti-CTLA-4. În unele realizări, anticorpul anti-CTLA-4 este ipilimumab.

În unele realizări, inhibitorul unei molecule a punctului de control imun este un inhibitor de LAG3, de exemplu, un anticorp anti-LAG3. În unele realizări, anticorpul anti-LAG3 este BMS-986016 sau LAG525.

În unele realizări, inhibitorul unei molecule a punctului de control imun este un inhibitor de GITR, de exemplu, un anticorp anti-GITR. În unele realizări, anticorpul anti-GITR este TRX518 sau MK-4166.

În unele realizări, inhibitorul unei molecule a punctului de control imun este un inhibitor de OX40, de exemplu, un anticorp anti-OX40 sau proteină de fuziune OX40L. În unele realizări, anticorpul anti-OX40 este MEDI0562. În unele realizări, proteina de fuziune OX40L este MEDI6383.

Compușii din prezenta divulgare pot fi utilizați în combinație cu unul sau mai mulți agenți pentru tratamentul bolilor cum ar fi cancerul. În unele realizări, agentul este un agent de alchilare, un inhibitor de proteazom, un corticosteroid, sau un agent imunomodulator. Exemplele unui agent de alchilare includ ciclofosfamidă (CY), melfalan (MEL), și bendamustină. În unele realizări, inhibitorul de proteazom este carfilzomib. În unele realizări, corticosteroidul este dexametazonă (DEX). În unele realizări, agentul imunomodulator este lenalidomidă (LEN) sau pomalidomidă (POM).

Formulări farmaceutice și forme de dozare

Când sunt utilizați ca produse farmaceutice, compușii furnizați aici pot fi administrați sub formă de compoziții farmaceutice. Aceste compoziții pot fi preparate într-o manieră bine cunoscută în domeniul farmaceutic, și pot fi administrate pe o varietate de căi, depinzând dacă este dorit tratamentul local sau sistemic și de zona care urmează să fie tratată. Administrarea poate fi topică (incluzând transdermală, epidermală, oftalmică și la membranele mucozale incluzând livrarea intranasală, vaginală și rectală), pulmonară (*de exemplu*, prin inhalare sau insuflare de pulberi sau aerosoli, inclusiv cu nebulizator; intratraheală sau intranasală), orală sau parenterală. Administrarea parenterală include intravenoasă, intraarterială, subcutanată, intramusculară intraperitoneală sau injecție sau perfuzie; sau intracranială, *de exemplu*, administrare intratecală sau intraventriculară. Administrarea parenterală poate fi sub forma unei singure doze bolus, sau poate fi, de exemplu, cu o pompă de perfuzie continuă. Compozițiile farmaceutice

și formulările pentru administrare topică pot include plasturi transdermali, unguente, loțiuni, creme, geluri, picături, supozitoare, spray-uri, lichide și pulberi. Purtătorii farmaceutici convenționali, pe bază apoasă, de pulbere sau uleioasă, agenții de îngroșare și altele asemenea pot fi necesare sau dezirabile.

5 Această divulgare include de asemenea compoziții farmaceutice care conțin, ca ingredient activ, de exemplu, baza liberă a Compusului 1 și/sau sarea acidului fosforic a Compusului 1, în combinație cu unul sau mai mulți purtători acceptabili farmaceutic (excipienți). În unele realizări, compoziția este adecvată pentru administrare topică. În prepararea compozițiilor din divulgare, ingredientul activ este de obicei amestecat cu un excipient, diluat cu un excipient sau inclus într-un astfel de purtător în formă de, de exemplu, o capsulă, pliculeț, hârtie, sau alt recipient. Când excipientul servește ca diluant, el poate fi un material solid, semisolid, sau lichid, care acționează ca vehicul, purtător sau mediu pentru ingredientul activ. Astfel, compozițiile pot fi sub formă de tablete, pilule, pulberi, pastile, pliculețe, cașete, elixire, suspensii, emulsii, soluții, siropuri, aerosoli (ca un solid sau într-un mediu lichid), unguente conținând, de exemplu, până la 10% din masa compusului activ, capsule de gelatină moi și tari, supozitoare, soluții sterile injectabile, și pulberi ambalate steril.

15 În prepararea unei formulări, un compus furnizat aici (de exemplu, baza liberă a Compusului 1 și sarea acidului fosforic a Compusului 1) poate fi măcinat pentru a furniza dimensiunea adecvată a particulei înainte de combinarea cu celelalte ingrediente. Dacă baza liberă a Compusului 1 sau sarea acidului fosforic a Compusului 1 este substanțial insolubilă, pot fi măcinate la o dimensiune a particulei de mai puțin de 200 mesh. Dacă baza liberă a Compusului 1 și sarea acidului fosforic a Compusului 1 sunt substanțial solubile în apă, dimensiunea particulei poate fi ajustată prin măcinare pentru a furniza o distribuție substanțial uniformă a formulării, *de exemplu* de aproximativ 40 mesh.

20 Compușii furnizați aici pot fi măcinați utilizând procedeele de măcinare cunoscute cum ar fi măcinarea umedă pentru a obține o dimensiune adecvată a particulei pentru formularea tabletei și pentru alte tipuri de formulări. Preparările divizate fin (nanoparticulare) ale compușilor furnizați aici pot fi preparate prin procedee cunoscute în domeniu, de exemplu, vezi cererea de brevet internațional nr. WO 2002/000196.

25 Unele exemple de excipienți adecvați includ lactoză, dextroză, zaharoză, sorbitol, manitol, amidonuri, gumă de salcâm, fosfat de calciu, algiinați, tragacant, gelatină, silicat de calciu, celuloză microcristalină, polivinilpirolidonă, celuloză, apă, sirop, și metil celuloză. Formulările pot include suplimentar: agenți de lubrifiere cum ar fi talc, stearat de magneziu, și ulei mineral; agenți de umectare; agenți de emulsionare și de punere în suspensie; agenți de conservare cum ar fi metil- și propilhidroxi-benzoați; agenți de îndulcire; și agenți de aromatizare. Compozițiile din divulgare pot fi formulate astfel încât să asigure eliberarea rapidă, susținută sau întârziată a ingredientului activ după administrare la pacient prin utilizarea procedurilor cunoscute în domeniu.

35 În unele realizări, compoziția farmaceutică cuprinde celuloză microcristalină silicificată (SMCC) și cel puțin un compus descris aici, sau o sare acceptabilă farmaceutic a acestuia. În unele realizări, celuloza microcristalină silicificată cuprinde aproximativ 98% celuloză microcristalină și aproximativ 2% dioxid de siliciu g/g.

40 În unele realizări, compoziția este o compoziție cu eliberare susținută cuprinzând baza liberă a Compusului 1 și/sau sarea acidului fosforic a Compusului 1, și cel puțin un purtător acceptabil farmaceutic. În unele realizări, compoziția cuprinde baza liberă a Compusului 1 și/sau sarea acidului fosforic a Compusului 1 descris aici, și cel puțin o componentă selectată dintre celuloză microcristalină, lactoză monohidrat, hidroxipropil metilceluloză, și oxid de polietilenă. În unele realizări, compoziția cuprinde baza liberă a Compusului 1 și/sau sarea acidului fosforic a Compusului 1, și celuloză microcristalină, lactoză monohidrat, și hidroxipropil metilceluloză. În unele realizări, compoziția cuprinde baza liberă a Compusului 1 și/sau sarea acidului fosforic a Compusului 1, și celuloză microcristalină, lactoză monohidrat, și oxid de polietilenă. În unele realizări, compoziția cuprinde în plus stearat de magneziu sau dioxid de siliciu. În unele realizări, celuloza microcristalină este Avicel PH102™. În unele realizări, lactoza monohidrat este Fast-flo 316™. În unele realizări, hidroxipropil metilceluloza este hidroxipropil metilceluloză 2208 K4M (de exemplu, Methocel K4 M Premier™) și/sau hidroxipropil metilceluloză 2208 K100LV (de exemplu, Methocel K00LV™). În unele realizări, oxidul de polietilenă este oxid de polietilenă WSR 1105 (de exemplu, Poliox WSR 1105™).

50 În unele realizări, este utilizat un proces de granulare umedă pentru a produce compoziția. În unele realizări, este utilizat un proces de granulare uscată pentru a produce compoziția.

55 Compozițiile pot fi formulate într-o formă de dozare unitară, fiecare dozaj conținând de la aproximativ 1 până la aproximativ 1.000 mg, de la aproximativ 1 mg până la aproximativ 100 mg, de la 1 mg până la aproximativ 50 mg, și de la aproximativ 1 mg până la 10 mg de ingredient activ (de exemplu, baza liberă a Compusului 1 și sarea acidului fosforic a Compusului 1). Preferabil, dozajul este de la aproximativ 1 mg până la aproximativ 50 mg sau de la aproximativ 1 mg până la aproximativ 10 mg de

ingredient activ. În unele realizări, fiecare dozaj conține aproximativ 10 mg de ingredient activ. În unele realizări, fiecare dozaj conține aproximativ 50 mg de ingredient activ. În unele realizări, fiecare dozaj conține aproximativ 25 mg de ingredient activ. Termenul „forme de dozare unitare” se referă la unități discrete fizic adecvate ca doze unitare pentru subiecții umani și alte mamifere, fiecare unitate conținând o cantitate predeterminată de material activ calculată pentru a produce efectul terapeutic dorit, în asociere cu un excipient farmaceutic adecvat.

În unele realizări, compozițiile cuprind de la aproximativ 1 până la aproximativ 1.000 mg, de la aproximativ 1 mg până la aproximativ 100 mg, de la 1 mg până la aproximativ 50 mg, și de la aproximativ 1 mg până la 10 mg de ingredient activ (de exemplu, baza liberă a Compusului 1 și sarea acidului fosforic a Compusului 1). Preferabil, compozițiile cuprind de la aproximativ 1 mg până la aproximativ 50 mg sau de la aproximativ 1 mg până la aproximativ 10 mg de ingredient activ. O persoană având calificare obișnuită în domeniu va aprecia că aceasta cuprinde compuși sau compoziții conținând de la aproximativ 1 mg până la aproximativ 10 mg, de la aproximativ 1 mg până la aproximativ 20 mg, de la aproximativ 1 mg până la aproximativ 25 mg, de la aproximativ 1 mg până la aproximativ 50 mg de ingredient activ.

Compusul activ (de exemplu, baza liberă a Compusului 1 și sarea acidului fosforic a Compusului 1) poate fi eficient pe un interval de dozare larg și este în general administrat într-o cantitate eficientă farmaceutic. Se va înțelege totuși că, cantitatea compusului de fapt administrată va fi uzual determinată de către un medic, în conformitate cu circumstanțe relevante, incluzând afecțiunea care trebuie tratată, calea de administrare aleasă, compusul actual administrat, vârsta, greutatea, și răspunsul pacientului individual, severitatea simptomelor pacientului, și altele asemenea.

Pentru prepararea compozițiilor solide cum ar fi tabletele, ingredientul activ principal este amestecat cu un excipient farmaceutic pentru a forma o compoziție preformulată solidă conținând un amestec omogen dintr-un compus din prezenta divulgare. Când se face referire la aceste compoziții preformulate ca omogene, ingredientul activ este de obicei dispersat uniform prin compoziție, astfel încât compoziția poate fi cu ușurință subdivizată în forme de dozare unitare la fel de eficiente, cum ar fi tabletele, pilulele și capsulele. Această preformulare solidă este apoi subdivizată în forme de dozare unitare de tipul descris mai sus conținând de la, de exemplu, aproximativ 0,1 până la aproximativ 1000 mg de ingredient activ din prezenta divulgare.

Tabletele sau pilulele din prezenta divulgare pot fi acoperite sau altfel compuse pentru a furniza o formă de dozare rezultând avantajul acțiunii prelungite. De exemplu, tableta sau pilula pot cuprinde o componentă de dozaj interior și o componentă de dozaj exterior, cea din urmă fiind sub forma unei anvelope peste cea dintâi. Cele două componente pot fi separate de un strat enteric care servește să reziste dezintegrării din stomac și să permită componentei interioare să treacă intactă în duoden sau să fie întârziată în eliberare. Poate fi utilizată o varietate de materiale pentru un astfel de strat enteric sau acoperire, astfel de materiale incluzând un număr de acizi polimerici și amestecuri de acizi polimerici cu astfel de materiale ca șelac, alcool cetilic, și acetat de celuloză.

Formele lichide în care compușii și compozițiile furnizate aici pot fi încorporate pentru administrare orală sau prin injecție, includ soluții apoase, siropuri aromate adecvate, suspensii apoase sau uleioase, și emulsii aromate cu uleiuri comestibile cum ar fi ulei din semințe de bumbac, ulei de susan, ulei din nucă de cocos, sau ulei de arahide, precum și elixire și vehicule farmaceutice similare.

Compozițiile pentru inhalare sau însuflare includ soluții și suspensii în soluții acceptabile farmaceutic, apoși sau organici, sau amestecuri ale acestora, și pulberi. Lichidul sau compozițiile solide pot conține excipienți adecvați acceptabili farmaceutic cum s-a descris *mai sus*. În unele realizări, compozițiile sunt administrate pe cale orală sau respiratorie nazală pentru efect local sau sistemic. Compozițiile pot fi nebulizate prin utilizarea de gaze inerte. Soluțiile nebulizate pot fi respirate direct din dispozitivul de nebulizare sau dispozitivul de nebulizare poate fi atașat la o cagulă a unei măști de față, sau la o mașină de respirat cu presiune pozitivă intermitentă. Compozițiile sub formă de soluție, suspensie, sau pulbere pot fi administrate oral sau nazal din dispozitive care livrează formularea într-o manieră adecvată.

Formulările topice pot conține unul sau mai mulți purtători convenționali. În unele realizări, unguentele pot conține apă și unul sau mai mulți purtători hidrofobi selectați dintre, de exemplu, parafină lichidă, polioxietilen alchil eter, propilen glicol, vaselină albă, și altele asemenea. Compozițiile purtătoare de creme pot fi pe bază de apă în combinație cu glicerol și una sau mai multe alte componente, de exemplu monostearat de glicerină, monostearat de glicerină PEG și alcool cetistearilic. Gelurile pot fi formulate utilizând alcool izopropilic și apă, adecvate în combinație cu alte componente cum ar fi, de exemplu, glicerol, hidroxietil celuloză, și altele asemenea. În unele realizări, formulările topice conțin cel puțin aproximativ 0,1, cel puțin aproximativ 0,25, cel puțin aproximativ 0,5, cel puțin aproximativ 1, cel puțin aproximativ 2, sau cel puțin aproximativ 5 % din masa compusului furnizat aici. Formulările topice pot fi ambalate adecvat în tuburi de, de exemplu, 100 g care sunt asociate opțional cu instrucțiuni pentru tratamentul afecțiunii selectate, de exemplu, psoriazis sau altă afecțiune a pielii.

Cantitatea compusului sau compoziției administrată unui pacient va varia depinzând de ce este fiind administrat, scopul administrării, cum ar fi profilaxie sau terapie, starea pacientului, maniera administrării, și altele asemenea. În aplicațiile terapeutice, compozițiile pot fi administrate unui pacient care suferă deja de o boală, într-o cantitate suficientă pentru a vindeca sau cel puțin a opri parțial simptomele bolii și complicațiile sale. Dozele eficiente vor depinde de afecțiunea bolii care este tratată precum și de raționamentul medicului curant depinzând de factori cum ar fi severitatea bolii, vârsta, greutatea și afecțiunea generală a pacientului, și altele asemenea.

Compozițiile administrate unui pacient pot fi sub forma compozițiilor farmaceutice descrise mai sus. Aceste compoziții pot fi sterilizate prin tehnicile de sterilizare convenționale, sau pot fi filtrate steril. Soluțiile apoase pot fi ambalate pentru utilizare așa cum sunt, sau liofilizate, preparatul liofilizat fiind combinat cu un purtător apos steril înainte de administrare. PH-ul preparatului compusului va fi de obicei între 3 și 11, mai preferabil de la 5 până la 9 și cel mai preferabil de la 7 până la 8. Se va înțelege că utilizarea anumitor dintre excipienții anteriori, purtători, sau stabilizatori va conduce la formarea de săruri farmaceutice.

Dozajul terapeutic dintr-un compus din prezenta divulgare poate varia în conformitate cu, de exemplu, utilizarea particulară pentru care este făcut tratamentul, maniera de administrare a compusului, sănătatea și afecțiunea pacientului, și raționamentul medicului curant. Proporția sau concentrația bazei libere a Compusului 1 sau a sării acidului fosforic a Compusului 1 într-o compoziție farmaceutică poate varia depinzând de un număr de factori incluzând dozajul, caracteristicile chimice (de exemplu, hidrofobicitate), și calea de administrare. De exemplu, compoziții furnizate aici pot fi prevăzute într-o soluție apoasă de tampon fiziologic conținând de la aproximativ 0,1 până la aproximativ 10% m/v de compus pentru administrare parenterală. Unele doze tipice variază de la aproximativ 1 μg/kg până la aproximativ 1 g/kg din greutatea corporală pe zi. În unele realizări, intervalul de dozare este de la aproximativ 0,01 mg/kg până la aproximativ 100 mg/kg din greutatea corporală pe zi. Dozajul este probabil să depindă de astfel de variabile ca tipul și măsura progresului bolii sau tulburării, starea generală de sănătate a pacientului particular, eficacitatea biologică relativă a compusului selectat, formularea unui excipient, și calea sa de administrare. Dozele eficiente pot fi extrapolate din curbe de răspuns la doză derivate din *in vitro* sau sisteme de testare pe modele de animale.

Compozițiile din divulgare pot include în plus unul sau mai mulți agenți farmaceutici suplimentari cum ar fi un agent chimioterapeutic, steroid, compus antiinflamator, sau imunosupresiv, ale căror exemple sunt listate mai sus în acest document.

În unele realizări, baza liberă a Compusului 1 sau sarea acidului fosforic a Compusului 1 sunt administrate ca o compoziție oftalmică. Corespunzător, în unele realizări, metodele cuprind administrarea compusului, sau a sării acceptabile farmaceutic a acestuia, și a unui purtător oftalmic acceptabil. În unele realizări, compoziția oftalmică este o compoziție lichidă, o compoziție semisolidă, inserție, film, microparticule sau nanoparticule.

În unele realizări, compoziția oftalmică este o compoziție lichidă. În unele realizări, compoziția oftalmică este o compoziție semisolidă. În unele realizări, compoziția oftalmică este o compoziție topică. Compozițiile topice includ, dar nu sunt limitate la compoziții lichide și semisolide. În unele realizări, compoziția oftalmică este o compoziție topică. În unele realizări, compoziția topică cuprinde o soluție apoasă, o suspensie apoasă, un unguent sau un gel. În unele realizări, compoziția oftalmică este aplicată topic pe partea din față a ochiului, sub pleoapa superioară, pe pleoapa inferioară și în fornixul conjunctival. În unele realizări, compoziția oftalmică este sterilizată. Sterilizarea poate fi realizată prin tehnici cunoscute cum ar fi filtrarea prin sterilizare a soluției sau prin încălzirea soluției în fiola gata pentru utilizare. Compozițiile oftalmice din divulgare pot conține în plus excipienți farmaceutici adecvați pentru prepararea formulărilor oftalmice. Exemple de astfel de excipienți sunt agenți de conservare, agenți de tamponare, agenți chelatori, agenți antioxidanți și săruri pentru reglarea presiunii osmotice.

Așa cum s-a utilizat în acest document, termenul „purtător acceptabil oftalmic” se referă la orice material care poate conține și elibera compusul, sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia, și care este compatibil cu ochii. În unele realizări, purtătorul acceptabil oftalmic este apa sau o soluție apoasă sau suspensie, dar include de asemenea uleiuri cum ar fi cele utilizate pentru a face unguente și matrice polimerice cum ar fi cele utilizate în inserturi oculare. În unele realizări, compoziția poate fi o suspensie apoasă cuprinzând compusul, sau sarea acceptabilă farmaceutic a acestuia. Compozițiile oftalmice lichide, incluzând atât unguente cât și suspensii, pot avea o vâscozitate care este adecvată pentru calea de administrare selectată. În unele realizări, compoziția oftalmică are o vâscozitate în intervalul de la aproximativ 1.000 până la aproximativ 30.000 centipoise.

În unele realizări, compozițiile oftalmice pot cuprinde suplimentar unul sau mai mulți dintre surfactanți, adjuvanți, tamponi, antioxidanți, agenți de ajustare a tonicității, conservanți (de exemplu, EDTA, BAK (clorură de benzalconiu), clorit de sodiu, perborat de sodiu, policuateriu-1), agenți de

îngroșare sau modificatori de vâscozitate (de exemplu, carboximetil celuloză, hidroximetil celuloză, alcool polivinilic, polietilen glicol, glicol 400, propilen glicol hidroximetil celuloză, hidroxipropil-guar, acid hialuronic, și hidroxipropil celuloză) și altele asemenea. Aditivii din formulare pot include, dar nu se limitează la, clorură de sodiu, bicarbonat de sodiu, acid sorbic, metil paraben, propil paraben, clorhexidină, ulei de ricin, și perborat de sodiu.

Compozițiile oftalmice apoase (soluții sau suspensii) nu conțin în general constituenți fiziologici sau oftalmici nocivi. În unele realizări, în compoziție este utilizată apa purificată sau deionizată. PH-ul poate fi ajustat prin adăugarea oricăror acizi de ajustare ai pH-ului acceptabili fiziologic și oftalmic, baze sau tamponane într-un interval de la aproximativ 5,0 până la 8,5. Exemplele de acizi acceptabili oftalmic includ acetic, boric, citric, lactic, fosforic, clorhidric, și altele asemenea, și exemplele de baze includ hidroxid de sodiu, fosfat de sodiu, borat de sodiu, citrat de sodiu, acetat de sodiu, lactat de sodiu, trometamină, trishidroximetilamino-metan, și altele asemenea. Sărurile și tamponanele includ citrat/dextroză, bicarbonat de sodiu, clorură de amoniu și amestecuri ale anterior menționaților acizi și baze.

În unele realizări, metodele implică formarea sau furnizarea unui depozit de agent terapeutic în contact cu suprafața externă a ochiului. Un depozit se referă la o sursă de agent terapeutic care nu este îndepărtată rapid de lacrimi sau alte mecanisme de curățare a ochilor. Acest lucru permite ca concentrații continue, ridicate, extrem de susținute de agent terapeutic să fie prezente în fluidul pe suprafața externă a ochiului cu o singură aplicare. Fără a dori să fie legat de nici o teorie, se crede că acea absorbție și penetrare pot fi dependente atât de concentrația medicamentului dizolvat cât și de durata de contact a țesutului extern cu fluidul care conține medicament. Pe măsură ce medicamentul este îndepărtat prin eliminarea fluidului ocular și/sau absorbției în țesutul ocular, este furnizat mai mult medicament, de exemplu dizolvat, în fluidul ocular completat cu fluid ocular din depozit. Corespunzător, utilizarea unui depozit poate facilita încărcarea mai ușoară a țesutului ocular pentru agenții terapeutici mai insolubili. În unele realizări, depozitul poate rămâne timp de până la opt ore sau mai mult. În unele realizări, formele de depozit oftalmic includ, dar nu sunt limitate la, suspensii polimerice apoase, unguente, și inserturi solide.

În unele realizări, compoziția oftalmică este un unguent sau gel. În unele realizări, compoziția oftalmică este un vehicul de livrare pe bază de ulei. În unele realizări, compoziția cuprinde o bază de petrol sau lanolină la care se adaugă ingredientul activ, uzual ca 0,1 până la 2%, și excipienți. Bazele comune pot include, dar nu sunt limitate la, ulei mineral, petrol și combinații ale acestora. În unele realizări, unguentul este aplicat ca panglică pe pleoapa inferioară.

În unele realizări, compoziția oftalmică este un insert oftalmic. În unele realizări, insertul oftalmic este inert biologic, moale, bioerodabil, vâscoelastic, stabil la sterilizare după expunerea la agenți terapeutici, rezistent la infecțiile de la bacteriile din aer, bioerodabil, biocompatibil, și/sau vâscoelastic. În unele realizări, insertul cuprinde o matrice acceptabilă oftalmic, de exemplu, o matrice polimerică. Matricea este de obicei un polimer și agentul terapeutic este în general dispersat în acesta sau legat la matricea polimerică. În unele realizări, agentul terapeutic poate fi eliberat încet din matrice prin dizolvarea sau hidroliza legăturii covalente. În unele realizări, polimerul este bioerodabil (solubil) și viteza de dizolvare a acestuia poate controla rata de eliberare a agentului terapeutic dispersat în acesta. Într-o altă formă, matricea polimerică este un polimer biodegradabil care se descompune, cum ar fi prin hidroliză eliberând prin urmare agentul terapeutic legat la aceasta sau dispersat în aceasta. În alte realizări, matricea și agentul terapeutic pot fi înconjurate cu o acoperire polimerică suplimentară pentru a controla suplimentar eliberarea. În unele realizări, insertul cuprinde un polimer biodegradabil cum ar fi policaprolactonă (PCL), un copolimer acetat de etilen/vinil (EVA), polialchil cianoacrilat, poliuretan, un nailon, sau poli (dl-lactidă-co-glicolidă) (PLGA), sau un copolimer al oricăroră din acestea. În unele realizări, agentul terapeutic este dispersat în materialul matricei sau dispersat prin compoziția monomerică utilizată pentru a face materialul matriceal, înainte de polimerizare. În unele realizări, cantitatea agentului terapeutic este de la aproximativ 0,1 până la aproximativ 50%, sau de la aproximativ 2 până la aproximativ 20%. În alte realizări, matricea polimerică biodegradabilă sau bioerodabilă este utilizată astfel încât insertul uzat să nu fie îndepărtat. Pe măsură ce polimerul biodegradabil sau bioerodabil este degradat sau dizolvat, agentul terapeutic este eliberat.

În alte realizări, insertul oftalmic cuprinde un polimer, incluzând, dar fără a fi limitat la, cele descrise în Wagh, și colab., „Polymers used in ocular dosage form and drug delivery systems”, Asian J. Pharm., paginile 12-17 (ian. 2008). În unele realizări, insertul cuprinde un polimer selectat dintre polivinilpirolidonă (PVP), un acrilat sau polimer metacrilat sau copolimer (de exemplu, familia Eudragit® de polimeri de la Rohm sau Degussa), hidroximetil celuloză, acid poliacrilic, dendrimeri poli(amidoamină), poli(dimetil siloxan), oxid de polietilenă, poli(lactidă-co-glicolidă), poli(2-hidroxietilmetacrilat), poli(vinil alcool), sau fumarat de polipropilenă. În unele realizări, insertul cuprinde Gelfoam® R. În unele realizări, insertul este un conjugat de acid poliacrilic de 450 kDa-cisteină.

În unele realizări, compoziția oftalmică este un film oftalmic. Polimerii adecvați pentru astfel de filme includ, dar nu se limitează la, cei descriși în Wagh, și colab. (*ibid*). În unele realizări, filmul este

lentilă moale de contact, cum ar fi una făcută din copolimeri de N,N-di etil acrilamidă și acid metacrilic reticulat cu etilenglicol dimetacrilat.

În unele realizări, compoziția oftalmică cuprinde microsferă sau nanoparticule. În unele realizări, microsferă cuprind gelatină. În unele realizări, microsferă sunt injectate în segmentul posterior al ochiului, în spațiul coroidal, în scleră, intravitreal sau subretinal. În unele realizări, microsferă sau nanoparticulele cuprind un polimer incluzând, dar fără a se limita la, cei descriși în Wagh, și colab. (*ibid*), care sunt încorporați aici prin referință în întregime. În unele realizări, polimerul este chitosan, un acid policarboxilic cum ar fi acidul poli-acrilic, particule de albumină, acid hialuronic ester, acid poliitaconic, poli(butil)cianoacrilat, policaprolactonă, poli(izobutil)caprolactonă, poli(acid lactic -acid co-glicolic), sau poli(acid lactic). În unele realizări, microsferă sau nanoparticulele cuprind particule lipide solide.

În unele realizări, compoziția oftalmică cuprinde o rășină schimbătoare de ioni. În unele realizări, rășina schimbătoare de ioni este un zeolit anorganic sau rășină organică sintetică. În unele realizări, rășina schimbătoare de ioni include, dar nu se limitează la, cele descrise în Wagh, și colab. (*ibid*), care sunt încorporate aici prin referință în întregime. În unele realizări, rășina schimbătoare de ioni este un acid poli-acrilic neutralizat parțial.

În unele realizări, compoziția oftalmică este o suspensie polimerică apoasă. În unele realizări, agentul terapeutic sau un agent polimeric de punere în suspensie este suspendat într-un mediu apos. În unele realizări, suspensiile polimerice apoase pot fi formulate astfel încât ele să rețină aceeași sau substanțial aceeași vâscozitate în ochi, pe care au avut-o înainte de administrarea la ochi. În unele realizări, ele pot fi formulate astfel încât să existe o gelatinare crescută după contactul cu fluidul lacrimal.

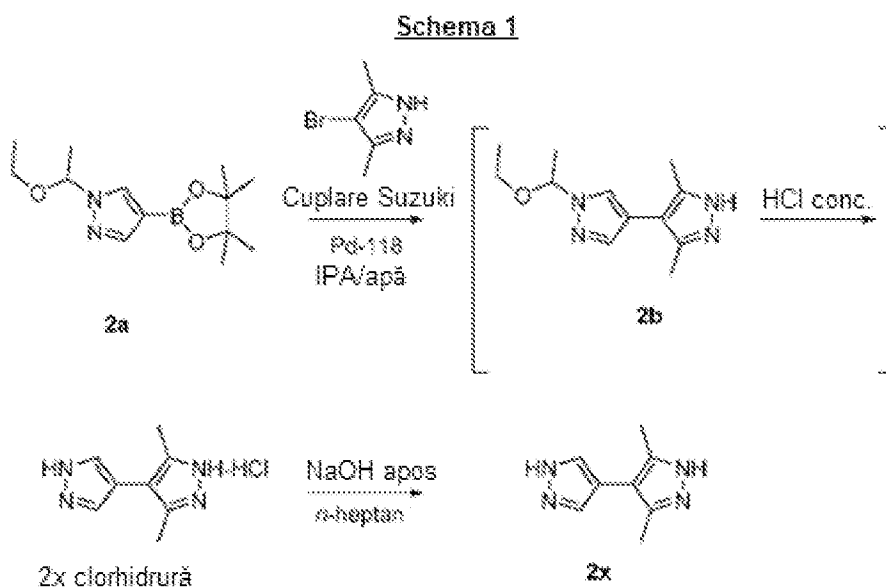
Truse

Prezenta divulgare include de asemenea truse farmaceutice utile, de exemplu, în tratamentul sau prevenirea bolilor sau tulburărilor asociate cu JAK, cum ar fi cancerul, care includ unul sau mai multe recipiente conținând o compoziție farmaceutică cuprinzând o cantitate eficientă terapeutic din baza liberă a Compusului 1 sau din sarea acidului fosforic a Compusului 1. Astfel de truse pot include în plus, dacă se dorește, una sau mai multe diferite componente ale trusei farmaceutice convenționale, cum ar fi, de exemplu, recipiente cu unul sau mai mulți purtători acceptabili farmaceutic, recipiente suplimentare, etc., după cum va fi cu ușurință evident celor calificați în domeniu. Instrucțiunile, fie ca inserturi sau fie ca etichete, care indică cantitățile componentelor care urmează să fie administrate, instrucțiunile de administrare, și/sau instrucțiunile pentru amestecarea componentelor, pot fi de asemenea incluse în trusă.

Divulgarea va fi descrisă în mai mare detaliu pe calea exemplilor specifice. Următoarele exemple sunt oferite în scopuri ilustrative, și nu sunt intenționate să limiteze divulgarea în nici o manieră. Cei calificați în domeniu vor recunoaște cu ușurință o varietate de parametri necritici care pot fi modificați sau modificați pentru a da în mod esențial aceeași rezultate. S-a constatat că compușii din exemple au fost inhibitori ai JAK în conformitate cu cel puțin un test descris aici.

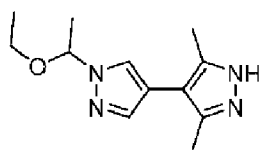
EXEMPLE

Intermediar 1. 3,5-Dimetil-4,4'-bipirazol (Compusul 2x)



40

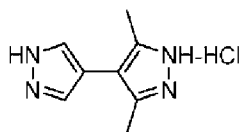
Etapa 1. 1'-(1-etoxi-etil)-3,5-dimetil-1H,1'H-[4,4']bipirazolil (Compusul 2b)



La un reactor din sticlă de 100 L purjat cu azot, s-a adăugat secvențial 1-propanol (5,0 L), apă potabilă (6,0 L), K_2HPO_4 (1032 g), 4-bromo-3,5-dimetilpirazol (1084 g), și 1-(1-etoxi-etil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-1H-pirazol (Compusul **2a**, 1502 g). S-a barbotat azot gazos prin amestecul de reacție timp de 18 minute, s-a încărcat apoi în reactor Pd-118 (55,07 g), și s-a barbotat azot gazos prin amestecul de reacție timp de 18 minute suplimentare. Amestecul de reacție a fost încălzit la aproximativ 90°C și agitat timp de aproximativ 4 ore la aproximativ 90°C. Amestecul de reacție a fost apoi răcit la aproximativ 17°C și fazele au fost separate. Faza organică a fost tratată cu cărbune activat (1500 g), încălzită la aproximativ 70°C, agitată la aproximativ 70°C timp de aproximativ 4 ore, și răcită la aproximativ 21°C. Amestecul a fost filtrat prin Celite (1500 g) și turta de filtru a fost spălată cu 2-propanol (15,0 L). Filtratele combinate și spălate au fost concentrate sub vid la aproximativ 58°C pentru a da produsul brut dorit, 1'-(1-etoxi-etil)-3,5-dimetil-1H,1'H-[4,4']bipirazolil (2593 g), care a fost utilizat în tratamentul ulterior.

1'-(1-etoxi-etil)-3,5-dimetil-1H,1'H-[4,4']bipirazolilul brut (2590 g) și acetatul de etil (EtOAc, 15,0 L) au fost încărcate într-un reactor. Separat, o soluție apoasă de $NaHSO_3$ a fost preparată amestecând bine $NaHSO_3$ (1500 g) și apa potabilă (8,0 L). Soluția apoasă de $NaHSO_3$ a fost adăugată la amestecul de reacție, care a fost încălzit la 65°C - 70°C, și agitat la 65°C - 70°C timp de aproximativ 2,5 ore. Fazele au fost separate și faza organică a fost ținută în reactor. Separat, o soluție apoasă de $NaHSO_3$ a fost preparată amestecând bine $NaHSO_3$ (1500 g) și apa potabilă (8,0 L). Soluția apoasă de $NaHSO_3$ a fost adăugată la amestecul de reacție, care a fost încălzit la 65°C - 70°C, și agitat la 65°C - 70°C timp de aproximativ 3,5 ore. Fazele au fost separate. O coloană cromatografică a fost încărcată secvențial cu nisip de mare (3000 g), acetat de etil (EtOAc, 15,0 L), și gel de siliciu (SiO_2 , 4500 g). Gelul de siliciu și solventul au fost amestecate și solventul a fost eluat la suprafața gelului de siliciu. Nisipul de mare (3000 g) a fost încărcat la partea superioară a coloanei. Amestecul de reacție a fost încărcat pe coloana și eluat cu acetat de etil (18,0 L). Frațiunile dorite au fost combinate și soluția combinată a fost concentrată sub vid la aproximativ 55°C pentru a da produsul purificat pe coloană (1760 g), care a fost apoi încărcat în reactorul cu clorură de metilen (16,0 L). S-a încărcat si-tiol (160 g) în reactor și amestecul de reacție a fost încălzit la 35°C - 40°C și agitat la 35°C - 40°C timp de aproximativ 2 ore. Amestecul a fost filtrat și turta de filtru a fost spălată cu clorură de metilen (3,5 L). Filtratele combinate și soluția de spălare au fost concentrate sub vid pentru a da produsul purificat dorit, 1'-(1-etoxi-etil)-3,5-dimetil-1H,1'H-[4,4']bipirazolil (1600 g), care a conținut solvent rezidual și a fost utilizat direct în reacția ulterioară. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12,17 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 5,53 (q, $J = 6,0$ Hz, 1H), 3,41 (dq, $J = 9,6, 7,0$ Hz, 1H), 3,19 (dq, $J = 9,6, 7,0$ Hz, 1H), 2,20 (s, 6H), 2,10, 1,60 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H), 1,01 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H) ppm; ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) δ 145,7, 137,75, 135,9, 125,48, 114,94, 108,69, 86,84, 63,57, 21,84, 15,43, 13,86 ppm.

Etapa 2. Clorhidrat de 3,5-dimetil-1H,1'H-[4,4']bipirazolil (Compusul **2x HCl**)



Un reactor din sticlă de 100 L a fost purjat cu azot și încărcat cu 1'-(1-etoxi-etil)-3,5-dimetil-1H,1'H-[4,4']bipirazolil (5723 g, pe baza randamentului teoretic), 2-propanol (IPA, 13,0 L), și acid clorhidric concentrat (HCl, 4,08 L) la temperatura camerei. Amestecul de reacție rezultat a fost încălzit la aproximativ 60°C - 65°C și agitat la 60°C - 65°C timp de aproximativ 2 ore. Amestecul de reacție a fost răcit la temperatura camerei și agitat la temperatura camerei timp de aproximativ 1 oră. Solidele au fost colectate prin filtrare și turta de filtru a fost spălată cu 2-propanol (6,5 L). Produsul a fost uscat cu aer pentru a da produsul dorit, clorhidrat de 3,5-dimetil-1H,1'H-[4,4']bipirazolil (3088 g, 63,6% pentru două etape), ca solid alb. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ 7,94 (s, 2H), 2,38 (s, 6H) ppm; ^{13}C RMN (101 MHz, DMSO- d_6) δ 141,95, 132,75, 111,78, 109,70, 10,97 ppm.

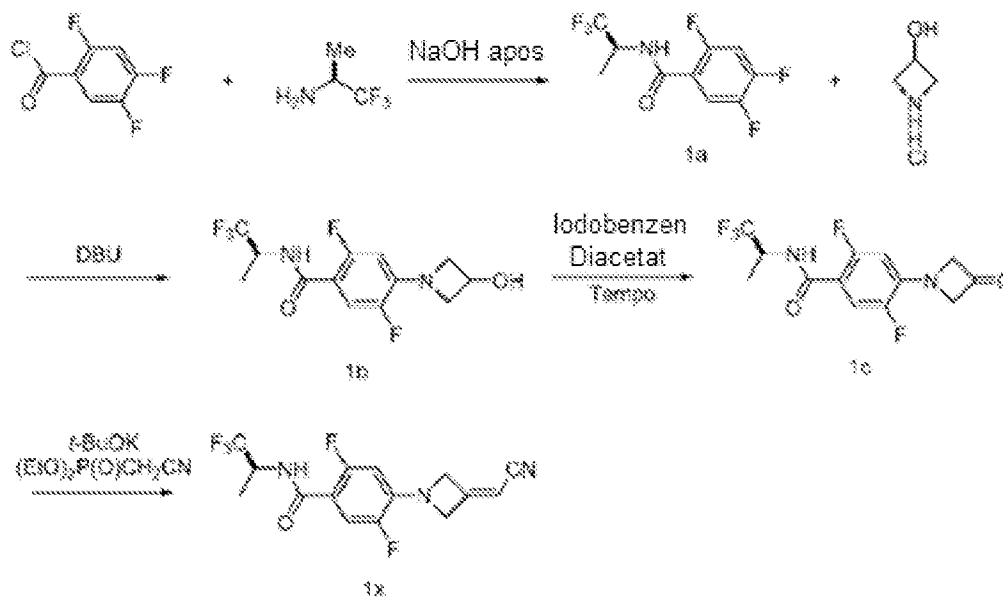
Etapa 3. 3,5-dimetil-1H,1'H-[4,4']bipirazolil (Compusul **2x**)

Un reactor din sticlă de 100 L a fost purjat cu azot și încărcat cu clorhidrat de 3,5-dimetil-1H,1'H-[4,4']bipirazolil (3010 g) și apă potabilă (24,1 L), și amestecul de reacție a fost răcit la 0°C - 5°C. Separat, o soluție apoasă de NaOH a fost preparată amestecând bine NaOH (1212 g) și apa potabilă (6,0 L). Soluția apoasă de NaOH a fost adăugată la amestecul de reacție în timp ce s-a menținut temperatura la aproximativ

15°C. Amestecul de reacție a fost încălzit la aproximativ 18°C, și agitat la aproximativ 18°C timp de aproximativ 14 ore. Solidele au fost colectate prin filtrare și turta de filtru a fost spălată secvențial cu apă potabilă (30,1 L) și *n*-heptan (13,5 L). Produsul a fost uscat cu aer timp de aproximativ 16 ore și apoi uscat mai departe sub vid la aproximativ 50°C - 60°C pentru a da 3,5-dimetil-1*H*,1'*H*-[4,4']bipirazolil (2006 g, 81,6%) ca o pulbere albicioasă. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,65 (s, 2H), 2,19 (s, 6H) ppm; ¹³C RMN (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 140,76, 131,92, 113,44, 109,16, 12,37 ppm.

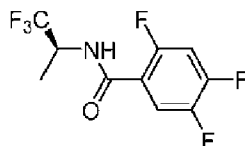
Intermediar 2. (S)-4-(3-(cianometilen)azetidin-1-il)-2,5-difluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (Compusul 1x)

Schema 2



10

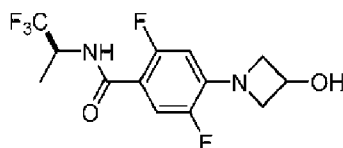
Etapa 1. (S)-2,4,5-trifluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (Compusul 1a)



Un amestec de (2*S*)-1,1,1-trifluoropropan-2-amină (520,96 g, 4,61 mol) în toluen (9,7 L) a fost răcit la 0°C-5°C înainte de adăugarea unei soluții apoase 1,0 M de hidroxid de sodiu (6,92 L, 6,92 mol, 1,5 echiv) la 0°C-8°C. S-a adăugat apoi în picătură clorura de 2,4,5-trifluorobenzoil (995,62 g, 5,07 mol, 1,1 echiv) la amestec la 0°C-15°C timp de 20 min. Baia de răcire a fost îndepărtată și amestecul de reacție a fost încălzit la temperatura camerei și agitat la temperatura camerei timp de 1 oră suplimentară. Cele două faze ale amestecului de reacție au fost apoi separate. Faza organică a fost spălată cu 0,5 M soluție apoasă de hidroxid de sodiu (4,6 L) și concentrată sub presiune redusă pentru a da produsul brut ca solid alb. Solidul a fost apoi suspendat în *n*-heptan (2,3 L) la 50°C timp de 1 oră, apoi răcit la temperatura camerei. Solidele au fost colectate prin filtrare, spălate cu *n*-heptan (1 L), și uscate sub vid timp de 2 zile pentru a da (S)-2,4,5-trifluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (1203,7 g, 93,2 %) ca pulbere albă. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,00 (d, *J* = 8,09 Hz, 1H), 7,69 (m, 2H), 4,75 (m, 1H), 1,92 (d, *J* = 7,00 Hz, 3H) ppm.

25

Etapa 2. (S)-2,5-difluoro-4-(3-hidroxiacetidin-1-il)-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il) benzamidă (Compusul 1b)

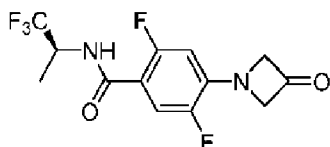


30

La un amestec de (S)-2,4,5-trifluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (Compusul 1a, 1807,5 g, 6,67 mol) și clorhidrat de azetidin-3-ol (827,9 g, 7,56 mol, 1,13 echiv) în acetonitril (3,6 L), s-a

adăugat 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enă (DBU, 2335,2 g, 15,33 mol, 2,3 echiv) în porții. Reacția exotermică a ridicat temperatura internă de la 12°C până la 58°C când primele 1000 g de DBU au fost încărcate timp de 25 minute. DBU rămas a fost adăugat la 58°C-68°C timp de 20 minute, și amestecul de reacție rezultat a fost agitat la 58°C-68°C timp de 1 oră. Amestecul de reacție a fost apoi răcit la temperatura camerei și tratat cu 1,0 M soluție apoasă de acid clorhidric (4,34 L). Amestecul a fost agitat la temperatura camerei timp de 15 minute și s-a adăugat apă (6 L). Amestecul rezultat a fost agitat la temperatura camerei timp de 1 oră. Solidele au fost colectate prin filtrare, spălate cu apă (2 L), și uscate sub vid timp de 4 zile pentru a da (S)-2,5-difluoro-4-(3-hidroxiacetidin-1-il)-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (2009,8 g, 93,0%) ca pulbere albă. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,38 (d, *J* = 8,71 Hz, 1H), 7,26 (dd, *J* = 12,91 Hz, 1H), 6,38 (dd, *J* = 12,29 Hz, 1H), 5,70 (d, *J* = 6,38, 1H), 4,75 (m, 1H), 4,56 (m, 1H), 4,22 (m, 2H), 3,71 (m, 2H), 1,28 (d, *J* = 7,16, 3H) ppm.

Etapa 3. (S)-2,5-difluoro-4-(3-oxoacetidin-1-il)-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il) benzamidă (Compusul 1c)



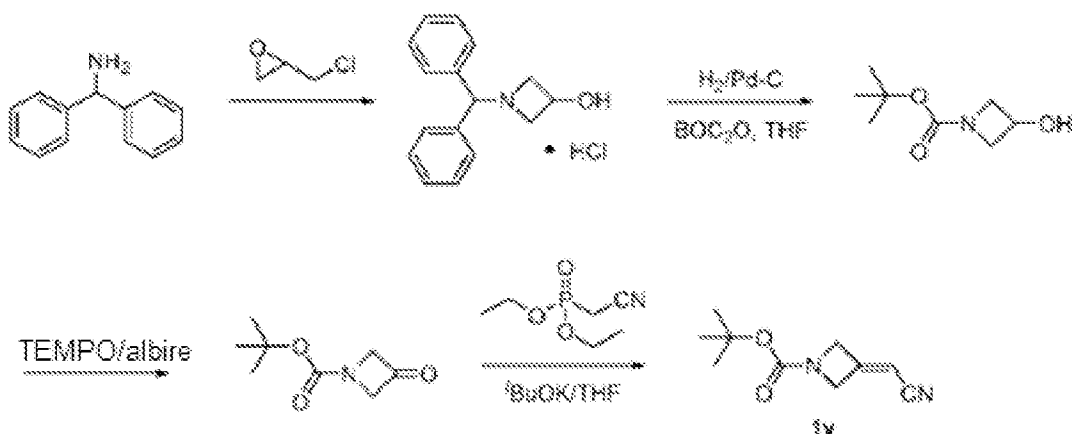
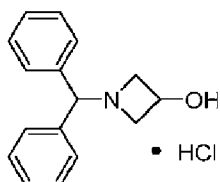
O soluție de 2,5-difluoro-4-(3-hidroxiacetidin-1-il)-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamidă (Compusul **1b**, 1672,6 g, 5,16 mol) și diacetat de iodobenzan (1923,5 g, 5,98 mol, 1,16 echiv) în clorură de metilen (8,5 L) a fost adăugată la radicalul liber 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi (TEMPO, 20,9 g, 0,13 mol, 0,025 echiv) la 10°C-12°C. Amestecul de reacție rezultat a fost agitat la 10°C-12°C, cu temperatura internă ajungând la 36°C-38°C timp de 30-60 minute. A fost utilizată o baie de răcire de IPA și gheață uscată pentru a controla temperatura de reacție. Odată ce temperatura amestecului intern a fost redusă până sub 25°C, amestecul de reacție a fost apoi încălzit la 35°C-38°C și agitat la 35°C-38°C timp de 2-3 ore suplimentare. Amestecul de reacție a fost apoi răcit la temperatura camerei și stins cu o soluție apoasă (8,0 L) de tiosulfat de sodiu (82,9 g, 0,52 mol) și fosfat de potasiu (950,0 g, 4,5 mol). Au fost separate două faze și faza organică a fost spălată cu apă (2 × 4 L). Soluția organică a fost apoi concentrată sub presiune redusă pentru a da produsul brut dorit ca solid. Solidul a fost suspendat în n-heptan (10 L) la temperatura camerei timp de 30 minute. Solidele au fost colectate prin filtrare, spălate cu n-heptan (2 × 2 L), și uscate sub vid peste noapte pentru a da (S)-2,5-difluoro-4-(3-oxoacetidin-1-il)-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (1552,1 g, 93,4%) ca pulbere arămie. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,50 (d, *J* = 8,72 Hz, 1H), 7,35 (dd, *J* = 12,6 Hz, 1H), 6,62 (dd, *J* = 12,1 Hz, 1H), 4,81 (s, 4H), 4,56 (m, 1H), 1,30 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H) ppm.

Etapa 4. (S)-4-(3-(cianometilen)acetidin-1-il)-2,5-difluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (Compusul 1x)

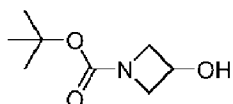
S-a adăugat cianometilfosfonat de dietil (422,6 g, 2,39 mol, 0,98 echiv) la o soluție de 1,0 M terț-butoxid de potasiu în THF (1996,6 g, 2,27 mol, 0,94 echiv) și sub azot, timp de 10 min la 5°C-25°C. Amestecul rezultat a fost apoi încălzit la temperatura camerei și agitat timp de 1 oră pentru a genera o soluție limpede (soluția A). Sub azot, s-a adăugat [2,5-difluoro-4-(3-oxoacetidin-1-il)-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil] benzamidă (Compusul **1c**, 784,2 g, 2,43 mol) la un amestec de etanol (EtOH, 0,75 L) și tetrahidrofuran (THF, 2,9 L) pentru a forma o soluție (soluția B). Soluția rezultată B a fost apoi răcită la -5°C într-o baie cu gheață uscată-IPA, și soluția A a fost adăugată la soluția B în 30 minute la -5°C-5°C. Amestecul rezultat a fost agitat la 0°C-5°C timp de 60 minute. Amestecul de reacție a fost apoi stins prin adăugarea de apă (9,4 L) timp de 10 minute. Amestecul rezultat a fost agitat la temperatura camerei timp de 60 minute. Solidele au fost apoi colectate prin filtrare și spălate cu apă (2 L) și n-heptan (2,4 L) pentru a da o pulbere maro. Solidul maro a fost suspendat în metil terț-butil eter (MTBE, 4 L), peste noapte la temperatura camerei. Solidele au fost colectate prin filtrare, spălate cu MTBE (1 L), și uscate sub vid timp de 3 zile pentru a da (S)-4-(3-(cianometilen)acetidin-1-il)-2,5-difluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (671,1 g, 94%) ca un pulbere albicioasă. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,50 (d, *J* = 9,95 Hz, 1H), 7,31 (dd, *J* = 12,4 Hz, 1H), 6,58 (dd, *J* = 12,0 Hz, 1H), 5,88 (m, 1H), 4,86 - 4,75 (m, 5H), 1,31 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H) ppm.

Intermediar 3. 3-(cianometilen)acetidin-1-carboxilat de terț-butil (Compusul 1y)

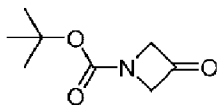
Schema 3

**Etapa 1. Clorhidrat de 1-benzhidrilazetidină-3-ol**

- 5 O soluție de difenilmetanamină (2737 g, 15,0 mol, 1,04 echiv) în metanol (MeOH, 6 L) a fost tratată cu 2-(clorometil)oxiran (1330 g, 14,5 mol) la temperatura ambiantă. Amestecul de reacție rezultat a fost agitat la temperatura camerei timp de 3 zile apoi încălzit la reflux timp de 3 zile suplimentare. Amestecul de reacție a fost apoi răcit la temperatura camerei și apoi până la 0°C - 5°C într-o baie cu gheață. Solidele au fost colectate prin filtrare și spălate cu acetonă (4 L) pentru a da primul recoltă a produsului
- 10 brut dorit (1516 g). Filtratul a fost concentrat sub presiune redusă și semisolidul rezultat a fost diluat cu acetonă (1 L). Acest solid a fost apoi colectat prin filtrare pentru a da cea de a doua recoltă a produsului brut dorit (221 g). Produsul brut, clorhidrat de 1-benzhidrilazetidină-3-ol (1737 g, randament 43,4%), a fost utilizat în reacția ulterioară fără purificare suplimentară. ¹HNMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,28 (br. d, 1H), 7,7 (m, 5H), 7,49 (m, 5H), 6,38 (d, 1H), 4,72 (br. s, 1H), 4,46 (m, 1H), 4,12 (m, 2H), 3,85 (m, 2H) ppm;
- 15 C₁₆H₁₈ClNO (MW 275,77; C₁₆H₁₇NO pentru bază liberă, MW, 239,31), LCMS (EI) *m/e* 240 (M⁺ + H).

Etapa 2. 3-hidroxiiazetidină-1-carboxilat de terț-butil

- 20 O suspensie de clorhidrat de 1-benzhidrilazetidină-3-ol (625 g, 2,27 mol) într-o soluție apoasă 10% de carbonat de sodiu (Na₂CO₃, 5 L) și diclorometan (CH₂Cl₂, 5 L) a fost agitată la temperatura camerei până când toate solidele s-au dizolvat. Cele două straturi au fost separate, și stratul apos a fost extras cu diclorometan (CH₂Cl₂, 2 L). Organicele combinate extrase au fost uscate pe sulfat de sodiu (Na₂SO₄) și concentrate sub presiune redusă. Baza liberă de 1-benzhidrilazetidină-3-ol brută rezultată a fost apoi dizolvată în THF (6 L) și soluția a fost plasată într-o bombă Parr mare. S-au adăugat dicarbonat de di-terț-butil (BOC₂O, 545 g, 2,5 mol, 1,1 echiv) și 20% paladiu (Pd) pe carbon (125 g, umed 50%) la bomba Parr.
- 25 Vasul a fost încărcat până la 30 psi cu gaz de hidrogen (H₂) și agitat sub o atmosferă constantă de hidrogen (vasul a fost reîncărcat de trei ori pentru a menține presiunea la 30 psi) la temperatura camerei timp de 18 ore. Amestecul de reacție a fost filtrat printr-un strat de celite și stratul de celite a fost spălat cu THF (4 L). Filtratele au fost concentrate sub presiune redusă pentru a îndepărta solventul și rezidul a fost încărcat pe o coloană Biotage 150 cu o cantitate minimă de diclorometan (CH₂Cl₂). Coloana a fost eluată cu 20% -
- 30 50% acetat de etil în *n*-heptan și fracțiunile conținând produsul pur dorit, 3-hidroxiiazetidină-1-carboxilat de terț-butil, au fost colectate și combinate. Solvenții au fost îndepărtați sub presiune redusă pentru a da 3-hidroxiiazetidină-1-carboxilatul de terț-butil (357 g, randament 90,8%) ca ulei incolor, care s-a solidificat după ce a stat la temperatura ambiantă în vid. ¹HNMR (300 MHz, CDCl₃), δ 4,56 (m 1H), 4,13 (m, 2H), 3,81 (m, 2H), 1,43 (s, 9H) ppm.
- 35

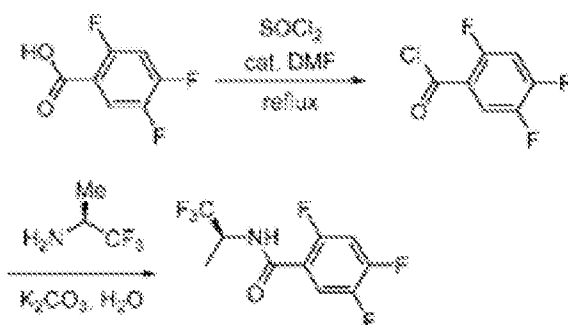
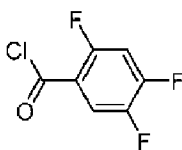
Etapa 3. 3-oxoazetidină-1-carboxilat de terț-butil

5 O soluție de 3-hidroxiacetidin-1-carboxilat de terț-butil (50 g, 289 mmol) în acetat de etil (400 mL) a fost răcită la 0°C. Soluția rezultată a fost apoi tratată cu TEMPO solid (0,5 g, 3,2 mmol, 0,011 echiv) și o soluție de bromură de potasiu (KBr, 3,9 g, 33,2 mmol, 0,115 echiv) în apă (60 mL) la 0°C - 5°C. În timp ce s-a menținut temperatura reacției între 0°C - 5°C, s-au adăugat o soluție de bicarbonat de sodiu apos saturat (NaHCO₃, 450 mL) și o soluție apoasă de hipoclorit de sodiu (NaClO, 10% - 13 % clor disponibil, 450 mL). Când s-a adăugat cantitatea suplimentară de soluție de hipoclorit de sodiu, culoarea amestecului de reacție estompat treptat. Când materie primă a fost consumată, culoarea a amestecului de reacție nu s-a mai modificat. Amestecul de reacție a fost apoi diluat cu acetat de etil (EtOAc, 500 mL) și au fost separate două straturi. Stratul organic a fost spălat cu apă (500 mL) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (500 mL) și uscat pe sulfat de sodiu (Na₂SO₄). Solventul a fost apoi îndepărtat sub presiune redusă pentru a da produsul brut, 3-oxoazetidină-1-carboxilat de terț-butil (48 g, 49,47 g teoretic, randament de 97%), care a fost utilizat direct în etapa următoare fără purificare suplimentară. ¹HNMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 4,65 (s, 4H), 1,42 (s, 9H) ppm.

Etapa 4. 3-(cianometilen)azetidină-1-carboxilat de terț-butil

S-au adăugat dietil cianometil fosfat (745 g, 4,20 mol, 1,20 echiv) și tetrahidrofuran anhidru (THF, 9 L) la un flacon cu patru găuri la temperatura camerei. Soluția a fost răcită cu o baie cu gheață-metanol la -14°C și s-a adăugat o soluție 1,0 M de terț-butoxid de potasiu (t-BuOK) în tetrahidrofuran anhidru (THF, 3,85 L, 3,85 mol, 1,1 echiv) timp de 20 min, menținând temperatura reacției sub -5°C. Amestecul de reacție rezultat a fost agitat timp de 3 ore la -10°C și s-a adăugat o soluție de 1-terț-butoxicarbonil-3-azetidionă (600 g, 3,50 mol) în tetrahidrofuran anhidru (THF, 2 L) timp de 2 ore, menținând temperatura internă sub -5°C. Amestecul de reacție a fost agitat la -5°C până la -10°C timp de 1 oră și apoi încălzit încet la temperatura camerei și agitat la temperatura camerei peste noapte. Amestecul de reacție a fost apoi diluat cu apă (4,5 L) și soluție apoasă saturată de clorură de sodiu (NaCl, 4,5 L) și extras cu acetat de etil (EtOAc, 2 × 9 L). Straturile organice combinate au fost spălate cu saramură (6 L) și uscate pe sulfat de sodiu anhidru (Na₂SO₄). Solventul a fost îndepărtat sub presiune redusă și reziduul a fost diluat cu diclorometan (CH₂Cl₂, 4 L) înainte de a fi absorbit pe gel de siliciu (SiO₂, 1,5 kg). Produsul brut, care a fost absorbit pe gel de siliciu, a fost purificat prin cromatografie rapidă pe coloană (SiO₂, 3,5 kg, 0% - 25% EtOAc și eluare cu gradient de n-hexani) pentru a da 3-(cianometilen)azetidină-1-carboxilatul de terț-butil (414,7 g, randament 61%) ca solid alb. ¹H RMN (300MHz, CDCl₃) δ 5,40 (m, 1H), 4,70 (m, 2H), 4,61 (m, 2H), 1,46 (s, 9H) ppm; C₁₀H₁₄N₂O₂ (MW, 194,23), LCMS (EI) m/e 217 (M⁺ + Na).

35 **Intermediar 4. Sinteza alternativă de (S)-2,4,5-trifluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (Compusul 1a)**

Schema 4**Etapa 1. Clorură de 2,4,5-trifluorobenzoil**

40

Într-un reactor de 100 L, s-au încărcat SOCl₂ (34,9 kg), DMF (0,34 L), și acid 2,4,5-trifluorobenzoic (32,3 kg). Lotul a fost încălzit la 80°C și agitat la 80°C - 90°C timp de 9 ore. Lotul a fost

răcit la 50°C - 60°C, și distilat sub vid la 60°C până când distilarea a fost oprită. S-au încărcat 14 kg de toluen în reactor și lotul a fost distilat continuu la 60°C pentru a da produsul brut, clorură de 2,4,5-trifluorobenzoil (46,28 kg, 88% prin HPLC), care a fost utilizat direct în reacția următoare.

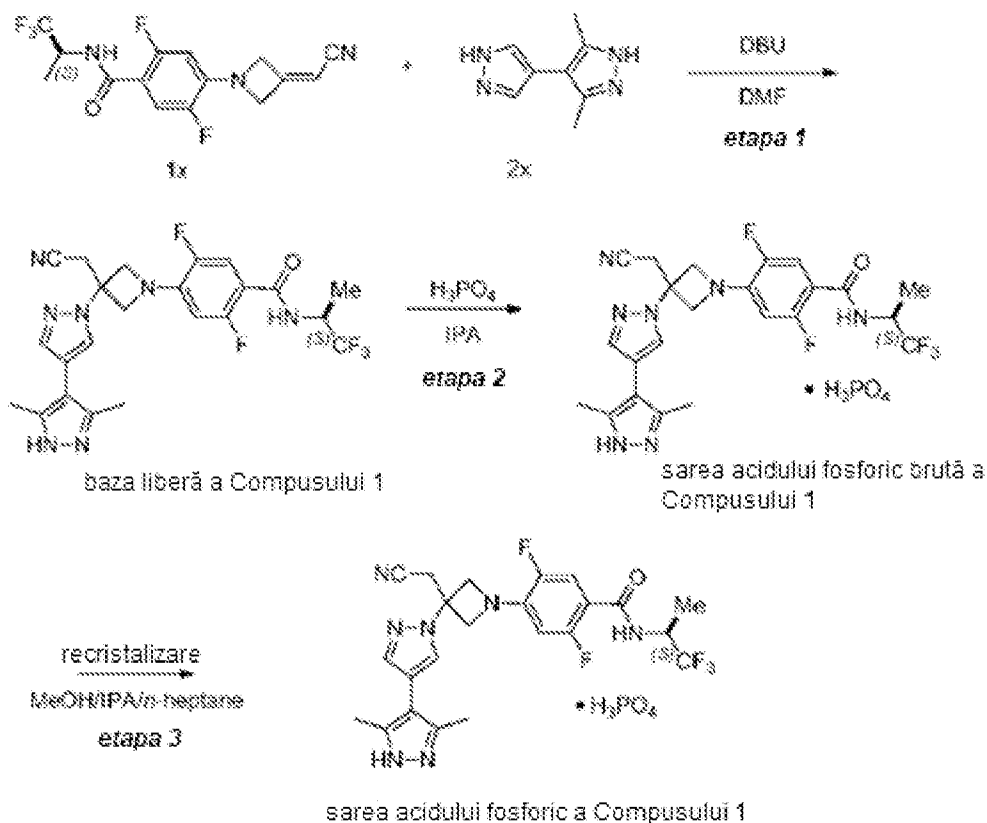
Etapa 2. (S)-2,4,5-trifluoro-N(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (Compusul 1a)

5 O soluție apoasă (158 L) conținând sare clorhidrat de (S)-1,1,1-trifluoropropan-2-amină (35 kg) a fost încărcată într-un reactor de 1000 L, și toluenul (198 kg) a fost încărcat într-un reactor urmat de adăugarea în porții de K₂CO₃ (82 kg). Clorura de 2,4,5-trifluorobenzoil (36,1 kg) a fost dizolvată în toluen (40 kg), și soluția de toluen a fost încărcată în reactor cu soluția de toluen a intermediarului aminic. Amestecul rezultat a fost agitat la 20°C timp de 2 ore. Lotul a fost filtrat și turta de filtru a fost spălată cu
10 toluen (117 kg). Filtratul și spălaturile au fost încărcate într-un reactor de 1000 L, și o soluție apoasă 1N de NaOH (125 kg) a fost încărcată în reactor. Amestecul a fost agitat timp de 2 ore și fazele au fost lăsate să se despartă. Faza apoasă a fost eliminată, și faza organică a fost spălată de două ori cu apă (135 kg) și depozitată într-un recipient curat (soluția 1). O porțiune separată (porțiunea 2) a fost tratată în același mod pentru a da soluția 2. Soluția 1 și soluția 2 au fost încărcate într-un reactor de 1000 L, și în reactor s-a
15 încărcat Na₂SO₄ (104 kg). Amestecul a fost agitat timp de 2 ore, filtrat, și turta de filtru a fost spălată cu toluen (90 kg). Filtratul și spălaturile au fost încărcate într-un reactor de 500 L, și lotul a fost distilat sub vid la 50°C. S-au încărcat toluen (14 kg) și heptan (166 kg) în reactorul de 500 L și lotul a fost agitat la 80°C până când s-a obținut o soluție. Soluția a fost răcită la 25°C și agitată timp de 2 ore. Produsul a fost izolat prin filtrare în vid, și turta de filtru a fost spălată cu n-heptan (40 kg). Turta de filtru a fost uscată sub vid la
20 ≤50°C pentru a da produsul brut, (S)-2,4,5-trifluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (87,0 kg; 79,0% din masă de LOD; greutate netă: 68,7 kg; 68%; 69,4% prin HPLC; 97,1 ee% prin HPLC chirală), care a fost purificată suplimentar dintr-un amestec de IPA și n-heptan în conformitate cu următoarele proceduri.

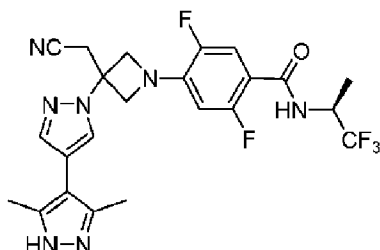
25 La un reactor de 500 L, s-a încărcat IPA (30,5 kg), heptan (213 kg) și (S)-2,4,5-trifluoro-N (1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă brută (70 kg). Amestecul a fost încălzit la 85°C și agitat pentru a forma o soluție limpede. Lotul a fost răcit la 20°C, și agitat timp de 12 ore. Lotul a fost filtrat, și turta de filtru a fost spălată cu n-heptan (48 kg), și uscată sub vid la 50°C pentru a da produsul purificat, (S)-2,4,5-trifluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (37,5 kg, 54%; puritate HPLC: 98,8%; 99,7 ee% prin HPLC chirală).
30 ¹HNMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,96 (m, 1H), 7,01 (m, 1H), 6,71 (m, 1H), 4,93 (m, 1H), 1,44 (d, J = 8,00 Hz, 3H) ppm.

Exemplul 1. Sinteză de sare a acidului fosforic de 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il) azetidina-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamidă (sarea acidului fosforic a Compusului 1)

Schema 5



Etapa 1. 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidină-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamidă (baza liberă a Compusului 1)

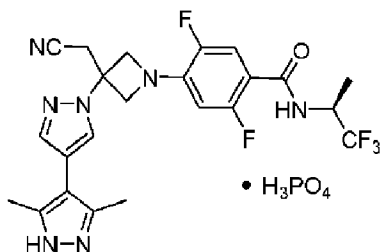


5 S-au încărcat clorhidrat de 3,5-dimetil-1H,1'H-[4,4']bipirazolil (Compusul 2x HCl, 2002 g, 12,34 mol, 1,1 echiv), DMF (3,9 L), și DBU (0,201 L, 204,6 g, 1,34 mol, 0,12 echiv) la un reactor de 50 L și amestecul de reacție a fost încălzit la 50°C-60°C și agitat timp de aproximativ 30 minute. Separat, a fost
 10 preparată o soluție amestecând bine (S)-4-(3-(cianometilen)azetidină-1-il)-2,5-difluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (Compusul 1x, 3872 g, 11,21 mol) și DMF (11,6 L). S-a adăugat apoi soluția Compusului 1x în DMF la amestecul de reacție în timp ce se menține temperatura la aproximativ 61°C. Amestecul de reacție rezultat a fost agitat la aproximativ 60°C timp de aproximativ 3,5 ore. Amestecul de reacție a fost apoi răcit la temperatura camerei și la reactor s-a adăugat apă (77,4 L). Amestecul de reacție răcit a fost adăugat în apă în timp ce s-a menținut temperatura la aproximativ 21°C.
 15 Amestecul rezultat a fost agitat la temperatura camerei timp de aproximativ 1,5 ore. Solidele au fost colectate prin filtrare și turta de filtru a fost spălată cu apă potabilă (38,7 L). Turta umedă a fost uscată cu aer pentru a da 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidină-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil] benzamidă (baza liberă a Compusului 1, 5849 g).

20 O coloană cromatografică a fost încărcată secvențial cu acetat de etil (9,9 L), CH₂Cl₂ (22,4 L) și gel de siliciu (8000 g), amestecate bine, și eluate la suprafața gelului de siliciu. Baza liberă brută a Compusului 1 (1006 g), gelul de siliciu (4000 g), și CH₂Cl₂ (8,0 L) au fost încărcate la un prim evaporator rotativ și rotite la aproximativ 22°C timp de aproximativ 45 minute fără colectarea solventului. Baza liberă brută a Compusului 1 (1008 g) și gelul de siliciu (4002 g) și CH₂Cl₂ (8,0 L) au fost încărcate la un al doilea

evaporator rotativ și rotite la aproximativ 23°C timp de aproximativ 45 minute fără colectarea solventului. Ambele amestecuri au fost apoi concentrate la aproximativ 34°C sub presiune redusă, și reziduurile au fost încărcate pe coloană. Nisipul de mare (5010 g) a fost încărcat pe coloană. Coloana a fost eluată secvențial cu eluentul colectat (16 L), 30% (v/v) EtOAc-CH₂Cl₂ (preparat separat din 31,2 L de EtOAc și 72,8 L de CH₂Cl₂), 5% (v/v) MeOH-CH₂Cl₂ (preparat separat din 2,5 L de MeOH și 47,5 L de CH₂Cl₂), și 8% (v/v) MeOH-CH₂Cl₂ (preparat separat din 4,8 L de MeOH și 55,2 L de CH₂Cl₂). Frajeciunile combinate au fost concentrate sub presiune redusă la aproximativ 45°C pentru a da baza liberă pură a Compusului 1 (1824 g). Au fost efectuate patru loturi de purificare pe coloană pentru a da 5181 g de 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidin-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamidă pură (baza liberă a Compusului 1; randament 91%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,22 (s, 1H), 8,50 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 8,13 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,36 (dd, *J* = 12,5, 6,3 Hz, 1H), 6,62 (dd, *J* = 11,9, 7,3 Hz, 1H), 4,78 (m, 1H), 4,64 (d, *J* = 8,9 Hz, 2H), 4,40 (d, *J* = 9,1 Hz, 2H), 3,66 (s, 2H), 2,23 (s, 6H), 1,31 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H) ppm; ¹³C RMN (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ 162,8, 156,7 (d, *J* = 246,6 Hz), 146,9 (d, *J* = 236,9 Hz), 145,2, 141,6 (t, *J* = 12,3 Hz), 138,3, 135,5, 125,8 (q, *J* = 281,9 Hz), 125,6, 117,2, 116,4 (d, *J* = 26,4 Hz), 115,2, 111,3 (dd, *J* = 15,7, 5,8 Hz), 107,7, 102,0 (d, *J* = 29,1 Hz), 62,4, 57,7, 45,8 (q, *J* = 30,8 Hz), 27,0, 13,3, 13,3, 10,4 ppm; ¹⁹F RMN (282 MHz, DMSO-*d*₆) δ -76,17 (d, *J* = 7,4 Hz), -116,89 (s), -139,71 (s) ppm.

Etapa 2. Sare a acidului fosforic de 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidin-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil] benzamidă (sarea brută a acidului fosforic a Compusului 1)



La o soluție limpede de 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamidă (baza liberă a Compusului 1, 405,0 g, 798,1 mmol) în metanol (MeOH, 520,0 mL) și 2-propanol (IPA, 2550,0 mL) la 50°C, a fost adăugată o soluție de acid fosforic (85% din masă apoasă, 119,65 g, 1037,8 mmol, 1,3 echiv) în alcool izopropilic (IPA, 120,0 mL) timp de 18 minute. Suspensia rezultată a fost agitată la 50°C timp de 1 oră. S-a adăugat apoi *n*-heptan (4050,0 mL) timp de 40 min în timp ce s-a menținut temperatura internă între 46°C-53°C. După adăugarea *n*-heptanului, suspensia a fost răcită la temperatura camerei și agitată timp de 19 ore. Solidele au fost colectate prin filtrare, spălate cu un amestec de 2-propanol/și *n*-heptan (3 până la 10 din volum, 2 × 700 mL) urmate de *n*-heptan (3 × 550 mL), și uscate sub vid la temperatura camerei pentru a da sarea brută a acidului fosforic de 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidin-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamidă (sarea brută a acidului fosforic a Compusului 1, 434,6 g, randament 89,9%).

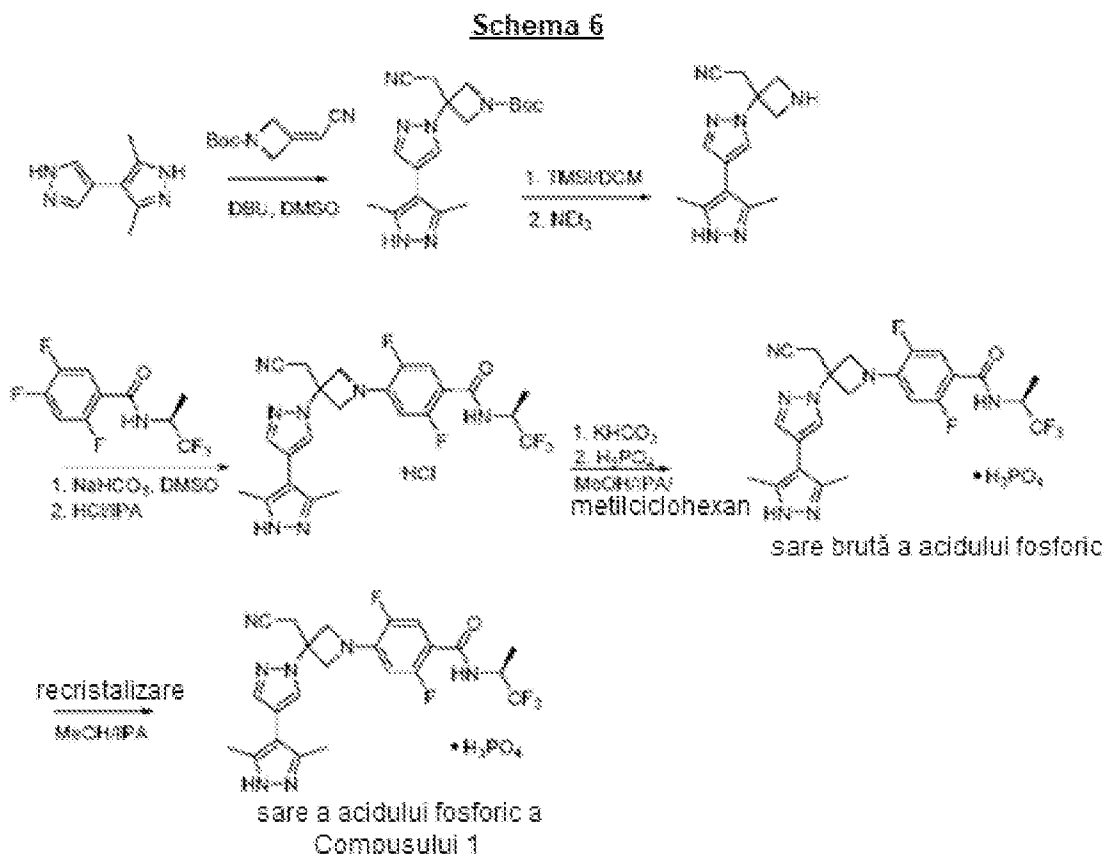
Etapa 3. Sare a acidului fosforic de 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidin-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil] benzamidă (sarea acidului fosforic a Compusului 1, purificată)

Sarea acidului fosforic de 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidin-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamidă (sarea brută a acidului fosforic a Compusului 1, 958,3 g, 1583 mmol) și metanolul (MeOH, 9583,0 mL) au fost încărcate într-un flacon de 22 L la temperatura camerei. Suspensia rezultată a fost încălzită la 50°C pentru a da o soluție limpede portocaliu deschis. Soluția a fost filtrată prin lustruire, transferată într-un flacon de 22 L și încălzită pentru a îndepărta metanolul timp de 70 min. S-a adăugat apoi 2-propanol (IPA, 7700 mL) la flacon timp de 30 min în timp ce s-a menținut temperatura internă între 50°C-65°C. S-a adăugat apoi *n*-heptan (14400 mL) în porții în timp ce s-a menținut o distilare a amestecului de solvenți (MeOH, IPA, și *n*-heptan) timp de 2,5 ore. A fost distilat un total de 10818 g (15000 mL) de amestec de solvenți. Suspensia rezultată a fost răcită la temperatura camerei și agitată timp de 17 ore. Solidele au fost colectate prin filtrare, spălate cu un amestec de 2-propanol (IPA) și *n*-heptan (1 până la 5 din volum, 3000 mL) urmate de *n*-heptan (3 × 4000 mL), și uscate sub vid la temperatura camerei pentru a da sarea acidului fosforic de 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidin-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamidă (sarea acidului fosforic a Compusului 1, 925,7 g, randament 96,6%) ca pulbere albicioasă cristalină. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,35 (br. s, 4H), 8,50 (d, *J* = 8,9 Hz, 1H), 8,11 (s,

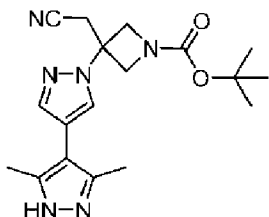
1H), 7,70 (s, 1H), 7,34 (dd, $J = 12,5, 6,4$ Hz, 1H), 6,61 (dd, $J = 12,0, 7,4$ Hz, 1H), 4,86 - 4,69 (m, 1H), 4,61 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 4,38 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H), 3,64 (s, 2H), 2,21 (s, 6H), 1,30 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H) ppm; ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO- d_6) δ 162,8, 156,7 (d, $J_{\text{CF}} = 246,5$ Hz), 146,9 (d, $J_{\text{CF}} = 236,1$ Hz), 141,6 (dd, $J_{\text{CF}} = 13,0, 11,7$ Hz), 140,3, 138,3, 125,8 (q, $J_{\text{CF}} = 281,8$ Hz), 125,6, 117,2, 116,4 (dd, $J_{\text{CF}} = 22,3, 4,6$ Hz), 115,1, 111,3 (dd, $J_{\text{CF}} = 15,7, 5,8$ Hz), 107,7, 102,0 (dd, $J_{\text{CF}} = 29,5, 4,5$ Hz), 62,3, 57,7, 57,7, 45,8 (q, $J_{\text{CF}} = 30,5$ Hz), 27,0, 13,3 (d, $J_{\text{CF}} = 1,7$ Hz), 11,7 ppm; $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{F}_5\text{N}_7\text{O}$ (MW 507,46), LCMS (EI) m/e 508,1 ($\text{M}^+ + \text{H}$).

Raportul de sare al acidului fosforic a fost măsurat prin ^1H RMN la 1,01 acid fosforic la bază liberă a Compusului 1. Aceeași formă cristalină de substanță medicamentoasă a sării acidului fosforic al Compusului 1 a fost preparată consistent după procedurile de preparare și purificare descrise mai sus. Această formă a fost confirmată prin calorimetrie cu scanare diferențială (DSC) așa cum se arată în FIG. 1, analiză termogravimetrică (TGA) așa cum se arată în FIG. 2, și difracție cu raze X pe pulbere (XRPD) așa cum se arată în FIG. 3.

Exemplul 2. Sinteză alternativă de sare a acidului fosforic de 4-[3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol-1-il)azetidină-1-il]-2,5-difluoro-N-[(1S)-2,2,2-trifluoro-1-metiletil]benzamidă (sarea acidului fosforic a Compusului 1)



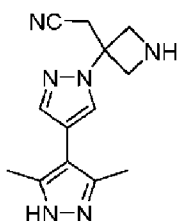
Etapa 1. 3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-[4,4'-bipirazol]-1-il)azetidină-1-carboxilat de tert-butil



Un reactor uscat căptușit cu sticlă, de 250 L, a fost încălzit cu sulfoxid de dimetil anhidru (DMSO; 57,0 L), care a fost încălzit la 32°C. Odată ce solventul a atins temperatura, în vasul de reacție s-a încălzit 3-(cianometil)azetidină-1-carboxilat de tert-butil (Compusul 1y, 22,8 kg, 117,4 mol, 1,0 echiv), urmat de

3,5-dimetil-4,4'-bipirazol (Compusul **2x**, 20,0 kg, 123,3 mol, 1,05 echiv). Amestecul de reacție a fost răcit la 24°C, la vasul de reacție s-a încărcat DBU (4,4 L, 29,56 mol, 0,25 echiv), și soluția rezultată a fost agitată timp de cel puțin 2 ore. Amestecul de reacție a fost apoi diluat cu clorură de metilen (116 L) și încărcat la o soluție apoasă de 10% acid citric și 10% NaCl (97 L). Stratul organic inferior a fost separat din amestecul bifazic și stratul apos a fost extras cu clorură de metilen (58 L). Straturile organice combinate au fost apoi spălate de două ori cu o soluție apoasă de 10% acid citric și 10% NaCl (97 L). Ca o parte din cea de a doua spălare, la stratul organic s-a adăugat clorură de metilen suplimentară (DCM) (58 L). După spălare, la amestecul de reacție s-a încărcat acetat de izopropil (465 L), în timp ce s-a efectuat o distilare la volum constant. În timpul distilării, s-a format un solid alb. Suspensia rezultată a fost răcită la 20°C, agitată timp de cel puțin 4 ore, filtrată, și uscată pentru a da produsul dorit, 3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-[4,4'-bipirazol]-1-il)azetidină-1-carboxilat de *terț*-butil (30,4 kg, 79%), ca solid alb. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,19 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 4,41 (d, *J* = 9,4 Hz, 2H), 4,18 (d, *J* = 9,3 Hz, 2H), 3,55 (s, 2H), 2,23 (d, *J* = 19,5 Hz, 6H), 1,41 (s, 9H) ppm; C₁₈H₂₄N₆O₂, (MW 356,42), LCMS (EI) *m/e* 357,4 (M⁺+H).

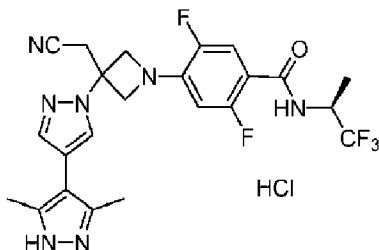
Etapa 2. 2-(3-(3',5'-Dimetil-1H,1'H-[4,4'-bipirazol]-1-il)azetidină-3-il)acetonitril



La un reactor cătușit cu sticlă, de 450 L, s-a încărcat clorură de metilen (300 L) și 3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-[4,4'-bipirazol]-1-il)azetidină-1-carboxilat de *terț*-butil (30,0 kg, 84,17 mol, 1,000 echiv). S-a adăugat TMSI (14,4 L, 101,45 mol, 1,205 echiv) și soluția rezultată a fost agitată timp de cel puțin 2 ore la 25°C. În reactor s-a încărcat metanol (4,3 L, 106,12 mol, 1,261 echiv) și amestecul de reacție a fost agitat timp de 30 minute suplimentare. Amestecul de reacție a fost apoi încălzit pentru a îndepărta clorura de metilen (150 L) prin distilare. După ce distilarea a fost completă, în vas s-a încărcat acetat de izopropil (IPAc, 150 L) la 25°C și amestecul de reacție a fost agitat timp de 1 oră. Suspensia rezultată a fost filtrată și spălată cu IP Ac pentru a da un amestec brut de 2-(3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-[4,4'-bipirazol]-1-il)azetidină-3-il) acetonitril și sare a acidului dihidroiodic de 2-(3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-[4,4'-bipirazol]-1-il)azetidină-3-il)acetonitril ca solid galben (68 kg).

Solidul brut a fost apoi transferat la un reactor cătușit cu sticlă de 450 L, încărcat cu clorură de metilen (360 L). În reactor s-a încărcat trietilamină (14 L, 100,80 mol, 1,198 echiv) în 30 min și amestecul rezultat a fost agitat la 25°C timp de 12 ore. Suspensia rezultată a fost filtrată, spălată o dată cu clorură de metilen și de trei ori cu IPAc, filtrată, și uscată pentru a da produsul dorit, 2-(3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-[4,4'-bipirazol]-1-il)azetidină-3-il)acetonitril (16,8 kg, 78%), ca solid alb. ¹H RMN (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ 10,16 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 9,90 (s, 1H), 8,45 (s, 1H), 7,92 (s, 1H), 4,65 - 4,55 (m, 2H), 4,36 - 4,25 (m, 2H), 3,88 (s, 2H), 2,41 (s, 6H) ppm; C₁₃H₁₆N₆, (MW 256,31), LCMS (EI) *m/e* 257,2 (M⁺ + H).

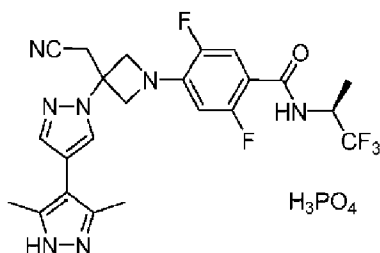
Etapa 3. Sare a acidului clorhidric de (S)-4-(3-(Cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-[4,4'-bipirazol]-1-il)azetidină-1-il)-2,5-difluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il) benzamidă



La un reactor cătușit cu sticlă de 250 L, s-au încărcat 2-(3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-[4,4'-bipirazol]-1-il)azetidină-3-il)acetonitril (12 kg, 46,8 mol, 1,00 echiv), (S)-2,4,5-trifluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (14,6 kg, 53,8 mol, 1,15 echiv), NaHCO₃ (4,1 kg, 49,1 mol, 1,05 echiv), LiCl (4,0 kg, 93,6 mol, 2,00 echiv) și DMSO (96 L, 8 V). Amestecul de reacție rezultat a fost încălzit la 85°C timp de cel puțin 7 ore și soluția rezultată a fost apoi răcită la temperatura camerei. Amestecul de reacție a fost diluat cu acetat de izopropil (147 L, 12 V) și apoi apă (120 L, 10 V). Stratul apos a fost separat și stratul organic rămas a fost spălat cu soluție apoasă 1% din masă de acid citric (88 L, 7,3 V) și apă (88 L, 7,3 V) înainte de a fi concentrat până la aproximativ 133 L (11 V). S-a adăugat apoi acetat de izopropil (147 L, 12,25 V)

la amestec în timp ce s-a efectuat o distilare la volum constant. În continuare, în reactor a fost încărcată o soluție de HCl în IPA (2,5% din masă, 96 L, 8 V) și soluția rezultată a fost agitată la temperatura camerei. După 1 oră, s-a încărcat metilciclohexan (220 L, 18,1 V) la suspensie și suspensia rezultată a fost agitată la temperatura camerei timp de 4 ore suplimentare. Suspensia rezultată a fost filtrată și turta umedă a fost spălată cu un amestec de metilciclohexan și acetat de izopropil (3:1, 60 L, 5V), urmat de metilciclohexan (60L, 5V). În final turta umedă a fost uscată la 50°C - 60°C sub vid pentru a da produsul brut dorit, clorhidrat de (S)-4-(3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-[4,4'-bipirazol]-1-il)azetidină-1-il)-2,5-difluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il) benzamidă (22,4 kg, 88%).

Etapa 4. Sare a acidului fosforic a (S)-4-(3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-[4,4'-bipirazol]-1-il)azetidină-1-il)-2,5-difluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il) benzamidei



La un reactor căptușit cu sticlă de 450 L, s-a încărcat acetat de izopropil (286 L, 10V) și sare a acidului clorhidric de (S)-4-(3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-[4,4'-bipirazol]-1-il)azetidină-1-il)-2,5-difluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (28,6 kg), urmată de KHCO₃ (86 L, 10 g% în apă, 3V). Suspensia a fost agitată până când s-a obținut o soluție limpede. Mai departe, stratul apos a fost îndepărtat și organicele au fost spălate cu apă (86 L (3V)) și apoi filtrate pe cărbune la un al doilea reactor căptușit cu sticlă. Organicele au fost concentrate pentru a îndepărta 240 L (8,4V) de solvent la 50°C sub presiune redusă de 200 mbar - 400 mbar. La reziduul rezultat s-a încărcat izopropanol (163 L, 5,7 V) la 50°C și ulterior s-a răcit la temperatura camerei. În continuare, 14,9 kg (52% din masă) de 48% din masă H₃PO₄ în IPA/apă au fost încărcate în reactor timp de cel puțin 2 ore și soluția rezultată a fost agitată la temperatura camerei timp de cel puțin 1 oră. S-a încărcat metilciclohexan (172 L, 6V) la temperatura camerei și amestecul a fost agitat timp de cel puțin 1 oră. Suspensia a fost filtrată și turta a fost spălată cu 1:1 IPA/metilciclohexan (86 L, 3 V), urmată de metilciclohexan (86 L, 3 V). Turta umedă a fost apoi uscată la 50°C sub vid pentru a da sarea brută a acidului fosforic de (S)-4-(3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-[4,4'-bipirazol]-1-il)azetidină-1-il)-2,5-difluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (28,0 kg (88%).

La un reactor căptușit cu sticlă de 450 L, s-a încărcat sarea brută a acidului fosforic (28,0 kg) și metanol (336 L (12 V)), și amestecul rezultat a fost încălzit la 50°C pentru a da o soluție limpede. Soluția a fost transferată într-un reactor separat printr-un filtru de lustruire. A fost utilizat MeOH (28 L, 1 V) pentru a clăti primul reactor și apoi a fost transferat în cel de al doilea reactor prin filtrul de lustruire. Filtratul a fost apoi concentrat până la 7V prin distilarea a 196 L (7 V) de solvent la 45°C sub presiune redusă de 300 mbar - 400 mbar. În continuare, semințe de sare pură a acidului fosforic de (S)-4-(3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-[4,4'-bipirazol]-1-il)azetidină-1-il)-2,5-difluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (28,0 g, 0,1% din masă) au fost încărcate în reactor și amestecul a fost agitat la 45°C timp de cel puțin 15 min. S-a încărcat izopropanol (196 L, 7 V) încărcate și 196 L (7 V) de solvenți au fost distilați în jur de 45°C sub presiune redusă de 100 mbar - 200 mbar. S-a încărcat izopropanol (196 L, 7 V) în reactor și 196 L (7 V) de solvenți au fost îndepărtați prin distilare. A fost efectuată IPC pentru a confirma că metanolul a fost nu mai mult de 5% în amestec. În continuare, amestecul a fost răcit la temperatura camerei și suspensia rezultată a fost filtrată. Turta a fost spălată de două ori cu izopropanol (56 L, 2V) și apoi uscată la 50°C sub presiune redusă pentru a da sarea acidului fosforic de (S)-4-(3-(cianometil)-3-(3',5'-dimetil-1H,1'H-[4,4'-bipirazol]-1-il)azetidină-1-il)-2,5-difluoro-N-(1,1,1-trifluoropropan-2-il)benzamidă (24,1 kg (86,1%) ca solid alb. ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,53 - 8,43 (m, 1H), 8,12 (d, *J* = 0,7 Hz, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,36 (dd, *J* = 12,5, 6,3 Hz, 1H), 6,63 (dd, *J* = 11,9, 7,2 Hz, 1H), 4,85 - 4,72 (m, *J* = 7,5 Hz, 1H), 4,64 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 4,45 - 4,37 (m, 2H), 3,66 (s, 2H), 2,24 (s, 6H), 1,33 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H) ppm; C₂₃H₂₅F₅N₇O₅P (MW 605,45; C₂₃H₂₂F₅N₇O: MW 507,47), LCMS (EI) *m/e* 508,2 (M⁺ + H).

Exemplul A. Test de kinază JAK *in vitro*

Compușii furnizați aici care sunt testați pentru activitate inhibitoare a JAK, ținesc în conformitate cu următorul test *in vitro* descris în Park și colab., *Analytical Biochemistry* **1999**, 269, 94-104. Domeniile catalitice ale JAK1 uman (a.a. 837-1142), JAK2 (a.a. 828-1132) și JAK3 (a.a. 781-1124) cu o etichetă His N-terminală sunt exprimate utilizând baculovirus în celule de insecte și purificate. Activitatea catalitică a JAK1, JAK2 sau JAK3 este testată prin măsurarea fosforilării unei peptide biotilate. Peptida fosforilată este detectată prin fluorescență omogenă rezolvată în timp (HTRF). Valorile IC₅₀ ale compușilor sunt

măsurate pentru fiecare kinază în reacții de 40 microL care conțin enzima, ATP și 500 nM peptidă în 50 mM Tris (pH 7,8) tampon cu 100 mM NaCl, 5 mM DTT, și 0,1 mg/mL (0,01%) BSA. Pentru măsurătorile IC₅₀ de 1 mM, concentrația ATP în reacții este 1 mM. Reacțiile sunt efectuate la temperatura camerei timp de 1 oră și apoi oprite cu 20 μL 45 mM EDTA, 300 nM SA-APC, 6 nM Eu-Py20 în tampon de testare (Perkin Elmer, Boston, MA). Legarea la anticorpusul marcat cu Europiu are loc pentru 40 minute și semnalul HTRF este măsurat pe un cititor de placă Fusion (Perkin Elmer, Boston, MA). Baza liberă a Compusului 1 a avut o IC₅₀ de ≤ 300 nM cu o selectivitate a JAK2/JAK1 de > 10 la 1 mM ATP.

Exemplul B. Teste celulare

Linile celulare de cancer dependente de citokine și prin urmare transducția semnalului JAK/STAT, pentru creștere, pot fi placcate la 6000 celule pe godeu (format cu placă cu 96 de godeuri) în RPMI 1640, 10% FBS, și 1 nG/mL de citokine adecvate. Compușii furnizați aici se adaugă la celule în DMSO/mediu (concentrație finală 0,2% DMSO) și sunt incubati timp de 72 ore la 37°C, 5% CO₂. Efectul compusului asupra viabilității celulare este evaluat utilizând testul de viabilitate celulară luminiscentă CellTiter-Glo (Promega) urmat de cuantificarea TopCount (Perkin Elmer, Boston, MA). Potențialele efecte în afara țintei ale compușilor sunt măsurate în paralel utilizând o linie celulară nedirijată de JAK cu aceeași citire a testului. Toate experimentele sunt efectuate de obicei în duplicat.

Linile celulare de mai sus pot fi de asemenea utilizate pentru a examina efectele compușilor furnizați aici asupra fosforilării kinazelor JAK sau a potențialelor substraturi în aval cum ar fi proteinele STAT, Akt, Shp2, sau Erk. Aceste experimente pot fi efectuate urmând o înfometare peste noapte a citokinelor, urmată de o scurtă preincubare cu compusul (2 ore sau mai puțin) și de o stimulare a citokinelor de aproximativ 1 oră sau mai puțin. Proteinele sunt apoi extrase din celule și analizate prin tehnici familiare celor calificați în domeniu incluzând colorare Western sau ELISA utilizând anticorpi care pot diferenția între proteina fosforilată și totală. Aceste experimente pot utiliza celule normale sau canceroase pentru a investiga activitatea compușilor asupra biologiei supraviețuirii celulei tumorale sau asupra mediatorilor bolii inflamatorii. De exemplu, cu privire la cei din urmă, citokinele cum ar fi IL-6, IL-12, IL-23, sau IFN pot fi utilizate pentru a stimula activarea JAK, conducând la fosforilarea proteinelor STAT și potențial în profilurile transcripționale (evaluate prin matrice sau tehnologie qPCR) sau în producția și/sau secreția proteinelor, cum ar fi IL-17. Abilitatea compușilor pentru a inhiba aceste efecte mediate de citokine poate fi măsurată utilizând tehnici comune celor calificați în domeniu.

Compușii furnizați aici pot fi de asemenea testați în modele celulare concepute pentru a evalua potența și activitatea lor împotriva JAK-urilor mutante, de exemplu, mutația JAK2V617F găsită în tulburările proliferative mieloidale. Aceste experimente utilizează adesea celule dependente de citokine de descendență hematologică (*de exemplu* BaF/3) în care kinazele JAK de tip sălbatic sau mutante sunt exprimate ectopic (James, C., și colab. Nature 434:1144-1148; Staerk, J., și colab. JBC 280:41893-41899). Obiectivele finale includ efectele compușilor asupra supraviețuirii celulei, proliferării, și fosforilării proteinelor JAK, STAT, Akt, sau Erk.

Compușii furnizați aici pot fi evaluați pentru activitatea lor inhibitoare a proliferării celulelor T. Un astfel de test poate fi considerat un al doilea test de proliferare ghidat de citokine (*adică* JAK) și de asemenea un test simplist de supresie imună sau inhibare a imunoactivării. Următoarele constituie o scurtă prezentare a modului cum pot fi efectuate astfel de experimente. Celulele mononucleare din sângele periferic (PBMC) sunt preparate din probe de sânge integral uman utilizând metoda de separare Ficoll Hypaque și celulele T (fracțiunea 2000) pot fi obținute din PBMC-uri prin elutriere. Celulele T umane proaspăt izolate pot fi menținute în mediu de cultură (RPMI 1640 suplimentat cu 10% ser fetal bovin, 100 U/ml penicilină, 100 μg/ml streptomycină) la o densitate de 2×10^6 celule/ml la 37°C până la 2 zile. Pentru analiza proliferării celulare stimulată cu IL-2, celulele T sunt mai întâi tratate cu fitohemaglutinină (PHA) la o concentrație finală de 10 μg/mL timp de 72 ore. După spălarea o dată cu PBS, 6000 celule/godeu sunt placcate în plăci cu 96 de godeuri și tratate cu compuși furnizați aici la diferite concentrații în mediul de cultură în prezența a 100 U/mL IL-2 umană (ProSpec-Tany TechnoGene; Rehovot, Israel). Plăcile sunt incubate la 37°C timp de 72 ore și indicele de proliferare este evaluat utilizând reactivi luminiscenti CellTiter-Glo urmând protocolul sugerat de producător (Promega; Madison, WI).

Exemplu C. Eficacitate antitumorală *in vivo*

Compușii furnizați aici pot fi evaluați în modelele de xenogrefă tumorală umană la șoarecii compromiși imuni. De exemplu, o variantă tumorigenă a liniei celulare de plasmacitom INA-6 poate fi utilizată pentru a inocula șoarecii SCID subcutanat (Burger, R., și colab. Hematol J. 2:42-53, 2001). Animalele care poartă tumoare pot fi apoi randomizate în grupuri de tratament cu medicament sau cu vehicul și diferite doze de compuși furnizate aici pot fi administrate prin orice număr de căi uzuale incluzând orală, i.p., sau perfuzie continuă utilizând pompe implantabile. Creșterea tumorii este urmărită în timp utilizând șublere. În plus, mostrele din tumoare pot fi recoltate în orice moment după inițierea tratamentului pentru analiză cum s-a descris mai sus (Exemplul B) pentru a evalua efectele compusului asupra activității

JAK și a căilor de semnalizare în aval. În plus, selectivitatea compusului poate fi evaluată utilizând modele tumorale de xenogrefă care sunt ghidate de alte kinaze cunoscute (de exemplu Bcr-Abl) cum ar fi modelul tumoral K562.

Exemplul D. Test de răspuns la hipersensibilitate întârziat de contactul cu pielea murină

5 Compușii furnizați aici pot fi de asemenea testați pentru eficacitatea lor (de a inhiba ținte JAK) în modelul de test al hipersensibilității întârziat murin, ghidat de celulele T. Răspunsul la hipersensibilitate de tip întârziat (DTH) de contactul cu pielea murină este considerat ca fiind un model valid de dermatită clinică de contact, și al altor tulburări imunitare ale pielii mediate de limfocitele T, cum ar fi psoriazis (Immunol Astăzi. Ian 1998;19(1):37-44). DTH-urile murine partajează multiple caracteristici cu psoriazisul, incluzând infiltratele imune, creșterea însoțitoare a citokinelor inflamatorii, și hiperproliferarea cheratinocitelor. Mai mult, multe clase de agenți care sunt eficienți în tratarea psoriazisului în clinici, sunt de asemenea inhibitori eficienți ai răspunsului DTH la șoareci (Agents Actions. Ian 1993;38(1-2):116-21).

10 În zilele 0 și 1, șoarecii balb/c sunt sensibilizați cu o aplicare topică, pe abdomenul lor ras, cu antigenul 2,4-dinitro-fluorobenzen (DNFB). În ziua 5, este măsurată grosimea urechilor utilizând un micrometru pentru ingineri. Această măsurare este înregistrată și utilizată ca linie de bază. Ambele urechi ale animalelor sunt apoi provocate printr-o aplicare topică de DNFB într-un total de 20 μL (10 μL pe pavilionul intern și 10 μL pe pavilionul extern) la o concentrație de 0,2%. La douăzeci și patru până la șaptezeci și două de ore după provocare, urechile sunt măsurate din nou. Tratamentul cu compușii furnizați aici este dat prin fazele de sensibilizare și provocare (ziua -1 până în ziua 7) sau înainte de, și pe tot parcursul fazei de provocare (uzual după amiaza zilei 4 până în ziua 7). Tratament compusului de testat (în diferite concentrații) este administrat fie sistemic sau fie topic (aplicare topică a tratamentului la urechi). Eficacitatea compusului de testat este indicată de o reducere a umflării urechii în comparație cu situația fără tratament. Compusul de testat care determină o reducere de 20% sau mai mare este considerat eficient. În unele experimente, șoarecii sunt provocați dar nu sensibilizați (control negativ).

25 Efectul inhibitiv (inhibarea activării căilor JAK-STAT) al compușilor furnizați aici poate fi confirmat prin analiză imunohistochimică. Activarea căilor JAK-STAT conduce la formarea și translocarea factorilor de transcripție funcționali. În plus, influxul de celule imune și proliferarea crescută de cheratinocite ar trebui să asigure de asemenea modificări unice ale profilurilor de expresie în ureche care pot fi investigate și cuantificate. Secțiunile de ureche fixate cu formol și înglobate în parafină (recoltate după faza de provocare în modelul DTH) sunt supuse la analiză imunohistochimică utilizând un anticorp care interacționează specific cu STAT3 fosforilată (clona 58E12, Cell Signaling Technologies). Urechile de șoareci sunt tratate cu compușii furnizați aici, vehicul, sau dexametazonă (un tratament eficient clinic pentru psoriazis), sau fără nici un tratament, în modelul DTH pentru comparație. Compușii testați și dexametazona pot produce modificări transcripționale similare, atât calitative cât și cantitative, și atât compușii testați cât și dexametazona pot reduce numărul de celule care se infiltrează. Atât administrarea sistemică cât și administrarea topică a compușilor testați pot produce efecte inhibitive, adică, reducerea numărului de celule care se infiltrează și inhibarea modificărilor transcripționale.

Exemplul E. Activitatea antiinflamatorie *in vivo*

40 Compușii furnizați aici pot fi evaluați în modele pe rozătoare sau pe nerozătoare concepute pentru a replica un răspuns inflamator singur sau complex. De exemplu, modelele de artrită pe rozătoare pot fi utilizate pentru a evalua potențialul terapeutic al compușilor dozați preventiv sau terapeutic. Aceste modele includ, dar nu se limitează la, artrită indusă de collagen pe șoarece sau șobolan, artrită indusă de adjuvant pe șobolan, și artrită indusă de anticorpi de collagen. Bolile autoimune incluzând, dar fără a se limita la, scleroză multiplă, diabet zaharat de tip I, uveoretinită, tiroidită, miastenia gravis, nefropatii imunoglobulinice, miocardită, sensibilizarea căilor aeriene (astm), lupus, sau colită, pot fi de asemenea utilizate pentru a evalua potențialul terapeutic al compușilor furnizați aici. Aceste modele sunt bine stabilite în comunitatea de cercetare și sunt familiare celor calificați în domeniu (Current Protocols in Immunology, Vol 3., Coligan, J.E. și colab, Wiley Press.; Methods in Molecular Biology: Vol. 225, Inflammation Protocols., Winyard, P.G. și Willoughby, D.A., Humana Press, 2003.).

50 **Exemplul F. Modele pe animale pentru tratamentul ochiului uscat, uveitei, și conjunctivitei**

55 Agenții pot fi evaluați în unul sau mai multe modele preclinice ale ochiului uscat cunoscute celor calificați în domeniu incluzând, dar fără a se limita la, modelul de glandă lacrimală concanavalină A de iepure (ConA), modelul cu scopolamină la șoarece (subcutanat sau transdermal), modelul de glandă lacrimală Botulinum de șoarece, sau oricare dintr-un număr de modele autoimune spontane pe rozătoare, care conduc la disfuncția glandei oculare (de exemplu NOD-SCID, MRL/lpr, sau NZB/NZW) (Barabino și colab., Experimental Eye Research 2004, 79, 613-621 și Schrader și colab., Developmental Ophthalmology, Karger 2008, 41, 298-312). Obiectivele finale din aceste modele pot include histopatologia glandelor oculare și a ochilor (corneae, etc.) și posibil testul Schirmer clasic sau versiuni modificate ale acestuia (Barabino și colab.) care măsoară producția de lacrimi. Activitatea poate fi evaluată prin dozarea pe multiple

căi de administrare (de exemplu sistemic sau topic) care poate începe înainte sau după existența bolii măsurabile.

5 Agenții pot fi evaluați în unul sau mai multe modele preclinice de uveită cunoscute celor calificați în domeniu. Acestea includ, dar nu se limitează la, modele de uveită autoimună experimentală (EAU) și de uveită indusă endotoxină (EIU). Experimentele EAU pot fi efectuate pe iepure, șobolan, sau șoarece și pot implica imunizarea pasivă sau activată. De exemplu, poate fi utilizat oricare dintr-un număr sau antigeni retinali pentru a sensibiliza animalele la un imunogen relevant după care animalele pot fi provocate ocular cu același antigen. Modelul EIU este mai acut și implică administrarea locală sau sistemică de lipopolizaharide la doze subletale. Obiectivele finale pentru ambele modele EIU și EAU, pot include 10 examinarea fundoscopică, histopatologie între altele. Aceste modele sunt analizate de Smith și colab. (Immunology and Cell Biology 1998, 76, 497-51 2).

Activitatea este evaluată prin dozarea pe multiple căi de administrare (de exemplu sistemică sau topică) care poate începe înainte sau după existența bolii măsurabile. Unele modele listate mai sus pot dezvolta de asemenea sclerită/episclerită, coriodită, ciclită, sau irită și sunt prin urmare utile în investigarea 15 potențialei activități a compușilor pentru tratamentul terapeutic al acestor boli.

Agenții pot fi de asemenea evaluați în unul sau mai multe modele preclinice de conjunctivită cunoscute celor calificați în domeniu. Acestea includ, dar nu se limitează la, modele pe rozătoare care utilizează cobai, șobolani, sau șoareci. Modelele pe cobai le includ pe cele care utilizează imunizarea activă sau pasivă și/sau protocoale de provocare imune cu antigeni cum ar fi ovalbumină sau ambrozie (analizat 20 în Groneberg, D.A., și colab., Allergy 2003, 58, 1101-1113). Modelele pe șobolani și șoareci sunt similare ca și concept general cu cele pe cobai (analizate de asemenea de Groneberg). Activitatea poate fi evaluată prin dozarea prin multiple căi de administrare (de exemplu sistemică sau topică) care poate începe înainte sau după existența bolii măsurabile. Obiectivele finale pentru astfel de studii pot include, de exemplu, analiza histologică, imunologică, biochimică, sau moleculară a țesuturilor oculare cum ar fi conjunctiva.

25 **Exemplul G. Protecția osoasă *in vivo***

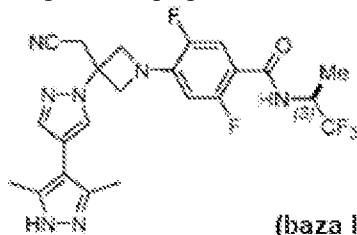
Compușii furnizați aici pot fi evaluați în diferite modele preclinice de osteopenie, osteoporoză, sau resorbție osoasă cunoscute celor calificați în domeniu. De exemplu, rozătoarele ovarietomizate pot fi utilizate pentru a evalua abilitatea compușilor de a afecta semnele și markerii remodelării și/sau densității osoase (W.S.S. Jee și W. Yao, J Musculoskel. Nueron. Interact., 2001, 1(3), 193-207). Alternativ, densitatea și arhitectura osoasă pot fi evaluate la rozătoarele tratate cu control sau compus în modele de osteopenie 30 indusă de terapie (de exemplu glucocorticoid) (Yao, și colab. Arthritis and Rheumatism, 2008, 58(6), 3485-3497; și id. 58(11), 1674-1686). În plus, efectele compușilor furnizați aici asupra resorbției și densității osoase pot fi evaluate în modelele pe rozătoare de artrită discutate mai sus (Exemplul E). Obiectivele finale pentru toate aceste modele pot varia, dar includ adesea evaluări histologice și radiologice precum și imunohistologie și markeri biochimici adecvați ai remodelării osoase.

35 **Exemplul H. Model transgenic S100A9 la șoarece**

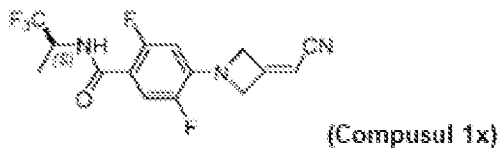
S-a arătat anterior că șoarecii transgenici *S100A9* afișează acumularea de MDSC în măduva osoasă, însoțită de dezvoltarea citopeniei multidescendente progresive și de displazia citologică similară cu MDS. În plus, maturarea forțată timpurie a MDSC fie prin tratamentul cu acid complet-trans-retinoic sau 40 fie prin întreruperea semnalizării CD33 a proteinei adaptoare (DAP12) care poartă motivul (care poartă ITAM) de activare pe bază de tirozină imunoreceptoare activă, a salvat fenotipul hematologic și a atenuat boala. Acest sistem poate fi util pentru a testa efectele asupra inhibării JAK1 asupra unei boli asemănătoare cu MDS într-un model preclinic. J. Clin. Invest., 123(11):4595-4611 (2013), Corespunzător, un inhibitor selectiv al JAK1 este dozat prin gavaj oral. Sunt monitorizate capacitatea compusului de a reduce citopenia și displazia citologică observată la șoarecii transgenici *S100A9*. 45

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- US-A1- 2014 343 030

(57) Revendicări:**1. Un proces de preparare a**

sau o sare a acestuia, cuprinzând punerea în reacție a



cu



pentru a forma baza liberă a Compusului 1, sau o sare a acestuia.

2. Procesul conform revendicării 1, în care punerea în reacție a Compusului **1x** cu Compusul **2x** este efectuată în prezența 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enei (DBU) și a unei componente de solvent organic;

opțional în care componenta de solvent organic cuprinde dimetilformamidă (DMF).

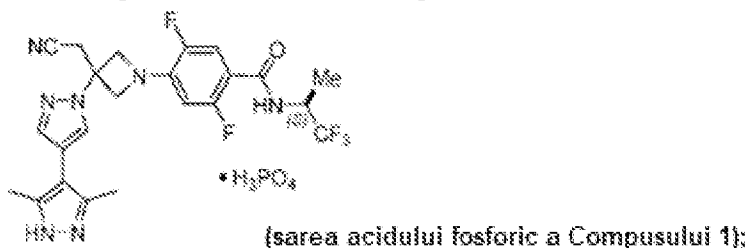
3. Procesul conform revendicării 1 sau 2, în care:

(a) punerea în reacție a Compusului **1x** cu Compusul **2x** este efectuată la o temperatură de la aproximativ 50°C până la aproximativ 60°C; sau

(b) punerea în reacție a Compusului **1x** cu Compusul **2x** este efectuată la o temperatură de aproximativ 60°C;

în care termenul „aproximativ” se referă la plus sau minus 10% din valoare.

4. Procesul conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 3, în care sarea Compusului 1 este o sare a acidului fosforic al Compusului 1 care este preparată printr-un proces cuprinzând punerea în reacție a bazei libere a Compusului 1 cu acidul fosforic pentru a forma



opțional în care punerea în reacție a bazei libere a Compusului 1 cu acidul fosforic este efectuată în prezența unei componente solvent;

suplimentar opțional în care componenta solvent cuprinde metanol, izopropanol, sau un amestec al acestora.

5. Procesul conform revendicării 4, în care:

(a) punerea în reacție a bazei libere a Compusului 1 cu acidul fosforic este efectuată la o temperatură de la aproximativ 40°C până la aproximativ 70°C;

(b) punerea în reacție a bazei libere a Compusului 1 cu acidul fosforic este efectuată la o temperatură este de la aproximativ 45°C până la aproximativ 55°C; sau

(c) punerea în reacție a bazei libere a Compusului 1 cu acidul fosforic este efectuată la o temperatură de aproximativ 50°C;

în care termenul „aproximativ” se referă la plus sau minus 10% din valoare.

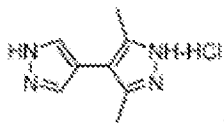
6. Procesul conform oricăreia dintre revendicările 4 sau 5, în care acidul fosforic este o soluție apoasă de aproximativ 85% din masa acidului fosforic;

în care termenul „aproximativ” se referă la plus sau minus 10% din valoare.

7. Procesul conform oricăreia dintre revendicările 4 până la 6, în care punerea în reacție a bazei libere a Compusului 1 cu acidul fosforic cuprinde în plus adăugarea unei a doua componente solvent la amestecul de reacție;

opțional în care a doua componentă solvent cuprinde n-heptan.

8. Procesul conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 7, cuprinzând în plus prepararea Compusului 2x printr-un proces cuprinzând punerea în reacție a



(Compusul 2x HCl)

cu o bază;

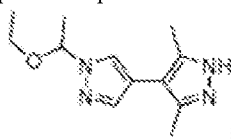
opțional în care

(a) baza este NaOH; și/sau

(b) punerea în reacție a Compusului 2x HCl cu o bază este efectuată la o temperatură de la aproximativ 15°C până la aproximativ 18°C;

în care termenul „aproximativ” se referă la plus sau minus 10% din valoare.

9. Procesul conform revendicării 8, cuprinzând în plus prepararea Compusului 2x HCl printr-un proces cuprinzând punerea în reacție a



(Compusul 2b)

cu acid clorhidric;

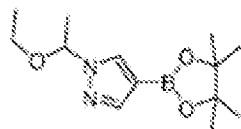
opțional în care:

(a) punerea în reacție a Compusului 2b cu acidul clorhidric este efectuată în prezența unei componente de solvent organic; în plus opțional în care componenta de solvent organic cuprinde 2-propanol; și/sau

(b) punerea în reacție a Compusului 2b cu acidul clorhidric este efectuată la o temperatură de la aproximativ 60°C până la aproximativ 65°C;

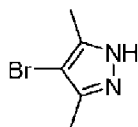
în care termenul „aproximativ” se referă la plus sau minus 10% din valoare.

10. Procesul conform revendicării 9, cuprinzând în plus prepararea Compusului 2b printr-un proces cuprinzând punerea în reacție a



(Compusul 2a)

cu



opțional în care punerea în reacție a Compusului 2a cu 4-bromo-3,5-dimetilpirazol este efectuată în prezența K_2HPO_4 , o componentă solvent, și a unui complex de paladiu;

suplimentar opțional în care:

(a) componenta solvent cuprinde 1-propanol, apă, sau un amestec al acestora; sau

(b) complexul de paladiu este [1,1'-bis(di-terț-butilfosfino)ferocen]dicloropaladiu(II) (Pd-118).

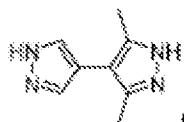
11. Procesul conform revendicării 10, în care:

(a) punerea în reacție a Compusului 2a cu 4-bromo-3,5-dimetilpirazolul este efectuată la o temperatură de la aproximativ 80°C până la aproximativ 100°C; sau

(b) punerea în reacție a Compusului 2a cu 4-bromo-3,5-dimetilpirazolul este efectuată la o temperatură de aproximativ 90°C;

în care termenul „aproximativ” se referă la plus sau minus 10% din valoare.

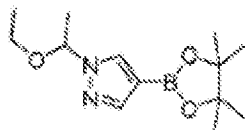
12. Procesul conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 7, cuprinzând în plus prepararea



(Compusul 2x)

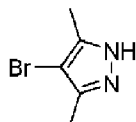
printr-un proces cuprinzând:

punerea în reacție a

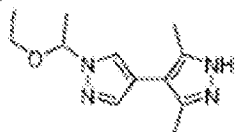


(Compusul 2a)

cu

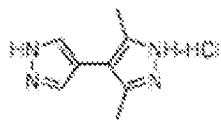


pentru a forma



(Compusul 2b);

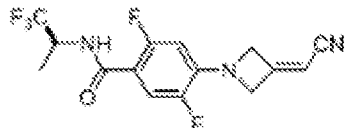
punerea în reacție a Compusului 2b cu acidul clorhidric pentru a forma



(Compusul 2x HCl); și

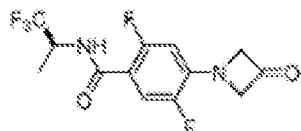
punerea în reacție a Compusului 2x HCl cu o bază pentru a forma Compusul 2x.

13. Procesul conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 12, cuprinzând în plus prepararea



(Compusul 1x)

în care Compusul 1x este preparat printr-un proces cuprinzând punerea în reacție a



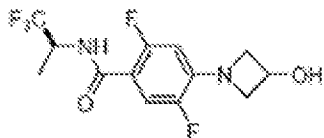
(Compusul 1c)

cu dietil cianometilfosfonat în prezența unei baze;

opțional în care punerea în reacție a Compusului 1c cu dietil cianometilfosfonat în prezența unei baze este efectuată într-o componentă de solvent organic;

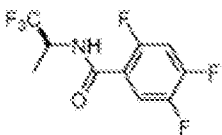
suplimentar opțional în care componenta de solvent organic cuprinde tetrahidrofuran, etanol, sau un amestec al acestora.

14. Procesul conform revendicării 13, cuprinzând în plus prepararea Compusului **1c** în care Compusul **1c** este preparat printr-un proces cuprinzând punerea în reacție a

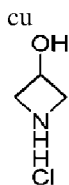


(Compusul **1b**)

cu diacetat de iodobenzan și radicalul liber 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi (TEMPO); opțional în care procesul cuprinde în plus prepararea Compusului **1b** în care Compusul **1b** este preparat printr-un proces cuprinzând punerea în reacție a

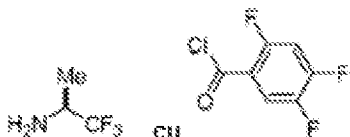


(Compusul **1a**)



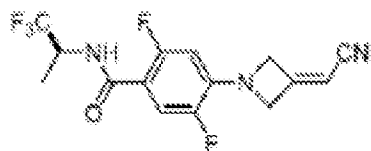
în prezența DBU;

suplimentar opțional în care procesul cuprinde prepararea Compusului **1a** în care Compusul **1a** este preparat printr-un proces cuprinzând punerea în reacție a



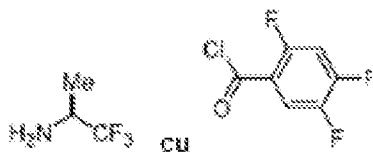
în prezența unei baze.

15. Procesul conform oricăreia dintre revendicările 1 până la 12, cuprinzând în plus prepararea

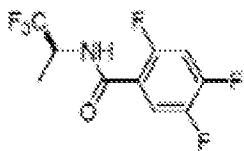


(Compusul **1x**)

printr-un proces cuprinzând:
punerea în reacție a



în prezența unei baze pentru a forma

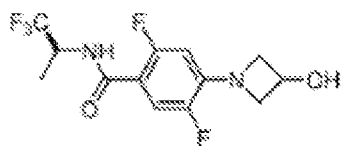


(Compusul **1a**);

punerea în reacție a Compusului **1a** cu

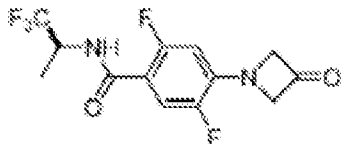


în prezența of DBU pentru a forma



(Compusul 1b);

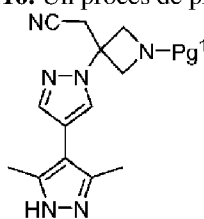
punerea în reacție a Compusului **1b** cu diacetat de iodobenzan și TEMPO pentru a forma



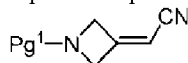
Compusul 1c)

și
punerea în reacție a Compusului **1c** cu dietil cianometilfosfonat în prezența unei baze pentru a forma Compusul **1x**.

16. Un proces de preparare a unui compus cu Formula **A**:

**A**

cuprinzând punerea în reacție 3,5-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol cu un compus cu Formula **B**:

**B**

în care Pg¹ este o grupare amină de protecție.

17. Procesul conform revendicării 16, în care Pg¹ este *tert*-butoxicarbonil.

18. Procesul conform revendicării 16 sau 17, în care punerea în reacție este efectuată în prezența 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enei;

opțional în care:

(a) mai puțin de 1 echivalent de 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enă este utilizat pe baza 1 echivalent al compusului cu Formula **B**; sau

(b) aproximativ 0,2 până la aproximativ 0,3 echivalenți de 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enă sunt utilizați pe baza 1 echivalent al compusului cu Formula **B**;

în care termenul „aproximativ” se referă la plus sau minus 10% din valoare.

19. Procesul conform oricăreia dintre revendicările 16 până la 18, în care:

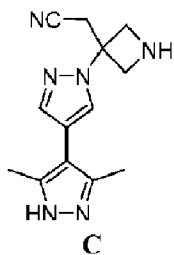
(a) aproximativ 1,0 până la aproximativ 1,1 echivalenți de 3,5-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazol sunt utilizați pe baza 1 echivalent al compusului cu Formula **B**;

(b) punerea în reacție este efectuată la aproximativ temperatura camerei; și/sau

(c) reacția 3,5-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazolului cu compusul cu Formula **B** este efectuată în prezența unei componente solvent; opțional în care componenta solvent cuprinde dimetil sulfoxid sau componenta solvent cuprinde dimetil sulfoxid și clorură de metilen;

în care termenul „aproximativ” se referă la plus sau minus 10% din valoare.

20. Procesul conform oricăreia dintre revendicările 16 până la 19, cuprinzând în plus deprotejarea compusului cu Formula **A** pentru a forma un compus cu Formula **C**:



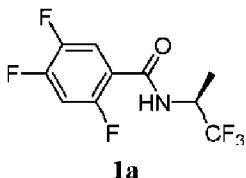
sau o sare a acestuia.

21. Procesul conform revendicării 19, în care deprotejarea cuprinde punerea în reacție a unui compus cu Formula **A** în prezența unei halogenuri de trialchilsilil;
opțional în care halogenura de trialchilsilil este iodură de trimetilsilil.

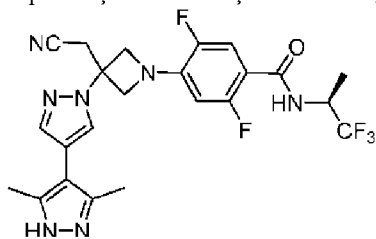
22. Procesul conform revendicării 21, în care deprotejarea este efectuată în prezența unei componente solvent; opțional în care:
(a) componenta solvent cuprinde clorură de metilen; sau
(b) componenta solvent cuprinde clorură de metilen și metanol;
suplimentar opțional în care deprotejarea este efectuată la aproximativ temperatura camerei;
în care termenul „aproximativ” se referă la plus sau minus 10% din valoare.

23. Procesul conform revendicării 21 sau 22, în care procesul cuprinde în plus punerea în reacție a unui compus cu Formula **C**, sau a unei săruri a acestuia, cu o bază amină, pentru a forma o bază liberă a compusului cu Formula **C**; opțional în care:
(a) baza amină este trietilamină; și/sau
(b) reacția compusului cu Formula **C**, sau a unei săruri a acestuia, cu o bază amină este efectuată în prezența unei componente solvent; opțional în care componenta solvent cuprinde clorură de metilen.

24. Procesul conform revendicării 23, cuprinzând în plus punerea în reacție a formei de bază liberă a compusului cu Formula **C** cu Compusul **1a**:



în prezența unei baze și a unei halogenuri metalice alcaline pentru a forma Compusul 1:



sau o sare a acestuia;

opțional în care baza este:

(a) o bază bicarbonat; sau

(b) bicarbonat de sodiu;

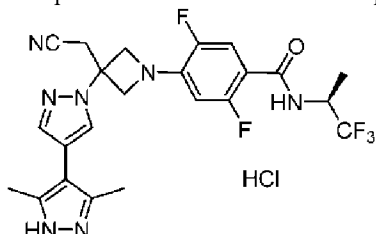
suplimentar opțional în care halogenura metalică alcalină este clorură de litiu.

25. Procesul conform revendicării 24, în care punerea în reacție este efectuată la o temperatură de la aproximativ 80°C până la aproximativ 90°C;
în care termenul „aproximativ” se referă la plus sau minus 10% din valoare.

26. Procesul conform revendicării 24 sau 25, în care reacția formei de bază liberă a compusului cu Formula **C** cu Compusul **1a** este efectuată în prezența unei componente solvent;
opțional în care:
(a) componenta solvent cuprinde sulfoxid de dimetil; sau
(b) componenta solvent cuprinde sulfoxid de dimetil și acetat de izopropil.

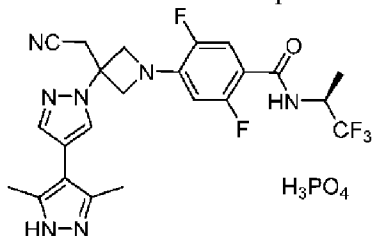
27. Procesul conform oricăreia dintre revendicările 24 până la 26, în care procesul cuprinde în plus punerea în reacție a Compusului 1 cu un acid puternic pentru a forma o formă de sare a Compusului 1.

28. Procesul conform oricăreia dintre revendicările 24 până la 26, cuprinzând în plus punerea în reacție a Compusului 1 cu acidul clorhidric pentru a forma sarea acidului clorhidric a Compusului 1:



29. Procesul conform revendicării 28, cuprinzând în plus punerea în reacție a sării acidului clorhidric a Compusului 1 cu o bază bicarbonat pentru a forma forma de bază liberă a Compusului 1; opțional în care baza bicarbonat este bicarbonat de potasiu.

30. Procesul conform revendicării 29, cuprinzând în plus punerea în reacție a formei de bază liberă a Compusului 1 cu acidul fosforic pentru a forma sarea acidului fosforic a Compusului 1:

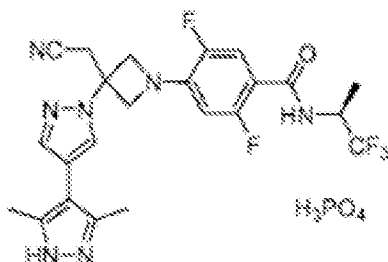


opțional în care punerea în reacție este efectuată aproximativ la temperatura camerei; în care termenul „aproximativ” se referă la plus sau minus 10% din valoare.

31. Procesul conform revendicării 30, în care reacția formei de bază liberă a Compusului 1 cu acidul fosforic este efectuată în prezența unei componente solvent; opțional în care:

- (a) componenta solvent cuprinde apă; sau
- (b) componenta solvent cuprinde apă și alcool izopropilic.

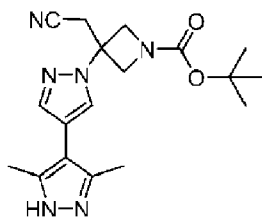
32. Un proces de preparare a sării acidului fosforic a Compusului 1:



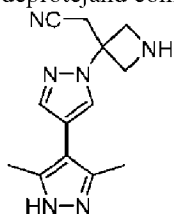
Sarea acidului fosforic a Compusului 1

cuprinzând:

punerea în reacție a 3,5-dimetil-1H,1'H-4,4'-bipirazolului cu 3-(cianometilen)azetidină-1-carboxilatului de *tert*-butil în prezența 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-enei pentru a forma compusul cu Formula A-1:

**A-1;**

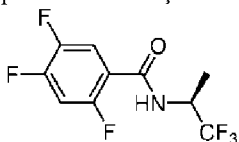
deprotejiind compusul cu Formula **A-1** pentru a forma compusul cu Formula **C-1**:

**C-1**

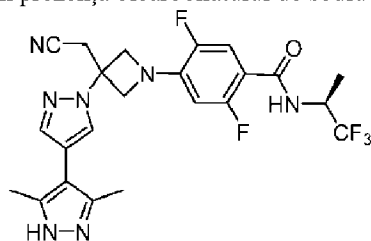
sau o sare a acestuia;

punerea în reacție a unui compus cu Formula **C-1** cu trietilamina pentru a forma forma de bază liberă a compusului cu Formula **C-1**;

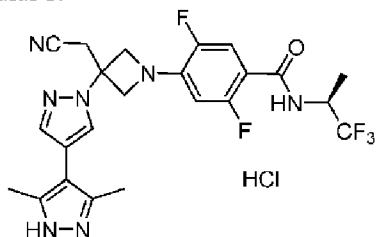
punerea în reacție a formei de bază liberă a compusului cu Formula **C-1** cu Compusul **1a**:

**1a**

în prezența bicarbonatului de sodiu și a clorurii de litiu pentru a forma Compusul 1:



punerea în reacție a Compusului 1 cu acidul clorhidric pentru a forma sarea acidului clorhidric a Compusului 1:



punerea în reacție a sării acidului clorhidric a Compusului 1 cu bicarbonatul de potasiu pentru a forma forma de bază liberă a Compusului 1; și

punerea în reacție a formei de bază liberă a Compusului 1 cu acidul fosforic pentru a forma sarea acidului fosforic a Compusului 1.

33. Procesul din revendicările 30-32, cuprinzând în plus izolarea sării acidului fosforic a Compusului 1;

opțional în care:

(a) sarea acidului fosforic a Compusului 1 este izolată prin recristalizare;

(b) sarea acidului fosforic a Compusului 1 este izolată prin recristalizare dintr-un amestec de metanol, izopropanol, și metilciclohexan.

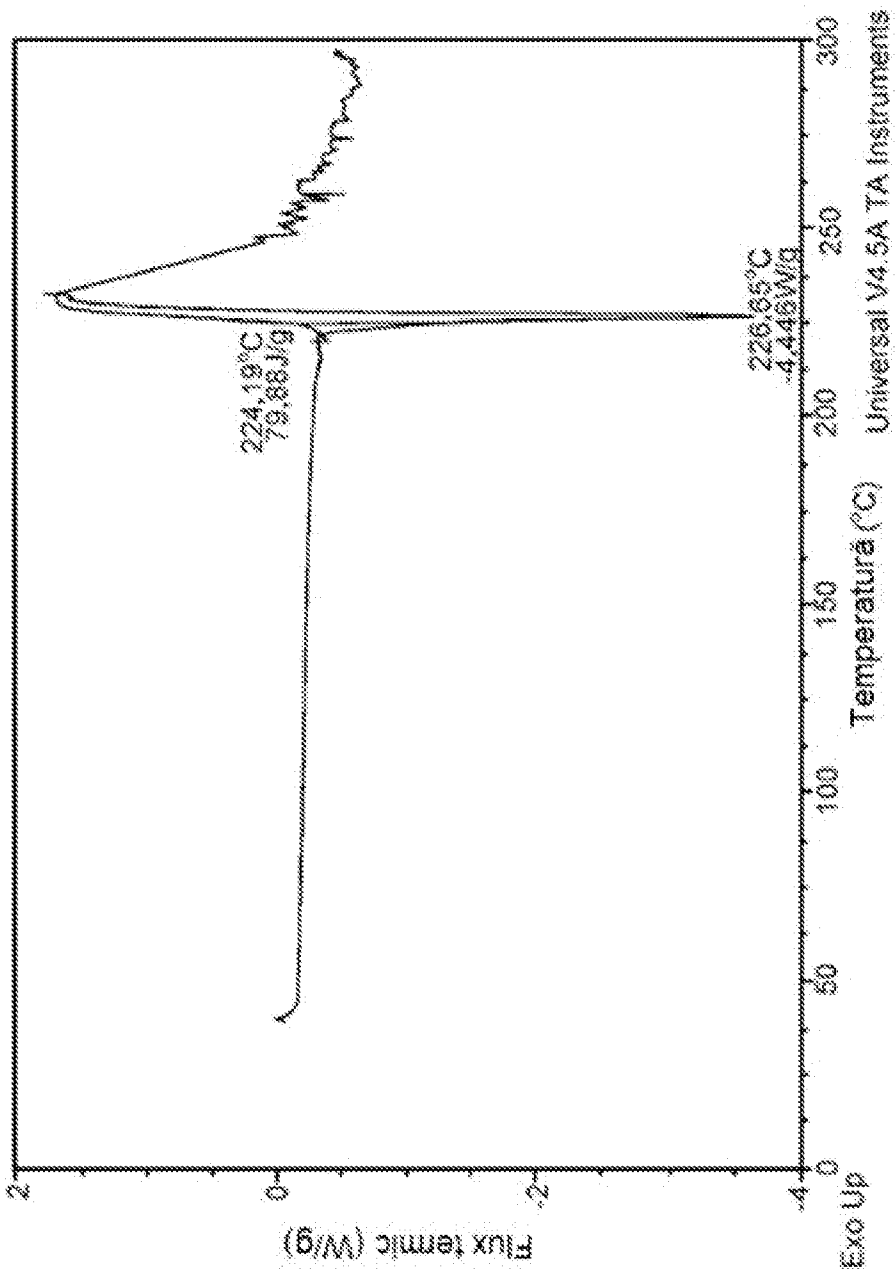


FIG. 1

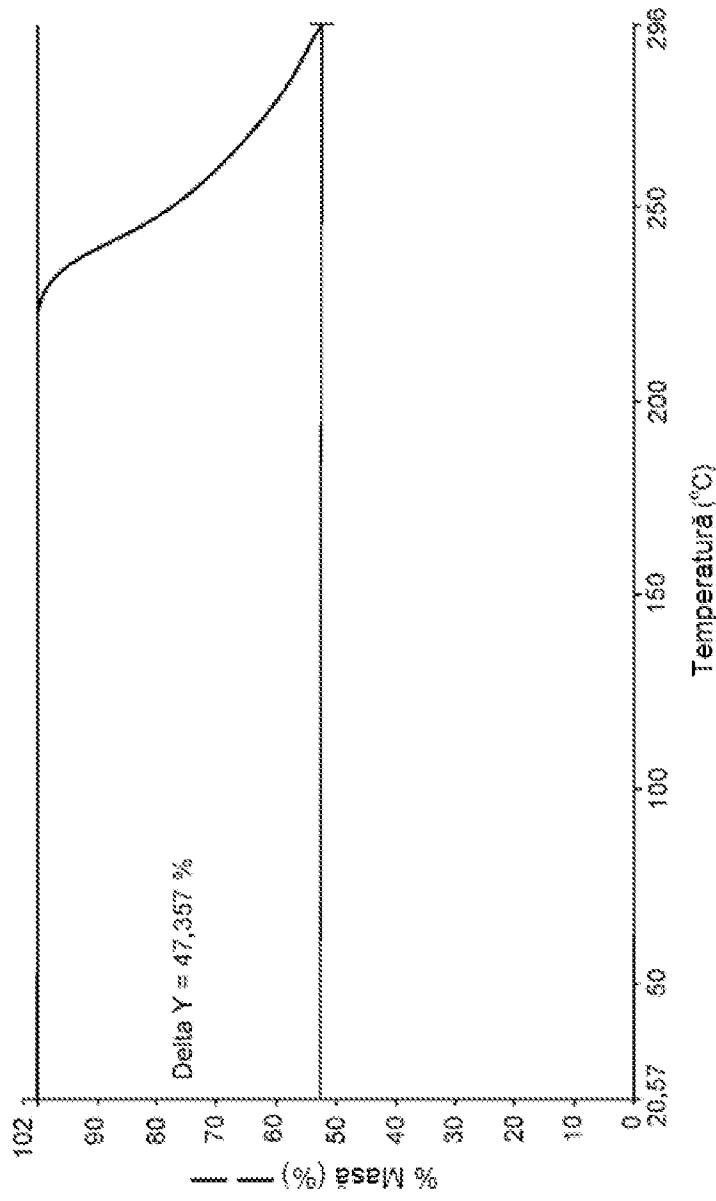


FIG. 2

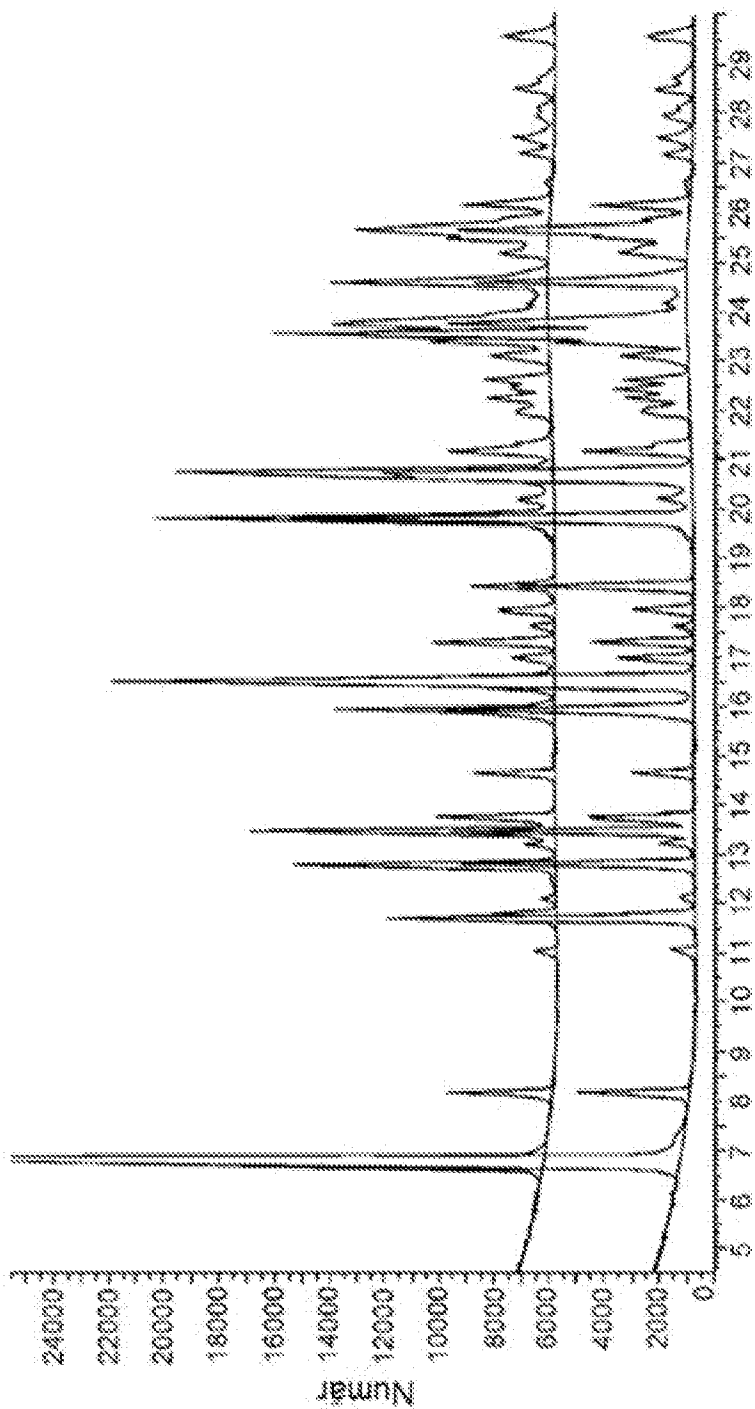


FIG. 3