



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **113208** (13) **C2**  
(51) МПК (2016.01)

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

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

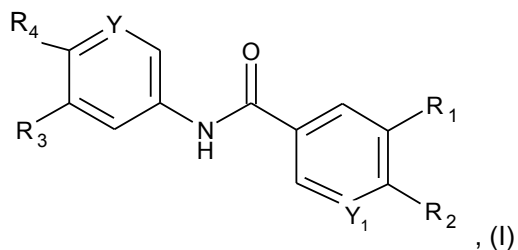
<p>(21) Номер заявки: <b>а 2014 12051</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>09.05.2013</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>26.12.2016</b></p> <p>(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>61/647,174, 61/790,967</b></p> <p>(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: <b>15.05.2012, 15.03.2013</b></p> <p>(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: <b>US, US</b></p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: <b>26.01.2015, Бюл.№ 2</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>26.12.2016, Бюл.№ 24</b></p> <p>(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ <b>РСТ/ІВ2013/053768, 09.05.2013</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Додд Стефані Кей (US/US), Фуре Паскаль (FR/CH), Гротцфельд Роберт Мартін (DE/CH), Янке Вольфганг (DE/CH), Джонс Дерріл Брінлі (GB/CH), Менлі Пол (GB/CH), Марцінцік Андреас (DE/CH), Пелле Ксав'є Франсуа Андре (FR/CH), Салем Баха (FR/CH), Шопфер Йозеф (CH/CH)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>НОВАРТІС АГ, Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel, Switzerland (CH)</b></p> <p>(74) Представник: <b>Ошарова Ірина Олександрівна, реєстр. №9</b></p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: <b>WO 2004/005281 A1, 15.01.2004 ECK M J ET AL, "The interplay of structural information and functional studies in kinase drug design: insights from BCR-Abl", CURRENT OPINION IN CELL BIOLOGY, CURRENT SCIENCE, LONDON, GB, vol. 21, no. 2, PAGE 288 - 295 YUPENG LI ET AL, "Design, Synthesis, and Biological Evaluation of 3-(1 H -1,2,3-Triazol-1-yl)benzamide Derivatives as Potent Pan Bcr-Abl Inhibitors Including the Threonine 315 -&gt;Isoleucine 315 Mutant", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, (2012-11-26), vol. 55, no. 22, PAGE 10033 - 10046</b></p>
--	--

## (54) ПОХІДНІ БЕНЗАМІДУ ДЛЯ ІНГІБУВАННЯ АКТИВНОСТІ ABL1, ABL2 ТА BCR-ABL1

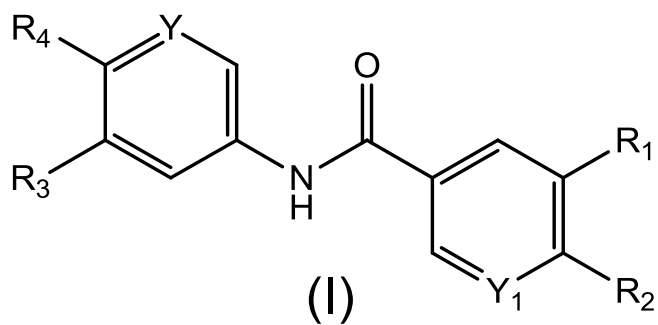
### (57) Реферат:

Даний винахід належить до сполук формули (I):

UA 113208 C2



де Y, Y<sub>1</sub>, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> та R<sub>4</sub> визначені у описі винаходу; здатних до інгібування активності BCR-ABL1 та його мутантів. Винахід також забезпечує спосіб одержання сполук відповідно до даного винаходу, фармацевтичні композиції, що містять такі сполуки, та способи застосування таких сполук при лікуванні раку.



## ПЕРЕХРЕСНІ ПОСИЛАННЯ НА СПОРІДНЕНІ ЗАЯВКИ

Дана заявка заявляє пріоритет до попередньої заявки США № 61/647174, поданої 15 травня 2012 року, та попередньої заявки США № 61/790967, поданої 15 березня 2013 року, кожна з яких включена у дану заявку як посилання у повному обсязі.

## 5 ГАЛУЗЬ ТЕХНІКИ, ДО ЯКОЇ ВІДНОСИТЬСЯ ВІНАХІД

Даний винахід відноситься до сполук, здатних до інгібування тирозинкіназної ферментативної активності білку Абельсона (ABL1), Абельсон-спорідненого білку (ABL2) та споріднених химерних білків, зокрема, BCR-ABL1. Винахід також забезпечує спосіб одержання сполук відповідно до даного винаходу, фармацевтичних препаратів, що містять такі сполуки, та

10 способи застосування таких сполук при лікуванні раку.

## ПЕРЕДУМОВИ СТВОРЕННЯ ВІНАХОДУ

Тирозинкіназна активність ABL1 білку звичайно жорстко регулюється N-кінцевою кепіруючою областю SH3 домену, що грає важливу роль. Один регуляторний механізм включає міристоїлювання гліцин-2 залишку на N-кінцевому кеп-сайті та потім взаємодію з міристано-зв'язуючим сайтом у SH1 каталітичному домені. Відмітною ознакою хронічного мієлогенного лейкозу (CML) є хромосома Philadelphia (Ph), утворена у результаті t(9,22) реципрокальної хромосомної транслокації у гематопоетичній стовбуровій клітині. Ця хромосома несе BCR-ABL1 онкоген, який кодує химерний BCR-ABL1 білок, який не містить N-кінцевий кеп та містить конститутивно активний тирозинкіназний домен.

20 Хоча лікарські засоби, які інгібують тирозинкіназну активність BCR-ABL1 через ATP-конкурентний механізм, такі як Gleevec®/Glivec® (імаїніб), Tasigna® (нілотиніб) та Sprycel® (дасатиніб), є ефективними для лікування CML, у деяких пацієнтів виникає рецидив через виникнення лікарсько-резистентних клонів, у яких мутації у SH1 домені заважають зв'язуванню з інгібітором. Хоча Tasigna® та Sprycel® зберігають ефективність у відношенні багатьох Gleevec-резистентних мутантних форм BCR-ABL1, мутація, у якій треонін-315 залишок замінений ізотейчином (T315I), залишається нечутливою до всіх трьох лікарських засобів та може привести до розвитку резистентності до терапії у CML пацієнтів. Тому інгібування BCR-ABL1 мутацій, таких як T315I, залишається незадоволеною медичною потребою. Окрім CML, BCR-ABL1 гібридні білки є причиною, що викликає певний відсоток гострих лімфоцитарних лейкозів, та лікарські засоби, прицільно діючі на ABL кіназну активність, також є корисними для цього показання.

Засоби, що прицільно діють на міристоїл-зв'язуючий сайт (так звані алостеричні інгібітори), мають потенціал для лікування BCR-ABL1 розладів (J. Zhang, F. J. Adrian, W. Jahnke, S. W. Cowan-Jacob, A. G. Li, R. E. Jacob, T. Sim, J. Powers, C. Dierks, F. Sun, G.-R. Guo, Q. Ding, B. Okram, Y. Choi, A. Wojciechowski, X. Deng, G. Liu, G. Fendrich, A. Strauss, N. Vajpai, S. Grzesiek, T. Tuntland, Y. Liu, B. Bursulaya, M. Azam, P. W. Manley, J. R. Engen, G. Q. Daley, M. Warmuth., N.S. Gray. Targeting BCR-ABL by combining allosteric with ATP-binding-site inhibitors. Nature 2010; 463:501-6). Для попередження виникнення лікарської резистентності результаті використання ATP інгібітору та/або алостеричного інгібітору може бути розроблене комбіноване лікування з використанням обох типів інгібітору для лікування BCR-ABL1-зв'язаних розладів. Зокрема, існує потреба у невеликих молекулах або їх комбінаціях, які інгібують активність BCR-ABL1 та BCR-ABL1-мутації через ATP зв'язуючий сайт, міристоїл-зв'язуючий сайт або комбінацію обох сайтів.

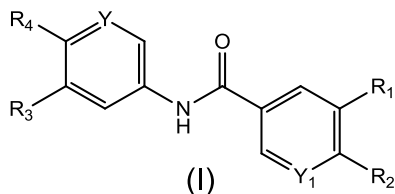
Крім того, сполуки відповідно до даного винаходу як інгібітори ABL1 кіназної активності мають потенціал для використання як терапевтичні засоби для лікування метастатичних інвазивних карцином та вірусних інфекцій, таких як покс-вірус та вірус Ебола.

45 Сполуки відповідно до даного винаходу також мають потенціал для лікування або профілактики захворювань або розладів, асоційованих з аномально активованою кіназною активністю ABL1 дикого типу, включаючи незлоякісні захворювання або розлади, такі як захворювання ЦНС, зокрема, нейродегенеративні захворювання (наприклад, хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона), захворювання рухових нейронів (аміотрофічний бічний склероз), м'язові дистрофії, аутоімунні та запальні захворювання (діабет та фіброз легенів), вірусні інфекції, пріонові захворювання.

## КОРОТКИЙ ОПИС ВІНАХОДУ

У одному аспекті даний винахід забезпечує сполуки формули (I):

55



де:

$R_1$  являє собою піразоліл; де зазначений піразоліл є незаміщеним або заміщений 1-2 групами  $R_6$ ;

$R_2$  являє собою піролідиніл; де зазначений піролідиніл заміщений однією групою  $R_7$ ;

$R_3$  вибирають з водню та галогену;

$R_4$  вибирають з  $-SF_5$  та  $-Y_2-CF_2-Y_3$ ;

$R_6$  у кожному випадку незалежно вибирають з водню, гідрокси групи, метилу, метокси групи, ціано групи, трифторметилу, гідроксиметилу, галогену, аміно групи, фторетилу, етилу та циклопропілу;

$R_7$  вибирають з гідрокси групи, метилу, галогену, метокси групи, гідроксиметилу, аміно групи, метил-аміно групи, аміно-метилу, трифторметилу, 2-гідроксипропан-2-ілу, метил-карбоніл-аміно групи, диметил-аміно групи, 2-аміно-3-метилбутаноїл)окси групи, карбокси групи, метоксикарбонілу, фосфоноокси групи, ціано групи та амінокарбонілу;

$Y$  вибирають з CH та N;

$Y_1$  вибирають з CH та N;

$Y_2$  вибирають з  $CF_2$ , O та  $S(O)_{0-2}$ ; та

$Y_3$  вибирають з водню, хлору, фтору, метилу, дифторметилу та трифторметилу.

У другому аспекті даний винахід забезпечує фармацевтичну композицію, яка містить сполуку формули (I) або її N-оксидну похідну, індивідуальні ізомери та суміш ізомерів, або її фармацевтично прийнятну сіль у суміші з одним або декількома підходящими ексципієнтами.

У третьому аспекті даний винахід забезпечує спосіб лікування захворювання у тварини, де модуляція BCR-ABL1 активності може попереджати, інгібувати або полегшувати патологію та/або симптоматологію захворювань, при цьому спосіб включає введення тварині терапевтично ефективної кількості сполуки формули (I) або її N-оксидної похідної, індивідуальних ізомерів та суміші ізомерів, або її фармацевтично прийнятної солі.

У четвертому аспекті даний винахід забезпечує застосування сполуки формули (I) для одержання лікарського засобу для лікування захворювання у тварини, у якому BCR-ABL1 активність сприяє патології та/або симптоматології захворювання.

У п'ятому аспекті даний винахід забезпечує сполуку формули I для застосування у терапії для тварини, у якому BCR-ABL1 активність сприяє патології та/або симптоматології захворювання.

У шостому аспекті даний винахід забезпечує спосіб одержання сполук формули (I) та їх N-оксидних похідних, пролікарських похідних, захищених похідних, індивідуальних ізомерів та суміші ізомерів та їх фармацевтично прийнятних солей.

#### КОРОТКИЙ ОПИС КРЕСЛЕНЬ

Фіг.1: порошкова рентгенівська дифрактограма (з використанням мідного джерела (лямбда = 1,54Å) для вимірювання) для аморфної твердодисперсної композиції прикладу 9 (див. приклад 41), з 25 % навантаженням сполуки прикладу 9 з PVP VA64 (37,5 %) та Pharmacoat 603 (37,5 %).

Фіг.2: тварини з підшкірними KCL-22 ксенотрансплантатами, які отримували щоденне лікування сполукою прикладу 9. Продемонстрована дозозалежна протипухлинна активність.

Фіг.3: KCL-22 клітини вирощували як підшкірні ксенотрансплантати, та чотири тварини отримували дозу 75 мг/кг Нілотинібу BID (два рази на день). Коли у пухлин розвивалась резистентність до лікування Нілотинібом, дозування змінювали до 30 мг/кг сполуки прикладу 9 два рази на день. Лікування нілотиніб-резистентних пухлин сполукою прикладу 9 привело до регресії пухлин. Кожна лінія представляє окрему тварину.

Фіг.4: тваринам з підшкірними KCL-22 ксенотрансплантатами вводили дозу у комбінації 30 мг/кг сполуки прикладу 9 два рази на день та 75 мг/кг Нілотинібу два рази на день. Кожна лінія представляє окрему тварину. Повну регресію пухлини спостерігали у всіх тварин та підтримували до кінця дослідження.

Визначення

Загальні терміни, використовувані вище та нижче у даній заявці, переважно мають у контексті даного розкриття наступні значення, якщо не зазначене інше, при цьому більш загальні терміни, де б вони не використовувалися, незалежно один від іншого, можуть бути замінені більш конкретними визначеннями або зберігатися, у такий спосіб визначаючи більш докладні варіанти втілення даного винаходу.

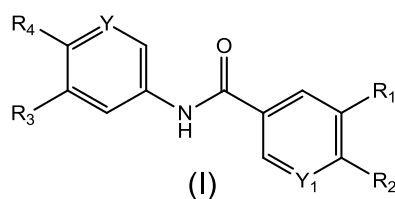
"Алкіл" відноситься до розгалужених або нерозгалужених вуглеводневих груп, що містять від 1 до 7 атомів вуглецю ( $C_{1-7}$ алкіл) або від 1 до 4 атомів вуглецю ( $C_{1-4}$ алкіл). Репрезентативні приклади алкілу включають, але не обмежуються цим, метил, етил, н-пропіл, ізо-пропіл, н-бутил, втор-бутил, ізо-бутил, трет-бутил, н-пентил, ізопентил, неопентил, н-гексил, 3-метилгексил, 2,2-диметилпентил, 2,3-диметилпентил, н-гептил, н-октил, н-ноніл, н-децил та подібні. Заміщений алкіл являє собою алкільну групу, яка містить один або декілька, наприклад, один, два або три замісники, вибрані з галогену, гідрокси групи або алкоксигрупи. Галогензаміщений алкіл та галогензаміщена алкокси група може бути або лінійною, або розгалуженою та включає метокси групу, етокси групу, дифторметил, трифторметил, пентафторетил, дифторметокси групу, трифторметокси групу та подібні.

"Арил" означає моноциклічну або конденсовану біциклічну ароматичну кільцеву структуру, що містить від шести до десяти кільцевих атомів вуглецю. Наприклад, арил може являти собою феніл або нафтил, переважно феніл. "Арилен" означає двовалентний радикал, утворений з арильної групи.

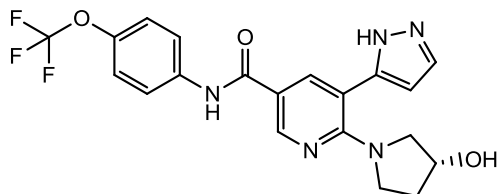
"BCR-ABL1" відноситься до гібридного білку, утвореного з N-кінцевих екзонів гену, що включає область з кластером точкових розривів (BCR), та основної C-кінцевої частини (екзони 2-11) Abelson (ABL1) гену. Найбільш розповсюджені гібридні транскрипти кодують 210-кДа білок (p210BCR-ABL1), хоча більш рідкі транскрипти кодують 190-кДа білок (p190BCR-ABL1) та 230-кДа білок (p230BCR-ABL1). ABL1 послідовності цих білків містять ABL1 тирозинкіназний домен, який є жорстко регульованим у білку дикого типу, але конститутивно активованим у BCR-ABL1 гібридних білках. Ця тирозинкіназа з порушеною регуляцією взаємодіє з декількома клітинними сигнальними путями, приводячи до трансформації та порушеній регуляції проліферації клітин.

"BCR-ABL1 мутанти" відносяться до численних моносайтових мутацій у BCR-ABL1, що включають: Glu255→Лізин, Glu255→Валін, Thr315→Ізолейцин, Met244→Val, Phe317→Leu, Leu248→Val, Met343→Thr, Gly250→Ala, Met351→Thr, Gly250→Glu, Glu355→Gly, Gln252→His, Phe358→Ala, Gln252→Arg, Phe359→Val, Tyr253→His, Val379→Ile, Tyr253→Phe, Phe382→Leu, Glu255→Lys, Leu387→Met, Glu255→Val, His396→Pro, Phe311→Ile, His396→Arg, Phe311→Leu, Ser417→Tyr, Thr315→Ile, Glu459→Lys та Phe486→Ser.

Сполуки відповідно до даного винаходу є чутливими до заміщення на  $R_3/R_4$  заміщеному кільці у положенні, яке є орто відносно точки приєднання  $NHC(O)$  групи. Для порівняння представлені, наприклад, наступні сполуки формули (I). Значення  $IC_{50}$  прикладу 2 становить 1 нМ у порівнянні з хлор- або метилзаміщенням, де значення  $IC_{50}$  становить 1,6 та 1,8 мкМ, відповідно:



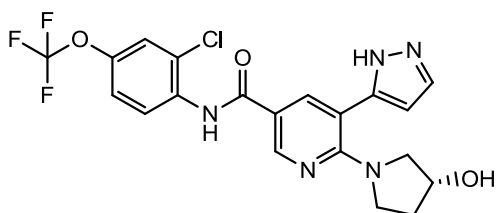
Сполука формули (I)



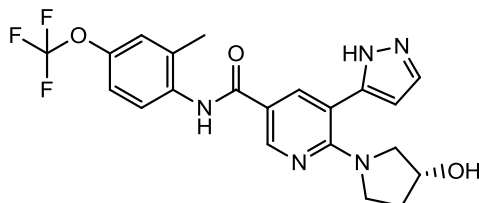
Приклад 2

Caliper ABL1  
(64-515)  
 $IC_{50}$  [мкМ]

0,001



1,6



1,8

"Гетероарил" має значення, визначене для арилу вище, де один або декілька з кільцевих членів являє собою гетероатом. Наприклад, 5-8-членний гетероарил містить мінімум 5 членів кільця, вибраних з вуглецю, азоту, кисню та сірки. Отже, 5-8-членний гетероарил включає

5

бензо[1,3]діоксол, імідазоліл, бензоімідазоліл, піримідиніл, фураніл, оксазоліл, ізоксазоліл, триазоліл, тетразоліл, піразоліл, тієніл та т. д.

"Циклоалкіл" означає насичену, моноциклічну, біциклічну або зв'язану містковим зв'язком поліциклічну кільцеву структуру, що містить зазначену кількість кільцевих атомів. Наприклад,

10

$C_{3-10}$ циклоалкіл включає циклопропіл, циклобутил, циклопентил, циклогексил та т. д. Частково ненасичений циклоалкіл означає циклоалкіл, як визначено вище, з щонайменше одним подвійним зв'язком.

"Гетероциклоалкіл" означає циклоалкіл, як він визначений у даній заявці, за умови, що один або декілька із зазначених кільцевих атомів вуглецю заміщені групою, вибраною з -O-, -N=,

15

-NR-, -C(O)-, -S-, -S(O) - або -S(O)<sub>2</sub>-, де R являє собою водень,  $C_{1-4}$ алкіл або азот-захисну групу (наприклад, карбобензилокси групу, пара-метоксибензилкарбоніл, трет-бутилоксикарбоніл, ацетил, бензоїл, бензил, пара-метокси-бензил, пара-метокси-феніл, 3,4-диметоксибензил та подібні). Наприклад, 3-8-членний гетероциклоалкіл включає морфоліно, піролідиніл, піролідиніл-

20

2-он, піперазиніл, піперидиніл, піперидиніллон, 1,4-діокса-8-аза-спіро[4,5]дец-8-ил, тіоморфоліно, сульфаноморфоліно, сульфономорфоліно тощо.

"Галоген" (або гало) переважно являє собою хлор або фтор, але також може бути бромом або йодом.

GLEEVEC® (іматиніб мезилати) показаний для лікування пацієнтів з KIT (CD117)-позитивними неоперабельними та/або метастатичними злоякісними гастроінтестинальними стромальними пухлинами (GIST). Він також показаний для лікування дорослих пацієнтів після повної макроскопічної резекції KIT (CD117)-позитивних GIST. Він також показаний для лікування вперше діагностованих дорослих пацієнтів та пацієнтів дитячого віку з філадельфійська хромосома-позитивним хронічним мієлоцитарним лейкозом з (Ph+CML) у хронічній фазі та пацієнтів з Ph+CML у бластному кризі (BC), фазі акселерації (AP) або у хронічній фазі (CP) після невдачі застосування інтерферон-альфа терапії. Він може також бути використаний як

25

30

35

40

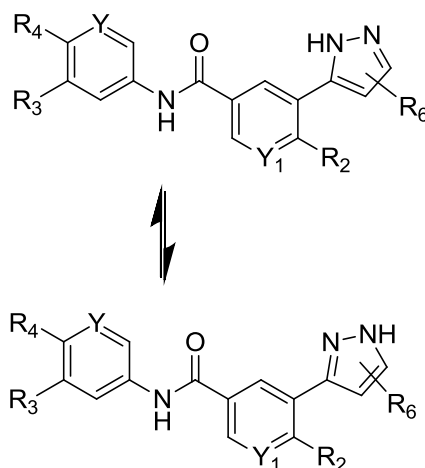
TASIGNA® (нілотиніб) показаний для лікування дорослих пацієнтів з вперше діагностованим філадельфійська хромосома-позитивним хронічним мієлоцитарним лейкозом (Ph+CML) у

хронічній фазі. Він може бути використаний для лікування дорослих пацієнтів, які більше не отримують позитивного результату або не переносять інші терапії, включаючи іматиніб (GLEEVEC®), або отримували інші терапії, включаючи іматиніб (GLEEVEC), але не можуть переносити їх.

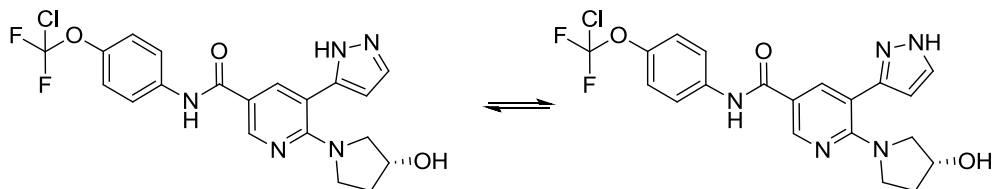
5 SPRYCEL® (дазатиніб) являє собою рецептурний лікарський засіб для лікування дорослих пацієнтів з вперше діагностованим філадельфійська хромосома-позитивним (Ph+) хронічним мієлоцитарним лейкозом (CML) у хронічній фазі та для лікування дорослих пацієнтів, які більше не отримують позитивного результату або не переносять інші терапії, а також для пацієнтів з ALL.

10 BOSULIF® (Босутиніб) являє собою рецептурний лікарський засіб для лікування дорослих пацієнтів з вперше діагностованим філадельфійська хромосома-позитивним (Ph+) хронічним мієлоцитарним лейкозом (CML) у хронічній фазі та для лікування дорослих пацієнтів, які більше не отримують позитивного результату або не переносять інші терапії, а також для пацієнтів з ALL.

15 Сполуки формули (I) можуть мати різні ізомерні форми. Наприклад, будь-який асиметричний атом вуглецю може бути присутній у (R)-, (S)- або (R, S)-конфігурації, переважно у (R)- або (S)-конфігурації. Замісники на подвійному зв'язку або особливо на кільці можуть бути присутніми у цис- (=Z-) або транс- (=E-) формі. Сполуки, таким чином, можуть бути присутніми у вигляді сумішей ізомерів або переважно у вигляді чистих ізомерів, переважно у вигляді чистих діастереомерів або чистих енантіомерів. Наступні сполуки формули (I) можуть існувати у таутомерній формі:



25 Для ілюстрації таутомерії з наступними конкретними прикладами (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід (права структура, нижче) являє собою таутомер (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-3-іл)нікотинаміда (ліва структура, нижче), та навпаки:



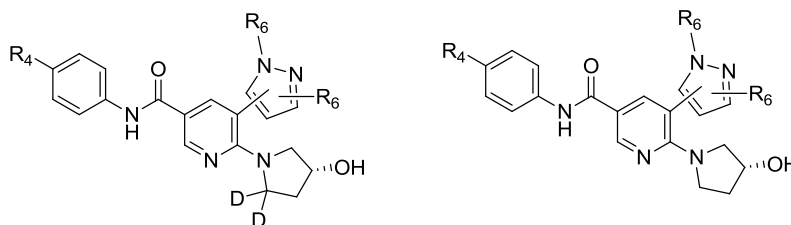
30 Коли використовується форма множини (наприклад, сполуки, солі), вона включає і однину (наприклад, одна сполука, одна сіль). "Сполука" не виключає, що присутня (наприклад, у фармацевтичній композиції) більше ніж одна сполука формули (I) (або її сіль). Форму однини, таким чином, переважно слід розуміти як "один або декілька", менш переважно, альтернативно, як "один".

Термін "та/або її N-оксид, її таутомер та/або її (переважно фармацевтично прийнятна) сіль", головним чином, означає, що сполука формули (I) може бути присутня як така або у суміші з її N-оксидом, у вигляді таутомеру (наприклад, у результаті кето-енольної, лактам-лактимної, амід-імідокислотної або енамін-імінової таутомерії), або у вигляді (наприклад, викликаною еквівалентною реакцією) суміші з її таутомером, або у вигляді солі сполуки формули (I) та/або будь-якої з цих форм або сумішей двох або більше таких форм.

Будь-які формули, представлені у даній заявці, призначені також для представлення немічених форм, а також ізотопномічених форм сполук. Ізотопномічені сполуки мають структури, відображені формулами, приведеними у даній заявці, за виключенням того, що один або декілька атомів замінені атомом, що має вибрану атомну масу або масове число. Приклади ізотопів, які можуть бути включені у сполуки відповідно до даного винаходу, включають ізотопи водню, вуглецю, азоту, кисню, фосфору, фтору та хлору, такі як  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{36}\text{S}$ ,  $^{123}\text{I}$ ,  $^{124}\text{I}$ ,  $^{125}\text{I}$ , відповідно. Винахід включає різні ізотопномічені сполуки, як визначено у даній заявці, наприклад, ті, у яких радіоактивні ізотопи, такі як  $^3\text{H}$  та  $^{14}\text{C}$ , або ті, у яких присутні нерадіоактивні ізотопи, такі як  $^2\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$ . Такі ізотопномічені сполуки корисні у метаболічних дослідженнях (з  $^{14}\text{C}$ ), у дослідженнях кінетики реакцій (наприклад, з  $^2\text{H}$  або  $^3\text{H}$ ), методах детекції або візуалізації, таких як позитронно-емісійна томографія (PET) або однофотонна емісійна комп'ютерна томографія (SPECT), включаючи аналізи розподілу лікарських засобів або тканин субстрату або у радіоактивній терапії пацієнтів. Зокрема,  $^{18}\text{F}$  або мічена сполука можуть бути особливо бажаними для PET або SPECT досліджень. Ізотопномічені сполуки відповідно до даного винаходу, як правило, можуть бути отримані за звичайними способами, відомими спеціалістам у даній галузі техніки, або за способами, аналогічними тим, які описані у Прикладах, що додаються, з використанням підходящих ізотопномічених реагентів.

Крім того, заміщення більш важкими ізотопами, особливо дейтерієм (тобто  $^2\text{H}$  або D), може давати певні терапевтичні переваги у результаті більш високої метаболічної стабільності, наприклад, більший період напівжиття *in vivo* або зниження рівня необхідних доз або покращення терапевтичного індексу. Зрозуміло, що дейтерій у цьому контексті розглядається як замісник сполуки відповідно до даного винаходу. Концентрація такого важкого ізотопу, особливо дейтерію, може бути визначена за допомогою ізотопного коефіцієнту збагачення. Термін "ізотопний коефіцієнт збагачення", використовуваний у даній заявці, означає співвідношення між розповсюдженістю ізотопу та природною розповсюдженістю конкретного ізотопу. Якщо замісник у сполуці відповідно до даного винаходу позначений як дейтерій, така сполука має ізотопний коефіцієнт збагачення для кожного зазначеного атому дейтерію щонайменше 3500 (52,5 % включення дейтерію у кожному певному атомі дейтерію), щонайменше 4000 (60 % включення дейтерію), щонайменше 4500 (67,5 % включення дейтерію), щонайменше 5000 (75 % включення дейтерію), щонайменше 5500 (82,5 % включення дейтерію), щонайменше 6000 (90 % включення дейтерію), щонайменше 6333,3 (95 % включення дейтерію), щонайменше 6466,7 (97 % включення дейтерію), щонайменше 6600 (99 % включення дейтерію) або щонайменше 6633,3 (99,5 % включення дейтерію).

Наприклад, сполука формули Ib, представлена у даній заявці, де  $\text{R}_3$  являє собою водень та Y являє собою CH, може включати дейтерій на піролідинільному кільці, як показано:



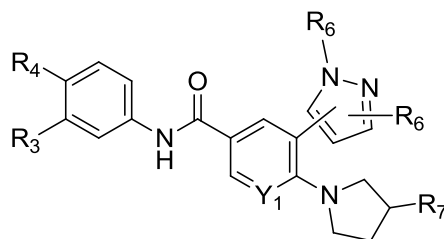
Ця дейтерована форма менш схильна до метаболічної трансформації (зліва вище) у порівнянні з недейтерованою формою (справа вище).

Опис кращих варіантів втілення

Даний винахід відноситься до сполук, здатних до інгібування активності BCR-ABL1 або мутантів BCR-ABL1 через алостеричний міристоїл-зв'язуючий сайт.

У одному варіанті втілення, що відноситься до сполук відповідно до даного винаходу, представлені сполуки формули (Ib):

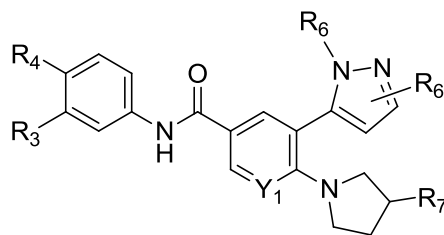




(Ib)

де:  $R_3$  вибирають з водню та галогену;  $R_4$  вибирають з  $-SF_5$  та  $-Y_2-CF_2-Y_3$ ;  $R_6$ , коли зв'язаний з азотом піразолільного кільця, вибирають з водню, метилу, гідроксиетилу, фторетилу, етилу та циклопропілу; та  $R_6$ , коли зв'язаний з атомом вуглецю піразолільного кільця, вибирають з водню, гідрокси групи, метилу, метокси групи, ціано групи, трифторметилу, гідроксиметилу, галогену, аміно групи, фторетилу, етилу та циклопропілу;  $R_7$  вибирають з гідрокси групи, метилу, галогену, метокси групи, гідроксиметилу, аміно групи, метил-аміно групи, аміно-метилу, трифторметилу, 2-гідроксипропан-2-ілу, метил-карбоніл-аміно групи, диметил-аміно групи, 2-аміно-3-метилбутаноїл)окси групи, карбокси групи, метоксикарбонілу, фосфоноокси групи, ціано групи та амінокарбонілу;  $Y_1$  вибирають з CH та N;  $Y_2$  вибирають з  $CF_2$ , O та  $S(O)_{0-2}$ ;  $Y_3$  вибирають з водню, фтору, хлору, метилу, дифторметилу та трифторметилу; або їх фармацевтично прийнятні солі.

У наступному варіанті втілення представлені сполуки формули (Ic):



(Ic)

де:  $R_3$  вибирають з водню та галогену;  $R_4$  вибирають з  $-SF_5$  та  $-Y_2-CF_2-Y_3$ ;  $R_6$ , коли зв'язаний з азотом піразолільного кільця, вибирають з водню, метилу, гідроксиетилу, фторетилу, етилу та циклопропілу; та  $R_6$ , коли зв'язаний з атомом вуглецю піразолільного кільця, вибирають з водню, гідрокси групи, метилу, метокси групи, ціано групи, трифторметилу, гідроксиметилу, галогену, аміно групи, фторетилу, етилу та циклопропілу;  $R_7$  вибирають з гідрокси групи, метилу, галогену, метокси групи, гідроксиметилу, аміно групи, метил-аміно групи, аміно-метилу, трифторметилу, 2-гідроксипропан-2-ілу, метил-карбоніл-аміно групи, диметил-аміно групи, 2-аміно-3-метилбутаноїл)окси групи, карбокси групи, метоксикарбонілу, фосфоноокси групи, ціано групи та амінокарбонілу;  $Y_1$  вибирають з CH та N;  $Y_2$  вибирають з  $CF_2$ , O та  $S(O)_{0-2}$ ;  $Y_3$  вибирають з водню, фтору, хлору, метилу, дифторметилу та трифторметилу; або їх фармацевтично прийнятні солі.

У іншому варіанті втілення представлені сполуки формули (I) або їх фармацевтично прийнятні солі, де  $R_1$  являє собою піразоліл; де зазначений піразоліл є незаміщеним або заміщений від 1 до 2 груп  $R_6$ .

У наступному варіанті втілення  $R_1$  являє собою незаміщений піразоліл.

У наступному варіанті втілення  $R_1$  являє собою піразоліл, заміщений однією групою  $R_6$ .

У наступному варіанті втілення  $R_1$  являє собою піразоліл, заміщений двома групами  $R_6$ .

У іншому варіанті втілення  $R_2$  являє собою піролідин-1-іл, заміщений однією групою  $R_7$ .

У іншому варіанті втілення  $Y$  вибирають з CH та N.

У наступному варіанті втілення  $Y$  являє собою N.

У наступному варіанті втілення  $Y$  являє собою CH.

У іншому варіанті втілення  $Y_1$  вибирають з CH та N.

У наступному варіанті втілення  $Y_1$  являє собою N.

У наступному варіанті втілення  $Y_1$  являє собою  $CH$ .

Наступні додаткові варіанти відносяться до сполук будь-якої однієї з формул (I), (Ib) або (Ic) або їх фармацевтично прийнятних солей.

У іншому варіанті втілення  $R_3$  вибирають з водню та галогену.

5 У іншому варіанті втілення  $R_4$  вибирають з  $-SF_5$  та  $-Y_2-CF_2-Y_3$ .

У наступному варіанті втілення  $R_4$  являє собою хлордифторметокси групу.

У наступному варіанті втілення  $R_4$  являє собою трифторметокси групу.

10 У іншому варіанті втілення  $R_6$  у кожному випадку незалежно вибирають з водню, гідрокси групи, метилу, метокси групи, ціано групи, трифторметилу, гідроксиметилу, галогену, аміно групи, фторетилу, етилу та циклопропілу.

У наступному варіанті втілення  $R_6$ , коли зв'язаний з азотом піразолільного кільця, вибирають з водню, метилу, гідроксиетилу, фторетилу, етилу та циклопропілу.

15 У наступному варіанті втілення  $R_6$ , коли зв'язаний з атомом вуглецю піразолільного кільця, вибирають з водню, гідрокси групи, метилу, метокси групи, ціано групи, трифторметилу, гідроксиметилу, галогену, аміно групи, фторетилу, етилу та циклопропілу.

20 У іншому варіанті втілення  $R_7$  вибирають з гідрокси групи, метилу, галогену, метокси групи, гідроксиметилу, аміно групи, метил-аміно групи, аміно-метилу, трифторметилу, 2-гідроксипропан-2-ілу, метил-карбоніл-аміно групи, диметил-аміно групи, 2-аміно-3-метилбутаноїл)окси групи, карбокси групи, метоксикарбонілу, фосфоноокси групи, ціано групи та амінокарбонілу.

У іншому варіанті втілення  $Y_2$  вибирають з  $CF_2$ ,  $O$  та  $S(O)_{0-2}$ .

У наступному варіанті втілення  $Y_2$  являє собою  $O$ .

У наступному варіанті втілення  $Y_2$  являє собою  $CF_2$ .

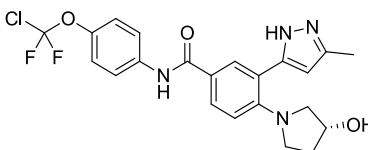
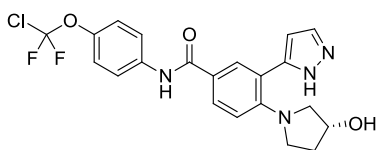
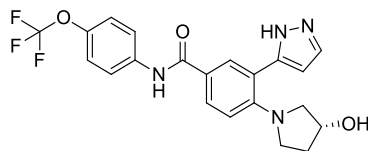
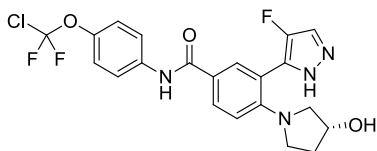
У наступному варіанті втілення  $Y_2$  являє собою  $S(O)_{0-2}$ .

25 У іншому варіанті втілення  $Y_3$  вибирають з водню, хлору, фтору, метилу, дифторметилу та трифторметилу.

У наступному варіанті втілення  $Y_3$  являє собою хлор.

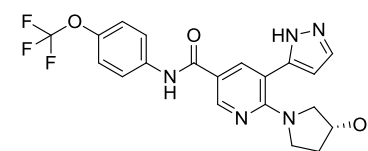
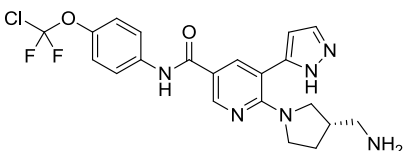
У наступному варіанті втілення  $Y_3$  являє собою фтор.

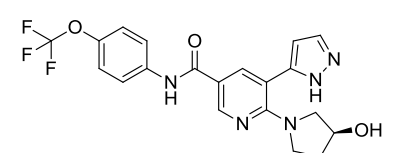
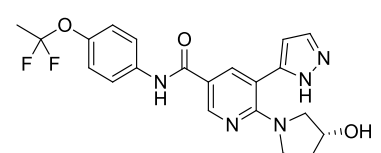
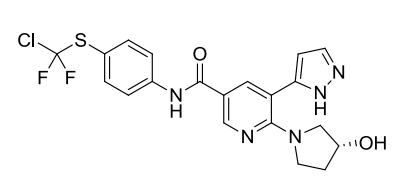
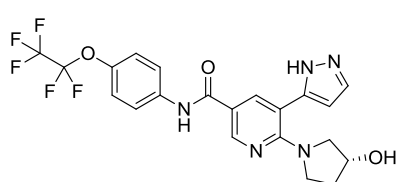
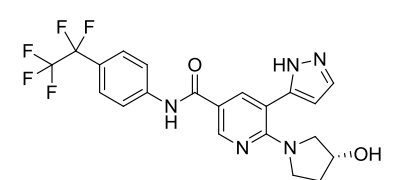
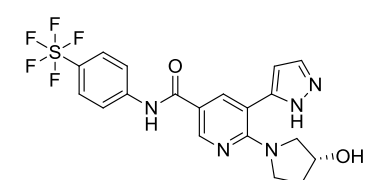
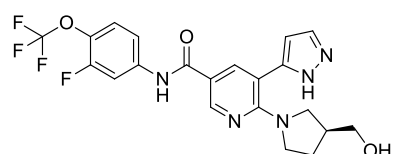
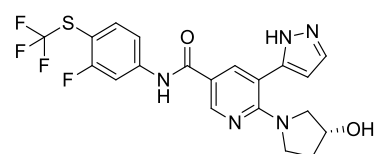
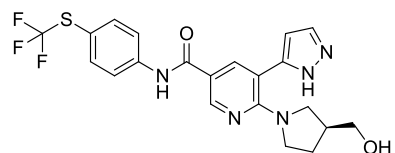
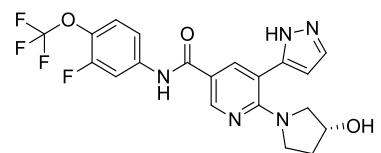
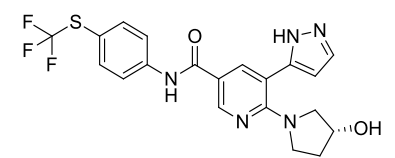
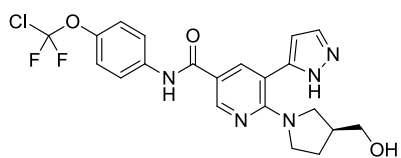
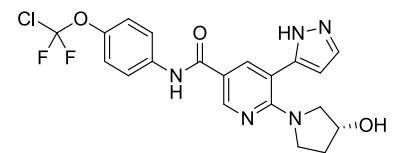
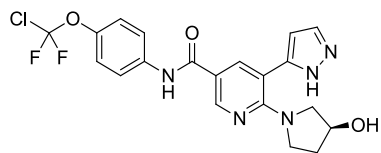
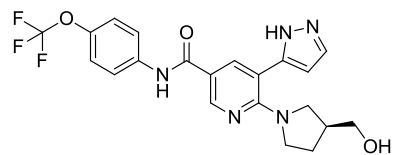
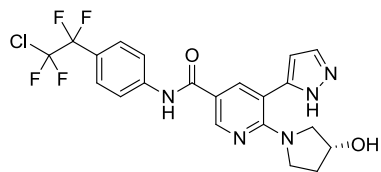
30 У наступному варіанті втілення представлені сполуки або їх фармацевтично прийнятні солі, вибрані з:

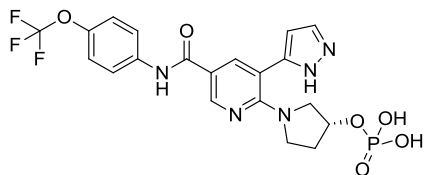
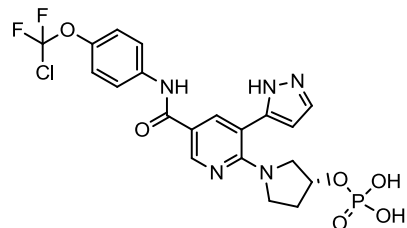
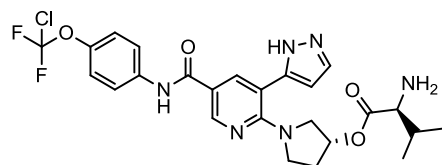
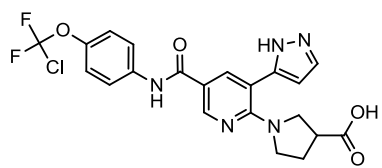
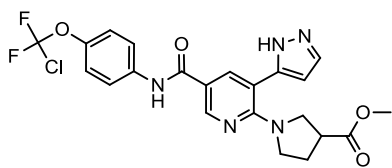


У іншому варіанті втілення представлені сполуки або їх фармацевтично прийнятні солі, вибрані з:

35

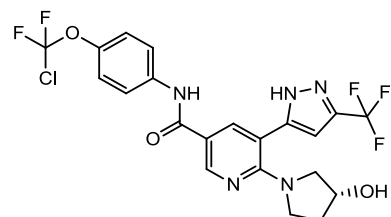
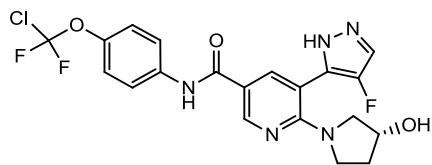
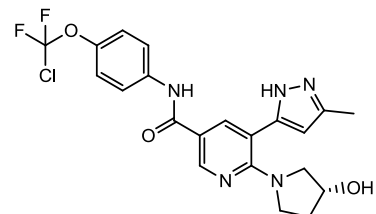
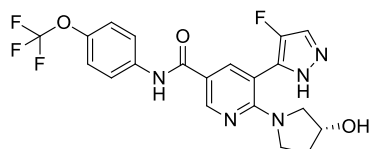
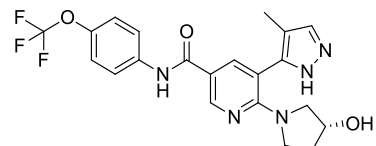
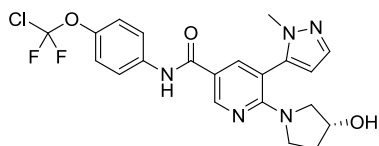
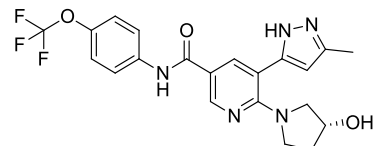
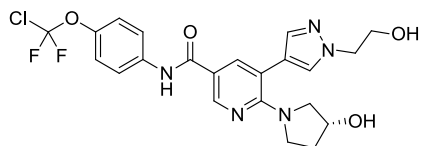


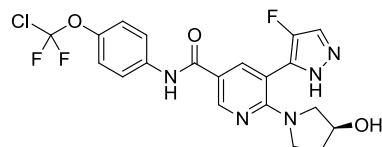
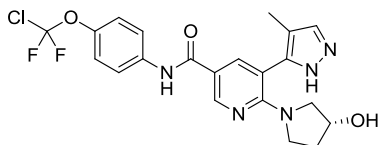
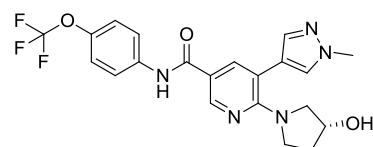
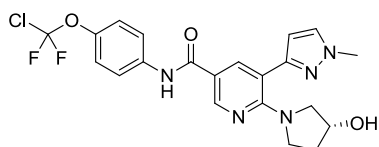




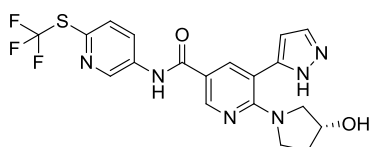
У іншому варіанті втілення представлені сполуки або їх фармацевтично прийнятні солі, вибрані з:

5



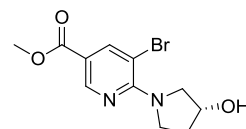
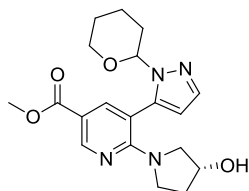
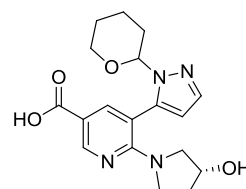
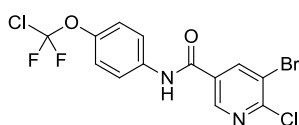
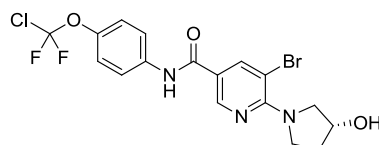
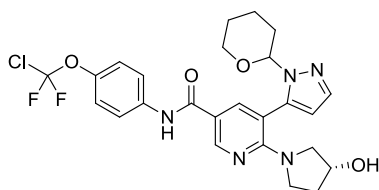


У іншому варіанті втілення представлена сполука або її фармацевтично прийнятна сіль, яка являє собою:



5

У іншому варіанті втілення представлені сполуки, вибрані з:



#### Фармакологія та корисність

10 На основі досліджень інгібування, описаних у розділі "Аналіз" нижче, сполука формули (I) у відповідності з даним винаходом демонструє терапевтичну ефективність, особливо проти розладів, залежних від BCR-ABL1 активності. Зокрема, сполуки відповідно до даного винаходу інгібують алостеричний або міристоїл-зв'язуючий сайт BCR-ABL1 (включаючи BCR-ABL1 дикого типу та/або його мутації).

15 Об'єднання ATP-конкурентного інгібітору BCR-ABL1 з алостеричним інгібітором BCR-ABL1 уповільнює набуту резистентність у BCR-ABL1+KCL-22 клітинах *in vitro*. На диво, BCR-ABL1+KCL-22 клітини, які обробляли через кожні 3-4 дні сполукою відповідно до даного

винаходу, показали набуту резистентність після приблизно 28 днів, тоді як ті ж самі клітини, які обробляли через кожні 3-4 дні нілотинібом або дасатинібом, показали набуту резистентність вже через 18-21 день. Ще більш дивно, коли BCR-ABL1+KCL-22 клітини обробляли через кожні 3-4 дні комбінацією сполуки відповідно до даного винаходу з або нілотинібом, або дасатинібом, не спостерігали ніякої набуті резистентності щонайменше протягом перших 60 днів. Тому сполуки відповідно до даного винаходу, що зв'язуються з міристоїл-зв'язуючим сайтом, у комбінації з інгібіторами BCR-ABL1, які зв'язуються із сайтом зв'язування АТР, мають особливо важливе значення для лікування проліферативних захворювань, у яких має місце позитивна регуляція ABL1 кіназної активності, як у випадку з BCR-ABL1 гібридними білками у CML та підвидах інших гематологічних злоякісних захворювань, таких як ALL та AML.

Клітини карциноми використовують invadopodia для руйнування позаклітинного матриксу у процесі інвазії та метастазування пухлини. ABL кіназна активність необхідна для SRC-індукованого утворення invadopodia, регуляції окремих стадій складання та функції invadopodia. Тому сполуки відповідно до даного винаходу, як інгібітори ABL, мають потенціал для використання як терапевтичні засоби для лікування метастатичних інвазивних карцином.

Алостеричний інгібітор ABL1 кінази можна використовувати для лікування раку головного мозку: включаючи гліобластому, яка є найпоширенішою та найбільш агресивною злоякісною первинною пухлиною головного мозку, у якій експресія ABL1 імуногістохімічно визначається у субпопуляції пацієнтів (Haberler C, Gelpi E, Marosi C, Rossler K, Birner P, Budka H, Hainfellner JA. Immunohistochemical analysis of platelet-derived growth factor receptor-alpha, -beta, c-KIT, ABL1 та ABL2 proteins in glioblastoma: possible implications for patient selection for imatinib mesylate therapy. J Neurooncol. 2006 Jan; 76(2):105-9). Однак клінічні випробування з використанням Gleevec® не були успішними у пацієнтів з гліобластою (Reardon DA, Dresemann G, Taillibert S, Campone M, van den Bent M, Clement P, Blomquist E, Gordower L, Schultz H, Raizer J, Hau P, Easaw J, Gil M, Tonn J, Gijtenbeek A, Schlegel U, Bergstrom P, Green S, Weir A, Nikolova Z. Multicentre phase II studies evaluating imatinib plus hydroxyurea in patients with progressive glioblastoma. Br J Cancer. 2009 Dec 15; 101(12):1995-2004; Razis E, Selviaridis P, Labropoulos S, Norris JL, Zhu MJ, Song DD, Kalebic T, Torrens M, Kalogera-Fountzila A, Karkavelas G, Karanastasi S, Fletcher JA, Fountzilas G. Phase II study of neoadjuvant imatinib in glioblastoma: evaluation of clinical and molecular effects of the treatment. Clin Cancer Res. 2009 Oct 1; 15(19):6258-66; Dresemann G. Imatinib and hydroxyurea in pretreated progressive glioblastoma multiforme: a patient series. Ann Oncol. 2005 Oct; 16(10):1702-8), можливо через поганий внутрішньопухлинний вплив лікарського засобу у головному мозку та за відсутності порушеного гемато-енцефалічного бар'єру (Holdhoff et al, J Neurooncol. 2010; 97(2):241-5). Дійсно, у передклінічних дослідженнях було показано, що транспорт Gleevec® через гемато-енцефалічний бар'єр обмежується активним транспортом речовин, що витікають, таких як Р-глікопротеїн. Це також відноситься і до дасатинібу (Chen Y, Agarwal S, Shaik NM, Chen C, Yang Z, Elmquist WF. P-glycoprotein and breast cancer resistance protein influence brain distribution of dasatinib. J Pharmacol Exp Ther. 2009 Sep; 330(3):956-63). Відомо, що опромінення підсилює відкриття гемато-енцефалічного бар'єру. У мишачих моделях, відповідь мультиформної гліобластоми на Gleevec® співвідносилася зі збільшенням затримки пухлинного росту та підвищенням виживання, коли Gleevec® вводили у комбінації із щоденним опроміненням (Geng L, Shinohara ET, Kim D, Tan J, Osusky K, Shyr Y, Hallahan DE. STI571 (Gleevec) improves tumor growth delay and survival in irradiated mouse models of glioblastoma. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2006 Jan 1; 64(1):263-71). Тому новий інгібітор ABL1 з високою експозицією у головному мозку являє собою серйозний терапевтичний підхід для лікування гліобластоми та інших пухлин головного мозку.

ЦНС-CML: повідомлялось про ЦНС бласткризу та несприятливий результат у деяких CML пацієнтів, яких лікували препаратом Gleevec®, та це можна пояснити низькою експозицією Gleevec® у головному мозку (Kim HJ, Jung CW, Kim K, Ahn JS, Kim WS, Park K, Ko YH, Kang WK, Park K. Isolated blast crisis in CNS in a patient with chronic myelogenous leukemia maintaining major cytogenetic response after imatinib. J Clin Oncol. 2006 Aug 20; 24(24):4028-9; Radhika N, Minakshi M, Rajesh M, Manas BR, Deepak Kumar M. Central nervous system blast crisis in chronic myeloid leukemia on imatinib mesylate therapy: report of two cases. Indian J Hematol Blood Transfus. 2011 Mar; 27(1):51-4). Дійсно, у CML пацієнтів концентрація Gleevec® насправді набагато нижче (у ~100 разів) у ЦНС, ніж у плазмі (Leis JF, Stepan DE, Curtin PT, Ford JM, Peng B, Schubach S, Druker BJ, Maziarsz RT. Central nervous system failure in patients with chronic myelogenous leukemia lymphoid blast crisis and Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia treated with imatinib (STI-571). Leuk Lymphoma. 2004 Apr; 45(4):695-8). Тому інгібітори ABL1 відповідно до даного винаходу, які демонструють високу експозицію у головному мозку, являють собою ефективний підхід для розробки терапевтичних засобів проти CML, включаючи ЦНС-CML.

Сполуки відповідно до даного винаходу можуть бути корисними у лікуванні вірусних інфекцій. Наприклад, вірусні інфекції можуть бути опосередковані ABL1 кіназою активністю, як у випадку покс-вірусів та вірусу Ебола. Було показано, що Gleevec® та Tasigna® зупиняють вивільнення частинок вірусу Ебола з інфікованих клітин, *in vitro* (Kalman, Daniel; Bornmann, William Gerard, Methods of use of non-ATP competitive tyrosine kinase inhibitors to treat pathogenic infection, PCT Int. Appl. 2007, WO 2007002441; Garcia Mayra; Cooper Arik; Shi Wei; Bornmann William; Carrion Ricardo; Kalman Daniel; Nabel Gary J. Productive Replication of Ebola Virus Is Regulated by the ABL1 Tyrosine Kinase. Science translational medicine 2012; 4:123ra24). Тому можна очікувати, що сполуки відповідно до даного винаходу, які інгібують ABL1 кіназу, будуть знижувати здатність патогену до реплікації.

Сполуки відповідно до даного винаходу також можуть бути корисними у лікуванні нервової дегенерації. Хоча нативна ABL1 тирозиназа залишається у відносному стані спокою у головному мозку здорової дорослої людини, вона може активуватися у головному мозку пацієнтів з ЦНС захворюваннями, включаючи нейродегенеративні захворювання, такі як хвороба Альцгеймера (AD), хвороба Паркінсона (AD), фронтотемпоральна деменція (FTD), хвороба Піка, хвороба Німанна-Піка С типу (NPC) та інші дегенеративні, запальні та аутоімунні захворювання та старіння.

Хвороба Паркінсона є другим найбільшим розповсюдженим хронічним нейродегенеративним захворюванням, при цьому найбільше розповсюджена спадкова аутосомально-рецесивна форма викликана мутаціями у E3 убіхітинлігазі, parkin. Останні дослідження показали, що активований ABL1/ABL2 був виявлений у смугастому тілі у пацієнтів із спорадичною хворобою Паркінсона. Одночасно з цим, parkin був тирозин-фосфорильованим, викликаючи втрату його убіхітинлігази та цитозахисних дій, на що вказувала акумуляція parkin субстратів (Ko HS, Lee Y, Shin JH, Karuppagounder SS, Gadad BS, Koleske AJ, Pletnikova O, Troncoso JC, Dawson VL, Dawson TM. Phosphorylation by the c-Abl protein tyrosine kinase inhibits parkin's ubiquitination and protective function. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Sep 21; 107(38):16691-6; Imam SZ, Zhou Q, Yamamoto A, Valente AJ, Ali SF, Bains M, Roberts JL, Kahle PJ, Clark RA, Li S. Novel regulation of parkin function through c-Abl-mediated tyrosine phosphorylation: implications for Parkinson's disease. J Neurosci. 2011 Jan 5; 31(1):157-63). Ці два дослідження також показали, що у клітині або тваринних моделях хвороби Паркінсона фармакологічне інгібування ABL1 кінази або генетичний ABL1 "нокдаун" перешкоджали фосфорилуванню тирозину білку parkin та відновлювали активність його E3 лігази та цитозахисну функцію як *in vitro*, так і *in vivo*. Ці результати показують, що ABL1-залежне фосфорилування тирозину білку parkin являє собою основну після-трансляційну модифікацію, яка приводить до втрати функції parkin та прогресуванню захворювання у спорадичній PD. Тому здатність сполук відповідно до даного винаходу інгібувати мірістатзв'язуючий сайт ABL1, як можна очікувати, відкриє нові терапевтичні можливості для блокування розвитку хвороби Паркінсона.

Хвороба Альцгеймера характеризується двома основними особливостями: позаклітинні відкладення нейротоксичного амілоїду- $\beta$ , що приводить до розвитку амілоїдних бляшок та внутрішньоклітинної акумуляції гіперфосфорильованого tau, що сприяє розвитку нейрофібрилярних сплетень (NFT).

Рівень амілоїду- $\beta$  знижується після інтратекального введення Gleevec® у головному мозку морських свинок дикого типу та у клітинних моделях (Netzer WJ, Dou F, Cai D, Veach D, Jean S, Li Y, Bornmann WG, Clarkson B, Xu H, Greengard P. Gleevec inhibits beta-amyloid production but not Notch cleavage. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Oct 14; 100(21):12444-9). Цією ж групою було зроблено припущення, що Gleevec® досягає амілоїд- $\beta$ -знижуючого ефекту через новий механізм, що перешкоджає GSAP взаємодії з гама-секретазним субстратом, APP-CTF (He G, Luo W, Li P, Remmers C, Netzer WJ, Hendrick J, Bettayeb K, Flajolet M, Gorelick F, Wennogle LP, Greengard P. Gamma-secretase activating protein is a therapeutic target for Alzheimer's disease. Nature. 2010 Sep 2; 467(7311):95-8). У цьому дослідженні ефект Gleevec®, такий як інгібування GSAP/APP-CTF, спостерігали тільки при мікромолярних концентраціях. Інша група показала, що фосфорилування тирозину внутрішньоклітинного домену APP (тобто Tyr682) регулює процесинг амілоїдогенного APP, прискорюючи утворення амілоїду- $\beta$  *in vivo* (Barbagallo AP, Weldon R, Tamayev R, Zhou D, Giliberto L, Foreman O, D'Adamio L. Tyr(682) in the intracellular domain of APP regulates amyloidogenic APP processing *in vivo*. PLoS One. 2010 Nov 16; 5(11):e15503). Інші дослідження показали, що APP є тирозин-фосфорильованим у клітинах, що експресують конститутивно активну форму ABL1 онкогену (Zambrano N, Bruni P, Minopoli G, Mosca R, Molino D, Russo C, Schettini G, Sudol M, Russo T. The beta-amyloid precursor protein APP is tyrosine-phosphorylated in cells expressing a constitutively active form of the Abl protooncogene. J

Biol Chem. 2001 Jun 8; 276(23):19787-92). Ці дані, взяті разом, припускають ABL 1-залежний процесинг амілоїдогенного APP для утворення токсичного амілоїд- $\beta$  пептиду та наступних амілоїдних бляшок. Тому можна чекати, що інгібітор ABL1 буде знижувати утворення амілоїдних бляшок у пацієнтів із хворобою Альцгеймера.

5 Було показано, що Тау фосфорилується ABL1 кіназою по тирозинам 18, 197, 310 та 394 у клітинних моделях, та було показано, що tau pY394 присутня в ураженнях NFT у головному мозку AD пацієнтів.

ABL1 активований у головному мозку пацієнтів із спорадичною хворобою Альцгеймера, як показано по його фосфорилуванню або по Y412, індикатору активації, який ко-локалізує гранулоvasкулярну дегенерацію, або по T735, який ко-локалізований з типовими ураженнями, амілоїдними бляшками, нейрофібрилярними сплетеннями (NFT), на додаток до GVD. Амілоїд- $\beta$  та окисний стрес активують ABL1 кіназу у культурах нервових клітин, та інтрацеребральна ін'єкція фібрилярного амілоїдного пептиду приводить до підвищеної експресії ABL1 та далі на цьому шляху ефектору p73. Трансгенні миші (APP/Swe мишача модель AD) показали підвищені рівні ABL1 у головному мозку, та, коли цих мишей обробляли інгібітором ABL1 Gleevec®, tau фосфорилування знижувалося у головному мозку тварин. Трансгенна мишача модель, що експресує конститутивно активний ABL1 у нейронах переднього мозку, демонструвала втрату нейронів, важке нейрозапалення та тирозин-фосфорильований tau у головному мозку (див. огляд у Schlatterer SD, Acker CM, Davies P. c-Abl in neurodegenerative disease. J Mol Neurosci. 2011 Nov; 45(3):445-52).

На підставі всіх цих результатів існує доказ ролі ABL1 кінази у патогенезі хвороби Альцгеймера для розвитку обох уражень - амілоїдних бляшок та нейрофібрилярних сплетень.

Крім того, активований ABL1 також є присутнім у інших таупатіях, крім спорадичної хвороби Альцгеймера, у тому числі у головному мозку пацієнтів із фронтотемпоральною деменцією з N279K та P301L мутаціями, хворобою Піка та Гуам Паркінсон-деменцією (Schlatterer SD, Acker CM, Davies P. c-abl in neurodegenerative disease. J Mol Neurosci. 2011 Nov; 45(3):445-52).

Тому сполуки відповідно до даного винаходу, інгібуючі ABL1 у ЦНС, являють собою ефективний підхід для розробки терапевтичних засобів проти хвороби Альцгеймера, а також інших  $\beta$ -амілоїдозів, таких як судинна деменція та інші таупатії, такі як фронтотемпоральна деменція та хвороба Піка.

Хвороба Німанна-Піка С типу (NPC) являє собою фатальне аутосомальний рецесивний розлад, що характеризується акумуляцією вільного холестерину та глікоsfінголіпідів у ендосомальній-лізосомальній системі та прогресуючою загибеллю нейронів, особливо мозочкових нервових клітин Пуркін'є. У мишачій моделі NPC проапоптичний ABL1, що знаходиться далі по ходу транскрипції мішені, а також p73 гени-мішені експресуються у мозочку. Інгібування ABL1 за допомогою Gleevec® запобігало втраті нервових клітин Пуркін'є, поліпшувало неврологічні симптоми та підвищувало виживаність. Цей ефект провиживання Gleevec® співвідносився зі зниженими рівнями mPHK p73 проапоптичних генів-мішеней (Alvarez AR, Klein A, Castro J, Cancino GI, Amigo J, Mosqueira M, Vargas LM, Yevenes LF, Bronfman FC, Zanlungo S. Imatinib therapy blocks cerebellar apoptosis and improves neurological symptoms in a mouse model of Niemann-Pick type C disease. FASEB J. 2008 Oct; 22(10):3617-27). Тому сполуки відповідно до даного винаходу, що інгібують ABL1 кіназу, являють собою ефективний підхід для розробки терапевтичних засобів проти захворювань, викликаних проапоптичним шляхом ABL1/p73, таких як NPC.

У моделях пріонових захворювань Gleevec® показав сприятливі ефекти: він уповільнював пріонову нейроінвазію шляхом інгібування розповсюдження пріону з периферії у ЦНС (Yun SW, Ertmer A, Flechsig E, Gilch S, Riederer P, Gerlach M, Schatzl HM, Klein MA. The tyrosine kinase inhibitor imatinib mesylate delays prion neuroinvasion by inhibiting prion propagation in the periphery. J Neurovirol. 2007 Aug; 13(4):328-37). Gleevec® та дефіцит ABL1 індукували клітинний кліренс PrPSc у пріон-інфікованих клітинах (Ertmer A, Gilch S, Yun SW, Flechsig E, Klebl B, Stein-Gerlach M, Klein MA, Schatzl HM. The tyrosine kinase inhibitor STI571 induces cellular clearance of PrPSc in prion-infected cells. J Biol Chem. 2004 Oct 1; 279(40):41918-27). Тому, нові інгібітори ABL1 відповідно до даного винаходу також являють собою ефективний терапевтичний підхід для лікування пріонових захворювань, таких як хвороба Крейцфельда-Якоба.

Причиною Х-зв'язаної рецесивної м'язової дистрофії Емері-Дрейфуса є мутації емерину, ядерно-мембранного білку, що відіграє роль у ядерній архітектурі, генній регуляції та передачі сигналів. Нещодавно проведене дослідження показало, що емерин тирозин-фосфорилується безпосередньо за допомогою ABL1 у клітинних моделях та що статус фосфорилування емерину змінює зв'язування емерину з іншими білками, такими як BAF. Це, у свою чергу, може пояснити міслокалізацію мутантного емерину з ядерного у цитозольні компартменти та



відповідні зміни у розташованому далі на цьому шляху ефекторі та сигнальному інтеграторі для сигнального шляху (шляхів) на ядерній оболонці (Tiffert KE, Bradbury KA, Wilson KL. Tyrosine phosphorylation of nuclear-membrane protein emerlin by SRC, ABL1 and other kinases. *J Cell Sci.* 2009 Oct 15; 122(Pt 20):3780-90). Зміни у емерин-ламін взаємодіях як у фазі мітозу, так і у інтерфазі є важливими для патології м'язової дистрофії. Крім того, результати іншого дослідження показують, що Gleevec® ослаблює скелетно-м'язову дистрофію у mdx мишей (Huang P, Zhao XS, Fields M, Ransohoff RM, Zhou L. Imatinib attenuates skeletal muscle dystrophy in mdx mice. *FASEB J.* 2009 Aug; 23(8):2539-48).

Тому, нові інгібітори ABL1 відповідно до даного винаходу також являють собою терапевтичні підходи для лікування скелетних та м'язових дистрофій.

Крім того, ABL1 кіназа відіграє роль у запаленні та окисному стресі, двох механізмах, які залучені у різні захворювання людини, від гострих захворювань ЦНС, таких як удар та травматичні ураження головного мозку або спинного мозку, хронічних захворювань ЦНС, таких як хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, хвороба Гентінгтона та захворювання рухових нейронів, до не пов'язаних із ЦНС запальних та аутоімунних захворювань, таких як діабет, фіброз легенів.

Наприклад, Gleevec® попереджає фіброз у різних передклінічних моделях системного склерозу та індукуює регресію встановленого фіброзу (Akhmetshina A, Venalis P, Dees C, Busch N, Zwerina J, Schett G, Distler O, Distler JH. Treatment with imatinib prevents fibrosis in different preclinical models of systemic sclerosis and induces regression of established fibrosis. *Arthritis Rheum.* 2009 Jan; 60(1):219-24), та він демонструє антифібротичні ефекти у блеомицин-індукованому фіброзі легенів у мишей (Aono Y, Nishioka Y, Inayama M, Ugai M, Kishi J, Uehara H, Izumi K, Sone S. Imatinib as a novel antifibrotic agent in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005 Jun 1; 171(11):1279-85). Інше дослідження показало, що як іматиніб, так і нілотиніб зменшували блеомицин-індуковане гостре легеневе ураження та фіброз легенів у мишей (Rhee CK, Lee SH, Yoon HK, Kim SC, Lee SY, Kwon SS, Kim YK, Kim KH, Kim TJ, Kim JW. Effect of nilotinib on bleomycin-induced acute lung injury and pulmonary fibrosis in mice. *Respiration.* 2011; 82(3):273-87). Хоча у цих дослідженнях автори були сфокусовані на участі механізму, пов'язаного з PDGFR, який представляв інтерес, у дослідженні Rhee et al. (Respiration. 2011; 82(3):273-87) нілотиніб, який є значно більш сильним інгібітором c-ABL, ніж іматиніб, показав більш високі терапевтичні антифібротичні ефекти, таким чином підтверджуючи терапевтичну застосовність інгібіторів c-ABL для лікування захворювань людини з легенеvim запаленням. У іншому дослідженні гіпероксія, що викликала у мишей, підвищувала активацію ABL1, яка необхідна для фосфорилування динаміну 2 та продукції реактивних видів кисню та легеневого просочування (Singleton PA, Pendyala S, Gorshkova IA, Mambetsariev N, Moitra J, Garcia JG, Natarajan V. Dynamin 2 and c-Abl are novel regulators of hyperoxia-mediated NADPH oxidase activation and reactive oxygen species production in caveolin-enriched microdomains of the endothelium. *J Biol Chem.* 2009 Dec 11; 284(50):34964-75).

Тому ці дані показують, що нові інгібітори c-ABL відповідно до даного винаходу мають терапевтичну застосовність для лікування захворювань людини з легенеvim запаленням.

Активация ABL1 інсуліном, через модифікацію FAK відповіді, може грати важливу роль у напрямку мітогенного проти метаболічного сигналу інсулінового рецептору (Genua M, Pandini G, Cassarino MF, Messina RL, Frasca F. c-Abl and insulin receptor signalling. *Vitam Horm.* 2009; 80:77-105). Було показано, що інгібітори c-Abl, такі як Gleevec®, забезпечують регресію діабету 1 типу у не страждаючих ожирінням діабетичних мишей (Louvret C, Szot GL, Lang J, Lee MR, Martinier N, Bollag G, Zhu S, Weiss A, Bluestone JA. Tyrosine kinase inhibitors reverse type 1 diabetes in nonobese diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Dec 2; 105(48):18895-900). Полегшення важкості діабету за допомогою Gleevec® імітували шляхом siPHK-опосередкованого "нокдауну" ABL1 mPHK (Hagerkvist R, Sandler S, Mokhtari D, Welsh N. Amelioration of diabetes by imatinib mesylate (Gleevec): role of beta-cell NF-kappaB activation and anti-apoptotic preconditioning. *FASEB J.* 2007 Feb; 21(2):618-28).

Тому нові інгібітори ABL1 відповідно до даного винаходу мають терапевтичну застосовність для лікування діабету у людини.

Інгібітор ABL1 відповідно до даного винаходу можна використовувати у комбінації з одним або декількома з існуючих лікувань зазначених вище захворювань: наприклад, інгібітор ABL1 відповідно до даного винаходу можна використовувати у комбінації з Levodopa або іншими L-DOPA-вмісними лікарськими засобами або допаміновим агоністом для лікування хвороби Паркінсона, або у комбінації з інгібітором холінергастери, таким як Exelon капсула або крізьшкірний пластр, для лікування хвороби Альцгеймера.

У хронічному мієлогенному лейкозі (CML), реципрокна збалансована хромосомна транслокація у гематопоетичних стовбурових клітинах (HSC) утворює BCR-ABL1 гібридний ген. Цей ген кодує онкогенний BCR-ABL1 гібридний білок. Тоді як ABL1 кодує жорстко регульовану тирозинову протеїнкіназу, яка відіграє фундаментальну роль у регуляції клітинної проліферації, адгезії та апоптозу, BCR-ABL1 гібридний ген кодує як конститутивно активовану кіназу. Ця активована кіназа трансформує HSC з утворенням фенотипу, що демонструє порушену регуляцію клональної проліферації, знижену здатність до адгезії до стромы кісткового мозку та знижену апоптичну відповідь на мутагенні стимули, приводячи до прогресивно більш злоякісних трансформацій. Отримані у результаті гранулоцити не можуть розвиватися у зрілі лімфоцити та вивільняються у кровоток, приводячи до дефіциту зрілих клітин та підвищеної сприйнятливості до інфекції. Було показано, що АТФ-конкурентні інгібітори BCR-ABL1 перешкоджають кіназній активації мітогенного та антиапоптичного шляхів (наприклад, PI-3 кіназа та STAT5), приводячи до загибелі клітин з BCR-ABL1 фенотипом і, таким чином, забезпечуючи ефективну терапію проти CML. KCL-22 клітинна лінія (отримана від DSMZ, Ltibniz Institute, Germany) виділена із плевральної ефузії 32-річної жінки за допомогою апарату хромосомно-позитивного CML Philadelphia у бластному кризі у 1981 р. та описана для вмісту t(9; 22), що приводить до гібридного гену BCR-ABL1 та мутації p53. KCL-22 клітинна лінія може бути використана у моделі Xenograft для демонстрації in vivo ефективності сполук винаходу (див. Assay section, infra). Сполуки відповідно до даного винаходу, як інгібітори BCR-ABL1, включаючи його мутанти, є, таким чином, особливо підходящими для лікування захворювань, пов'язаних з його надмірною експресією, таких як ALL або CML лейкози.

Також було показано, що сполуки відповідно до даного винаходу мають протипухлинну активність in vitro: in vitro протипухлинну активність випробовують, наприклад, з використанням лейкозних клітинних ліній, таких як Ba/F3-BCR-ABL1, KCL-22, K-562, MEG-01, KYO-1, LAMA-84, KU812, EM-2, CML-T1, BV-173 або ALL-SIL.

Даний винахід включає спосіб лікування раку, що включає введення суб'єктові, який потребує такого лікування, ефективної кількості сполуки відповідно до даного винаходу або фармацевтичної композиції.

Наступний варіант втілення включає введення суб'єктові додаткового терапевтичного засобу.

У наступному варіанті втілення додатковий терапевтичний засіб являє собою інший інгібітор BCR-ABL1, вибраний з іматинібу, нілотинібу, дасатинібу, досутинібу, радотинібу, понатинібу та бафетинібу.

У іншому варіанті втілення представлений спосіб лікування стану, опосередкованого BCR-ABL1, що включає введення суб'єктові, який цього потребує, ефективної кількості сполуки відповідно до даного винаходу або фармацевтичної композиції.

BCR-ABL1 містить одну або декілька мутацій. Приклади таких мутацій включають V299L, T315I, F317I, F317L, Y253F, Y253H, E255K, E255V, F359C та F359V (UJane F. Apperley. Part 1: Mechanism of resistance to imatinib in chronic myeloid leukaemia. Lancet Oncology 2007; 8:1018).

У наступному варіанті втілення представлений спосіб лікування стану, опосередкованого BCR-ABL1, де BCR-ABL1 містить одну або декілька мутацій, вибраних з V299L, T315I, F317I, F317L, Y253F, Y253H, E255K, E255V, F359C та F359V.

У деяких варіантах втілення даний винахід відноситься до зазначеного вище способу, де зазначену сполуку вводять парентерально.

У деяких варіантах втілення даний винахід відноситься до зазначеного вище способу, де зазначену сполуку вводять внутрішньом'язово, внутрішньовенно, підшкірно, перорально, внутрішньолегенево, інтратекально, місцево або інтраназально.

У деяких варіантах втілення даний винахід відноситься до зазначеного вище способу, де зазначену сполуку вводять системно.

У деяких варіантах втілення даний винахід відноситься до зазначеного вище способу, де зазначений пацієнт являє собою ссавця.

У деяких варіантах втілення даний винахід відноситься до зазначеного вище способу, де зазначений пацієнт являє собою примата.

У деяких варіантах втілення даний винахід відноситься до зазначеного вище способу, де зазначений пацієнт являє собою людину.

У іншому аспекті даний винахід відноситься до способу лікування ABL1/BCR-ABL1-опосередкованого розладу, що включає наступну стадію: введення пацієнту, який цього потребує, терапевтично ефективної кількості хіміотерапевтичного засобу у комбінації з терапевтично ефективною кількістю сполуки формули (I).

У іншому аспекті представлена сполука формули I або будь-які конкретні варіанти її втілення, описані вище, для використання при лікуванні раку.

У ще одному аспекті рак являє собою лейкоз, вибраний з хронічного мієлолейкозу (CML) та гострого лімфобластного лейкозу (ALL).

5 У іншому аспекті представлена сполука формули I або будь-які конкретні варіанти її втілення для використання при лікуванні раку у комбінації з додатковою сполукою, вибраною з іматинібу, нілотинібу, дазатинібу, босутинібу, понатинібу та бафетинібу.

У ще одному аспекті сполука формули I являє собою (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)-нікотинамід.

10 У ще одному аспекті сполука формули I являє собою фармацевтично прийнятну сіль (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід.

У ще одному аспекті додаткову сполуку вводять послідовно.

У ще одному аспекті додаткову сполуку вводять одночасно.

У ще одному аспекті додаткова сполука являє собою нілотиніб.

15 У ще одному аспекті додаткова сполука являє собою іматиніб.

У ще одному аспекті додаткова сполука являє собою дазатиніб.

У ще одному аспекті додаткова сполука являє собою босутиніб.

У ще одному аспекті додаткова сполука являє собою понатиніб.

У ще одному аспекті додаткова сполука являє собою бафетиніб.

20 У іншому аспекті даний винахід відноситься до способу лікування ABL1/BCR-ABL1-опосередованного розладу, що включає наступну стадію: введення пацієнту, який цього потребує, терапевтично ефективної кількості хіміотерапевтичного засобу у комбінації з терапевтично ефективною кількістю сполуки формули (I).

Фармацевтичні композиції

25 У іншому аспекті даний винахід забезпечує фармацевтично прийнятні композиції, які включають терапевтично ефективну кількість однієї або декількох сполук, описаних вище, сформульованих разом з одним або декількома фармацевтично прийнятними носіями (добавками) та/або розріджувачами. Як описано докладно нижче, фармацевтичні композиції відповідно до даного винаходу можуть бути спеціально сформульовані для введення у твердій  
30 або рідкій формі, включаючи композиції, призначені для наступного: (1) перорального введення, наприклад, змочувальні препарати (водні або неводні розчини або суспензії), таблетки, наприклад, призначені для букального, сублінгвального введення та системної абсорбції, болюси, порошки, гранули, пасти для нанесення на язик; (2) парентерального введення, наприклад, за допомогою підшкірної, внутрішньом'язової, внутрішньовенної або епідуральної  
35 ін'єкції, наприклад, у вигляді стерильного розчину або суспензії або композиції уповільненого вивільнення; (3) місцевого нанесення, наприклад, у вигляді крему, мазі або пластиру з контрольованим вивільненням або спрею, що наноситься на шкіру; (4) інтравагінального або інтаректального введення, наприклад, у вигляді песарію, крему або піни; (5) сублінгвального введення; (6) очного введення; (7) кризьшкірного введення; (8) назального введення; (9)  
40 внутрішньолегенового введення; або (10) інтратекального введення.

Фраза "терапевтично ефективна кількість", як це використовується у даній заявці, означає таку кількість сполуки, речовини або композиції, що включає сполуку відповідно до даного винаходу, яка є ефективною для одержання деякого бажаного терапевтичного ефекту у щонайменше субпопуляції клітин у тварини при розумному співвідношенні користь/ризик у  
45 застосуванні до будь-якого медичного лікування.

Фраза "фармацевтично прийнятний", як це використовується у даній заявці, відноситься до тих сполук, речовин, композицій та/або лікарських форм, які, відповідно зваженим медичній оцінці, є підходящими для використання у контакті із тканинами людини та тварин, без надмірної токсичності, подразнення, алергійних реакцій або інших проблем або ускладнень,  
50 відповідаючи розумному співвідношенню користь/ризик.

Фраза "фармацевтично прийнятний носій", як це використовується у даній заявці, означає фармацевтично прийнятну речовину, композицію або носій, такий як рідкий або твердий наповнювач, розріджувач, ексципієнт, технологічна добавка (наприклад, змашувальна речовина, тальк, стеарат магнію, кальцію або цинку або стеаринова кислота) або розчинювана  
55 інкапсулююча речовина, що бере участь у переносі або транспортуванні сполуки відповідно до даного винаходу з одного органу або частини тіла до іншого органу або частини тіла. Кожен носій повинен бути "прийнятним", у тому розумінні, що він повинен бути сумісним з іншими інгредієнтами композиції та не бути шкідливим для пацієнта. Деякі приклади речовин, які можуть служити як фармацевтично прийнятні носії, включають: (1) цукри, такі як лактоза,  
60 глюкоза та сахароза; (2) крохмалі, такі як кукурудзяний крохмаль та картопляний крохмаль; (3)

целюлозу та її похідні, такі як натрій карбоксиметилцелюлоза, етилцелюлоза та ацетат целюлози; (4) порошкоподібний трагакант; (5) солод; (6) желатин; (7) тальк; (8) експієнти, такі як масло какао та воски для супозиторіїв; (9) масло, таке як арахісове масло, масло насіння бавовнику, сафлорове масло, кунжутне масло, оливкове масло, кукурудзяне масло та соєве масло; (10) гліколі, такі як пропіленгліколь; (11) поліолі, такі як гліцерин, сорбіт, маніт та поліетиленгліколь; (12) складні ефіри, такі як етилолеат та етиллаурат; (13) агар; (14) буферні речовини, такі як гідроксид магнію та гідроксид алюмінію; (15) альгінову кислоту; (16) апірогенну воду; (17) ізотонічний сольовий розчин; (18) розчин Рінгера; (19) етиловий спирт; (20) рН буферні розчини; (21) складні поліефіри, полікарбонати та/або поліангідриди; та (22) інші нетоксичні сумісні речовини, використовувані у фармацевтичних композиціях.

Як описано вище, деякі варіанти втілення сполук відповідно до даного винаходу можуть містити лужну функціональну групу, таку як аміно або алкіламіно, і, таким чином, можуть утворювати фармацевтично прийнятні солі з фармацевтично прийнятними кислотами. Термін "фармацевтично прийнятні солі", щодо цього, відноситься до відносно нетоксичних неорганічних та органічних кислотно-адитивних солей сполук відповідно до даного винаходу. Ці солі можна одержати *in situ* у процесі одержання носія для введення або лікарської форми, або шляхом окремої взаємодії очищеної сполуки відповідно до даного винаходу у формі вільної основи з підходящою органічною або неорганічною кислотою та виділення утвореної у такий спосіб солі у процесі наступного очищення. Репрезентативні солі включають гідробромід, гідрохлорид, сульфат, бісульфат, фосфат, нітрат, ацетат, валерат, олеат, пальмітат, стеарат, лаурат, бензоат, лактат, фосфат, тозилат, цитрат, малеат, фумарат, сукцинат, тартрат, наптілат, мезилат, глюкогептаноат, лактобінат та лаурилсульфонат та подібні (див., наприклад, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19).

Фармацевтично прийнятні солі сполук відповідно до даного винаходу включають традиційні нетоксичні солі або четвертинні амонієві солі сполук, наприклад, утворені з нетоксичних органічних або неорганічних кислот. Наприклад, такі традиційні нетоксичні солі включають солі, утворені з неорганічних кислот, таких як хлористоводнева, бромистоводнева, сірчана, сульфамінова, фосфорна, азотна та подібні; та солі, утворені з органічних кислот, таких як оцтова, пропіонова, бурштинова, гліколева, стеаринова, молочна, яблучна, винна, лимонна, аскорбінова, пальмітинова, малеїнова, гідроксималеїнова, фенілоцтова, глютамінова, бензойна, саліцилова, сульфанілова, 2-ацетоксibenзойна, фумарова, толуолсульфонова, метансульфонова, етандисульфонова, щавлева, ізотіонова та подібні.

У інших випадках сполуки відповідно до даного винаходу можуть містити одну або кілька кислотних функціональних груп і, таким чином, можуть утворювати фармацевтично прийнятні солі з фармацевтично прийнятними основами. Термін "фармацевтично прийнятні солі" у цих випадках відноситься до відносно нетоксичних неорганічних та органічних основно-адитивних солей сполук відповідно до даного винаходу. Ці солі також можна одержати *in situ* у процесі одержання носія для введення або лікарської форми, або шляхом окремої взаємодії очищеної сполуки відповідно до даного винаходу у формі вільної кислоти з підходящою підставою, такою як гідроксид, карбонат або бікарбонат фармацевтично прийнятного металевго катіону, з аміаком або з фармацевтично прийнятним органічним первинним, вторинним або третинним аміном. Репрезентативні солі лужних або лужноземельних металів включають солі літію, натрію, калію, кальцію, магнію та алюмінію та подібні. Репрезентативні органічні аміни, корисні для утворення основно-адитивних солей, включають етиламін, діетиламін, етилендіамін, етаноламін, діетаноламін, піперазин та подібні (див., наприклад, Berge et al., supra).

Змочувальні речовини, емульгатори та змащувальні речовини, такі як лаурилсульфат натрію та стеарат магнію, а також барвники, агенти вивільнення, речовини покриттів, підсолоджувачі, віддушки та ароматизатори, консерванти та антиоксиданти також можуть бути присутніми у композиціях.

Приклади фармацевтично прийнятих антиоксидантів включають: (1) водорозчинні антиоксиданти, такі як аскорбінова кислота, цистеїн гідрохлорид, бісульфат натрію, метабісульфіт натрію, сульфат натрію та подібні; (2) маслорозчинні антиоксиданти, такі як аскорбілпальмітат, бутильований гідроксианізол (BHA), бутильований гідрокситолуол (BHT), лецитин, пропілгалат, альфа-токоферол та подібні; та (3) метало-хелатні речовини, такі як лимонна кислота, етилендіамінтетраоцтова кислота (EDTA), сорбіт, винна кислота, фосфорна кислота та подібні.

Фармацевтичні композиції відповідно до даного винаходу включають композиції, що підходять для перорального, назального введення, місцевого (включаючи букальне та сублінгвальне), ректального, вагінального та/або парентерального введення. Композиції зручним чином можуть бути представлені у стандартній лікарській формі та можуть бути

отримані будь-якими способами, добре відомими у фармацевтиці. Кількість активного інгредієнту, яка може бути об'єднана з речовиною-носієм для одержання однієї лікарської дози, варіюється залежно від хазяїна, який приймає лікування, конкретного способу введення. Кількість активного інгредієнта, яка може бути об'єднана з речовиною-носієм для одержання

5 однієї лікарської дози, як правило, становить таку кількість сполуки, яка забезпечує терапевтичний ефект. Як правило, виходячи зі ста відсотків, ця кількість буде знаходитися у межах від близько 0,1 відсотка до близько дев'яноста дев'яти відсотків активного інгредієнту, переважно від близько 5 відсотків до близько 70 відсотків, найбільш переважно від близько 10 відсотків до близько 30 відсотків.

10 У деяких варіантах втілення композиція відповідно до даного винаходу включає ексципієнт, вибраний із групи, що включає циклодекстрини, целюлози, ліпосоми, міцелоутворюючі речовини, наприклад, жовчні кислоти, та полімерні носії, наприклад, складні поліефіри та поліангідриди; та сполуку відповідно до даного винаходу. У деяких варіантах втілення зазначена вище композиція робить сполуку відповідно до даного винаходу перорально

15 біодоступною.

Способи одержання цих сполук або композицій включають стадію приведення сполуки відповідно до даного винаходу у асоціацію з носієм та, необов'язково, одним або декількома допоміжними інгредієнтами. Як правило, композиції одержують шляхом однорідного та

20 гомогенного змішування для приведення у асоціацію сполуки відповідно до даного винаходу з рідкими носіями або тонкоподрібненими твердими носіями, або і тими і іншими, та потім, якщо це необхідно, формування продукту.

Фармацевтичні композиції відповідно до даного винаходу, що підходять для перорального введення, можуть бути у формі капсул, саше, пігулок, таблеток, коржів (з використанням основи, що містить віддушки, звичайно такої як сахароза та аравійська камедь або трагакант), порошків,

25 гранул або у вигляді розчину, суспензії або твердої дисперсії у водній або неводній рідині, або у вигляді рідкої емульсії масло-у-воді або вода-у-маслі, або у вигляді еліксиру або сиропу, або у вигляді пастилок (з використанням інертної основи, такої як желатин та гліцерин або сахароза та аравійська камедь), та/або у вигляді полоскань для ротової порожнини тощо, при цьому кожна така форма містить попередньо визначену кількість сполуки відповідно до даного

30 винаходу як активний інгредієнт. Сполуку відповідно до даного винаходу також можна вводити у вигляді болюсу, електуарію або пасти.

Фармацевтична композиція у вигляді твердої дисперсії відповідно до даного винаходу включає, наприклад, аморфну дисперсію сполуки відповідно до даного винаходу, ексципієнт (співполімери, такі як полівінілпіролідінон (PVP) VA64 (Kollidon® VA64 або Sorovidone) та

35 подібні). Тверда дисперсія може бути додатково посилена за допомогою гідроксилпропілметилцелюлоз (HPMC) з низькою в'язкістю (таких як Pharmacoat 603, Methocel E3 або подібні). Див. приклад 41 нижче для одержання більш детальної інформації для одержання фармацевтичної композиції у вигляді твердої дисперсії відповідно до даного винаходу.

40 У одному варіанті втілення даного винаходу представлена фармацевтична композиція, що включає аморфну дисперсію (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід (приклад 9) та від 1 до 2 ексципієнтів; де ексципієнт вибирають із HPMC AS, Pharmacoat 603, Eudragit L100, PVP K30, PVP VA64 та Eudragit EPO.

У наступному варіанті втілення ексципієнти являють собою PVP VA64 та Pharmacoat 603.

45 У наступному варіанті втілення відсотковий вміст Pharmacoat 603 знаходиться у діапазоні від 30 % до 45 %, відсотковий вміст PVP VA64 знаходиться у діапазоні від 30 % до 45 %, та відсотковий вміст (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід (приклад 9) знаходиться у діапазоні від 20 % до 30 %.

У наступному варіанті втілення відсотковий вміст Pharmacoat 603 складає 37,5 %, відсотковий вміст PVP VA64 складає 37,5 %, та відсотковий вміст (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)-нікотинамід (приклад 9) складає 25 %.

50

У твердих лікарських формах відповідно до даного винаходу для перорального введення (капсули, таблетки, пігулки, драже, порошки, гранули, коржі та подібне) активний інгредієнт

55 змішано з одним або декількома фармацевтично прийнятними носіями, такими як цитрат натрію або дикальцій фосфат, та/або будь-яким з наступних: (1) наповнювачі або створюючі об'єм речовини, такі як крохмалі, лактоза, сахароза, глюкоза, маніт та/або кремнієва кислота; (2) сполучні речовини, такі як, наприклад, карбоксиметилцелюлоза, альгінати, желатин, полівінілпіролідон, сахароза та/або аравійська камедь; (3) зволожувачі, такі як гліцерин; (4)

60 розпушувачі, такі як агар-агар, карбонат кальцію, картопляний або тапіоковий крохмаль,

альгінова кислота, деякі силікати та карбонат натрію; (5) уповільнювані розчинення речовини, такі як парафін; (6) прискорювачі абсорбції, такі як четвертинні амонієві сполуки, та поверхнево-активні речовини, такі як полоксамер та лаурилсульфат натрію; (7) змочувальні речовини, такі як, наприклад, цетиловий спирт, гліцеринмоностеарат та неіонні поверхнево-активні речовини; (8) абсорбенти, такі як каолін та бентонітова глина; (9) змашувальні речовини, такі як тальк, стеарат кальцію, стеарат магнію, тверді поліетиленгліколі, лаурилсульфат натрію, стеарат цинку, стеарат натрію, стеаринова кислота та їх суміші; (10) барвники; та (11) контролюючі вивільнення речовини, такі як кросповідон або етилцелюлоза. У випадку капсул, таблеток та пігулок, фармацевтичні композиції також можуть включати буферні речовини. Тверді композиції подібного типу також можна використовувати як наповнювачі у м'яких та твердих желатинових капсулах з використанням таких ексципієнтів, як лактоза або молочні цукри, а також високомолекулярні поліетиленгліколі та подібні.

Таблетку можна одержати шляхом пресування або формування, необов'язково з використанням одного або декількох допоміжних інгредієнтів. Пресовані таблетки можна одержати з використанням сполучної речовини (наприклад, желатин або гідроксипропілметилцелюлоза), змашувальної речовини, інертного розріджувача, консерванту, розпушувача (наприклад, натрій крохмальгліколят або зшита натрій карбоксиметилцелюлоза), поверхнево-активної або диспергуючої речовини. Формовані таблетки можна одержати шляхом формування у підходящій машині суміші порошкоподібної сполуки, змоченої інертним рідким розріджувачем.

Таблетки та інші тверді лікарські форми фармацевтичних композицій відповідно до даного винаходу, такі як драже, капсули, пігулки та гранули, необов'язково можуть мати насічку або можуть бути отримані з покриттями та оболонками, такими як ентросоліюбильні покриття та інші покриття, добре відомі у галузі фармацевтичного формулювання. Вони також можуть бути сформульовані таким чином, щоб забезпечувати повільне або контрольоване вивільнення активного інгредієнта, що міститься у них, з використанням, наприклад, гідроксипропілметилцелюлози у різних пропорціях для забезпечення бажаного профілю вивільнення, інших полімерних матриць, ліпосом та/або мікросфер. Вони можуть бути сформульовані для швидкого вивільнення, наприклад, з використанням сушіння заморожуванням. Вони можуть бути стерилізовані, наприклад, шляхом фільтрування через утримуючий бактерії фільтр або шляхом включення стерилізуючих засобів у формі стерильних твердих композицій, які можна розчинити у стерильній воді або якому-небудь іншому стерильному середовищі для ін'єкцій безпосередньо перед використанням. Ці композиції також можуть, але необов'язково, містити речовини, що роблять композицію непрозорою, та можуть мати таку композицію, яка забезпечує вивільнення активного інгредієнту (інгредієнтів) тільки або переважно у певній частині шлунково-кишкового тракту, необов'язково уповільненим чином. Приклади композицій, призначених для включення у них лікарського засобу, які можна використовувати, включають полімерні речовини та воски. Активний інгредієнт також може бути у мікроінкапсульованій формі, якщо це є підходящим, з одним або декількома описаними вище ексципієнтами.

Рідкі лікарські форми для перорального введення сполук відповідно до даного винаходу включають фармацевтично прийнятні емульсії, мікроемульсії, розчини, суспензії, сиропи та еліксири. Крім активного інгредієнта рідкі лікарські форми можуть містити інертні розріджувачі, звичайно використовувані у даній галузі техніки, такі як, наприклад, вода або інші розчинники, солюбілізуючі речовини та емульгатори, такі як етиловий спирт, ізопропіловий спирт, етилкарбонат, етилацетат, бензиловий спирт, бензилбензоат, пропіленгліколь, 1,3-бутиленгліколь, масла (зокрема, масло насіння бавовнику, масло земляного горіха, кукурудзяне масло, масло із проростків насіння, оливкове, касторове та кунжутне масло), гліцерин, тетрагідрофуриловий спирт, поліетиленгліколі та складні ефіри жирних кислот сорбітану та їх суміші.

Крім інертних розріджувачів пероральні композиції також можуть включати ад'юванти, такі як змочувальні речовини, емульгатори та суспендуючі речовини, підсолоджувачі, віддушки, барвники, ароматизатори та консерванти.

Суспензії, крім активних сполук, можуть містити суспендуючі речовини, наприклад, етоксильовані ізостеарилові спирти, поліоксиди етиленсорбіт та складні ефіри сорбітану, мікрокристалічну целюлозу, метагідроксид алюмінію, бентоніт, агар-агар та трагакант та їх суміші.

Фармацевтичні композиції відповідно до даного винаходу для ректального або вагінального введення можуть бути представлені у вигляді супозиторію, який можна одержати шляхом змішування однієї або декількох сполук відповідно до даного винаходу з одним або декількома

підходящими неподразняючими ексципієнтами або носіями, включаючи, наприклад, масло какао, поліетиленгліколь, віск для супозиторіїв або саліцилат, та який є твердим при кімнатній температурі, але рідким при температурі тіла та тому буде плавитися у прямій кишці або вагінальній порожнині та вивільняти активну сполуку.

5 Фармацевтичні композиції відповідно до даного винаходу, які є підходящими для вагінального введення, також включають песарії, тампони, креми, гелі, пасти, піни або композиції спреїв, що містять такі носії, які відомі з рівня техніки як підходящі.

Лікарські форми для місцевого або кризьшкірного введення сполуки відповідно до даного винаходу включають порошки, спреї, мазі, пасти, креми, лосьйони, гелі, розчини, пластири та  
10 препарати для інгаляцій. Активна сполука може бути змішана у стерильних умовах з фармацевтично прийнятним носієм та з будь-якими консервантами, буферами або пропелентами, які можуть знадобитися.

Мазі, пасти, креми та гелі можуть містити, крім активної сполуки відповідно до даного винаходу, ексципієнти, такі як тваринні та рослинні жири, масла, воски, парафіни, крохмаль, трагакант, похідні целюлози, поліетиленгліколі, силікони, бентоніти, кремінна кислота, тальк та  
15 оксид цинку або їх суміші.

Порошки та спреї можуть містити, крім сполуки відповідно до даного винаходу, ексципієнти, такі як лактоза, тальк, кремінна кислота, гідроксид алюмінію, силікати кальцію та поліамідний порошок або суміші таких речовин. Спреї додатково можуть містити традиційні пропеленти, такі  
20 як хлорфторвуглеводні та леткі незаміщені вуглеводні, такі як бутан та пропан.

Кризьшкірні пластири мають додаткову перевагу, забезпечуючи контрольовану доставку сполуки відповідно до даного винаходу у організм. Такі лікарські форми можна одержати шляхом розчинення або диспергування сполуки у підходящому середовищі. Підсилювачі абсорбції також можна використовувати для збільшення потоку сполуки через шкіру. Швидкість  
25 такого потоку можна контролювати або шляхом забезпечення контролюючої швидкості мембрани, або шляхом диспергування сполуки у полімерній матриці або гелі.

Офтальмічні композиції, очні мазі, порошки, розчини тощо також передбачаються як такі, що охоплюються обсягом даного винаходу.

Фармацевтичні композиції відповідно до даного винаходу, що підходять для парентерального введення, включають одну або кілька сполук відповідно до даного винаходу у об'єднанні з одним або декількома фармацевтично прийнятними стерильними ізотонічними водними або неводними розчинами, дисперсіями, суспензіями або емульсіями або стерильними порошками, які можуть бути реструктуровані з одержанням стерильних розчинів або дисперсій для ін'єкцій безпосередньо перед використанням, які можуть містити цукри, спирти, антиоксиданти, буфери, бактеріостатичні речовини, розчинені речовини, які роблять композицію ізотонічною з кров'ю передбачуваного реципієнта, або суспендуючі речовини або згущувачі.  
35

Приклади підходящих водних та неводних носіїв, які можна використовувати у фармацевтичних композиціях відповідно до даного винаходу, включають воду, етанол, поліолі (такі як гліцерин, пропіленгліколь, поліетиленгліколь та подібні) та підходящі суміші таких речовин, рослинні олії, такі як маслинове масло, та органічні складні ефіри для ін'єкцій, такі як етилолеат. Підходящу текучість можна підтримувати, наприклад, з використанням речовин для покриття, таких як лецитин, шляхом підтримки необхідного розміру часток у випадку дисперсій та шляхом використання поверхнево-активних речовин.  
40

Ці композиції також можуть містити ад'юванти, такі як консерванти, змочуючі речовини, емульгатори та диспергуючі речовини. Запобігання дії мікроорганізмів на сполуки відповідно до даного винаходу можна забезпечити шляхом включення різних антибактеріальних та протигрибкових засобів, наприклад, парабену, хлорбутанолу, фенолсорбінової кислоти та подібних. Також може бути бажаним включення у композиції ізотонічних речовин, таких як цукри, хлорид натрію та подібні. Крім того, пролонговану абсорбцію фармацевтичної форми для ін'єкцій можна одержати шляхом включення речовин, які уповільнюють абсорбцію, таких як моностеарат алюмінію та желатин.  
50

У деяких випадках для пролонгування дії лікарського засобу бажано уповільнити абсорбцію лікарського засобу з підшкірної або внутрішньом'язової ін'єкції. Це можна здійснити з використанням рідкої суспензії кристалічної або аморфної речовини, що має погану водорозчинність. Швидкість абсорбції лікарського засобу у цьому випадку залежить від швидкості його розчинення, яка, у свою чергу, може залежати від розміру кристала та кристалічної форми. Альтернативно, уповільнену абсорбцію лікарської форми, що вводиться парентерально, одержують шляхом розчинення або суспендування лікарського засобу у масляному носії.  
55

Депо форми для ін'єкцій одержують шляхом формування матриці для мікроінкапсулювання сполук відповідно до даного винаходу у полімерах, що біорозкладаються, таких як полілактид-полігліколід. Залежно від відношення лікарського засобу до полімеру та природи конкретного використовуваного полімеру швидкість вивільнення лікарського засобу можна контролювати.

5 Приклади інших полімерів, що біорозкладаються, включають полі(ортоєфіри) та полі(ангідриди). Депо форми для ін'єкцій також одержують шляхом включення лікарського засобу у ліпосоми або мікроемульсії, які сумісні із тканиною організму.

Коли сполуки відповідно до даного винаходу вводять у вигляді фармацевтичних засобів людині та тваринам, їх можна вводити *per se* або у вигляді фармацевтичної композиції, що містить, наприклад, від 0,1 до 99 % (більш переважно, від 10 до 30 %) активного інгредієнту у комбінації з фармацевтично прийнятним носієм.

10 Препарати відповідно до даного винаходу можна вводити перорально, парентерально, місцево або ректально. Їх, безумовно, вводять у формах, що підходять для кожного шляху введення. Наприклад, їх вводять у формі таблеток або капсул, шляхом ін'єкції, інгаляції, у вигляді очного лосьйону, мазі, супозиторію тощо, введення здійснюють шляхом ін'єкції, інфузії або інгаляції; місцевим шляхом з використанням лосьйону або мазі; та ректальним шляхом з використанням супозиторіїв. Пероральні введення є кращими.

15 Фрази "парентеральне введення" та "що вводиться парентерально", як це використовується у даній заявці, означають способи введення, відмінні від ентерального та місцевого введення, звичайно шляхом ін'єкції, та включають, без обмеження, внутрішньовенну, внутрішньом'язову, інтраартеріальну, інтратекальну, інтракапсулярну, інтраорбітальну, інтракардіальну, внутрішньошкірну, інтраперитонеальну, транстрахеальну, підшкірну, субкутикулярну, інтраартикулярну, субкапсулярну, субарахіноїдальну, інтраспінальну та інтрастернальну ін'єкцію та інфузію.

25 Фрази "системне введення", "що вводиться системно", "периферійне введення" та "що вводиться периферійно", як це використовується у даній заявці, означають введення сполуки, лікарського засобу або іншої речовини, відмінне від введення безпосередньо у центральну нервову систему, таким чином, щоб вона надходила у систему пацієнта й, таким чином, зазнала метаболізму та інших подібних процесів, наприклад, підшкірне введення.

30 Ці сполуки можна вводити людині та іншим тваринам для лікування будь-яким підходящим шляхом введення, у тому числі перорально, назально, наприклад, у вигляді спрею, ректально, інтравагінально, парентерально, інтрацистернально та місцево, наприклад, у формі порошків, мазей або крапель, включаючи букальне та сублінгвальне введення.

35 Незалежно від обраного шляху введення, сполуки відповідно до даного винаходу, які можна використовувати у підходящій гідратованій формі, та/або фармацевтичні композиції відповідно до даного винаходу формують у фармацевтично прийнятні лікарські форми за традиційними способами, відомими фахівцям у даній галузі.

40 Фактичні рівні доз активних інгредієнтів у фармацевтичних композиціях відповідно до даного винаходу можуть варіюватися таким чином, щоб забезпечувати кількість активного інгредієнту, яка є ефективною для досягнення бажаної терапевтичної відповіді для конкретного пацієнта, композиції та шляху введення, не будучи при цьому токсичними для пацієнта.

45 Вибраний рівень доз буде залежати від різних факторів, включаючи активність конкретної використовуваної сполуки відповідно до даного винаходу або її складного ефіру, солі або аміду, шлях введення, час введення, швидкість екскреції або метаболізму конкретної використовуваної сполуки, швидкість та ступінь абсорбції, тривалість лікування, інші лікарські засоби, сполуки та/або речовини, використовувані у комбінації з конкретною використовуваною сполукою, вік, стать, масу тіла, стан, загальний стан здоров'я та попередню медичну історію пацієнта, якого лікують, та подібні фактори, добре відомі у медицині.

50 Лікар або ветеринар із середньою кваліфікацією легко зможе визначити та прописати ефективну кількість фармацевтичної композиції, яка потрібна. Наприклад, лікар або ветеринар може почати з доз сполук відповідно до даного винаходу, використовуваних у фармацевтичній композиції, на рівнях нижче тих, які необхідні для досягнення бажаного терапевтичного ефекту, та поступово збільшувати дозу аж до досягнення бажаного ефекту.

55 Як правило, підходяща добова доза сполуки відповідно до даного винаходу буде являти собою таку кількість сполуки, яка являє собою найнижчу дозу, ефективну для забезпечення терапевтичного ефекту. Така ефективна доза, як правило, залежить від факторів, описаних вище. Як правило, пероральні, внутрішньовенні, інтрацеребровентрикулярні та підшкірні дози сполук відповідно до даного винаходу для пацієнта, коли їх використовують для показаних анагетичних ефектів, знаходяться у межах від близько 0,0001 до близько 100 мг на кілограм маси тіла на день.

60



Якщо бажано, ефективну добову дозу активної сполуки можна вводити у вигляді двох, трьох, чотирьох, п'яти, шести або більше дробових доз, що вводяться роздільно з підходящими інтервалами часу протягом дня, необов'язково, у стандартних лікарських формах.

РК параметри *in vivo* можуть бути використані для оцінки РК параметрів людини. Із застосуванням різних способів, відомих у даній галузі для прогнозування РК людини, можна оцінити прогнозований кліренс людини. Наприклад, (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)-нікотинамід (приклад 9) за оцінками становить 3 мл/хвил./кг, та об'єм розподілу оцінюється як 1 л/кг. Прогнозована ефективна добова доза для людини для сполуки прикладу 9, тому, була визначена як така, що знаходиться у межах від 90 до 130 мг/день.

Хоча сполуку відповідно до даного винаходу можна вводити окремо, кращим є введення сполуки у вигляді фармацевтичного препарату (композиції).

Сполуки відповідно до даного винаходу можуть бути сформульовані для введення будь-яким зручним шляхом для застосування у лікуванні людини або у ветеринарії, аналогічно іншим фармацевтичним засобам.

У іншому аспекті даний винахід забезпечує фармацевтично прийнятні композиції, які включають терапевтично ефективну кількість однієї або декількох сполук відповідно до даного винаходу, описаних вище, сформульованих разом з одним або декількома фармацевтично прийнятними носіями (добавками) та/або розріджувачами. Як докладно описано нижче, фармацевтичні композиції відповідно до даного винаходу можуть бути спеціально сформульовані для введення у твердій або рідкій формі, включаючи призначені для наступного: (1) перорального введення, наприклад, змочувальні препарати (водні або неводні розчини або суспензії), таблетки, болюси, порошки, гранули, пасти для нанесення на язик; (2) парентерального введення, наприклад, за допомогою підшкірної, внутрішньом'язової або внутрішньовенної ін'єкції, наприклад, у вигляді стерильного розчину або суспензії; (3) місцевого нанесення, наприклад, у вигляді крему, мазі або спрею для нанесення на шкіру, легені або слизові оболонки; (4) інтравагінального або інтраректального введення, наприклад, у вигляді песарію, крему або піни; (5) сублінгвального або букального введення; (6) очного введення; (7) кризьшкірного введення; (8) назального введення.

Термін "лікування" призначений для охоплення також профілактики, терапії та лікування.

Пацієнт, що приймає таке лікування, являє собою будь-яку тварину, яка цього потребує, включаючи приматів, зокрема людину, та інших ссавців, таких як кінь, велика рогата худоба, свині та вівці; а також домашню птицю та свійських тварин у цілому.

Технологія мікроемульгування може покращити біодоступність деяких ліпофільних (не розчинних у воді) фармацевтичних засобів. Приклади включають Триметрин (Dordunoo, S. K., et al., Drug Development and Industrial Pharmacy, 17(12), 1685-1713, 1991) та REV 5901 (Sheen, P. C., et al., J Pharm Sci 80(7), 712-714, 1991). Окрім іншого, мікроемульгування забезпечує підвищену біодоступність шляхом переважного спрямовування абсорбції на лімфатичну систему замість системи кровотоку, яка, таким чином, обходить печінку та попереджає розкладання сполук у гепатобіліарному кровообігу.

Хоча передбачаються всі підходящі амфіфільні носії, у даному винаході кращими носіями в основному є такі, які мають офіційне маркування "Визнаний нешкідливим" (Generally-recognized-as-safe (GRAS)) та які можуть як розчиняти сполуку відповідно до даного винаходу, так і мікроемульгувати її на більш пізній стадії, коли розчин приходить у контакт із комплексною водною фазою (такою як у шлунково-кишковому тракті людини). Звичайно амфіфільні інгредієнти, які задовольняють цим вимогам, мають HLB (гідрофільно-ліпофільний баланс) значення 2-20, та їх структури містять аліфатичні радикали з лінійним ланцюгом у межах від C-6 до C-20. Прикладами є поліетилен-гліколізувані гліцериди жирних кислот та поліетиленгліколи.

Особливо передбачаються комерційно доступні амфіфільні носії, включаючи ряд Гелуцирових носіїв, Лабрафіл, Лабразол або Лауроґліколь (виробник та постачальник усіх перерахованих вище Gattefosse Corporation, Saint Priest, France), PEG-моно-олеат, PEG-ді-олеат, PEG-моно-лаурат та ди-лаурат, Лецитин, Полісорбат 80 та т. п. (виробляються та поставляються низкою компаній у США та по всьому світу).

Гідрофільні полімери, що підходять для використання у даньому винаході, являють собою такі, які є легко водорозчинними, можуть бути ковалентно зв'язані з везикулоутворюючим ліпідом та які є переносимими *in vivo* без токсичних ефектів (тобто є біосумісними). Підходящі полімери включають поліетиленгліколь (PEG), полімолочну кислоту (що також називають полілактидом), полігліколеву кислоту (що також називають полігліколідом), співполімер полімолочної-полігліколевої кислоти та полівініловий спирт. Кращі полімери являють собою такі, які мають молекулярну масу від близько 100 або 120 дальтон до близько 5000 або 10000

дальтон та більш переважно від близько 300 дальтон до близько 5000 дальтон. У особливо кращому варіанті втілення полімер являє собою поліетиленгліколь, що має молекулярну масу від близько 100 до близько 5000 дальтон та більш переважно має молекулярну масу від близько 300 до близько 5000 дальтон. У особливо кращому варіанті втілення полімер являє собою поліетиленгліколь із молекулярною масою 750 дальтон (PEG(750)). Полімери також можуть визначатися за кількістю мономерів у них; у кращому варіанті втілення даного винаходу використовують полімери, що складаються із щонайменше близько трьох мономерів, такі PEG полімери, що складаються із трьох мономерів (приблизно 150 дальтон).

Інші гідрофільні полімери, які можуть бути підходящими для використання у даному винаході, включають полівінілпіролідон, поліметоксазолін, поліетилотоксазолін, полігідроксипропіл метакриламід, поліметакриламід, полідиметилакриламід та похідні целюлози, такі як гідроксиметилцелюлоза або гідроксиетилцелюлоза.

У деяких варіантах втілення композиція відповідно до даного винаходу включає біосуміний полімер, вибраний з групи, яка включає поліаміди, полікарбонати, поліалкілени, полімери складних ефірів акрилової та метакрилової кислот, полівінілові полімери, полігліколіди, полісилоксани, поліуретани та їх співполімери, целюлози, поліпропілен, поліетилен, полістирол, полімери молочної кислоти та гліколевої кислоти, поліангідриди, полі(орто)ефіри, полі(масляну кислоту), полі(валеріанову кислоту), полі(лактид-со-капролактон), полісахариди, білки, полігіалуронові кислоти, поліціаноакрилати та їх композиції, суміші або співполімери.

Циклодекстрини являють собою циклічні олігосахариди, що складаються з 6, 7 або 8 глюкозних ланок, які позначаються грецькими літерами альфа, бета або гама, відповідно. Невідомо про існування циклодекстринів, що містять менше шести глюкозних ланок. Глюкозні ланки зв'язані альфа-1,4-глюкозидними зв'язками. Як наслідок конформації крісла цукрових ланок, усі вторинні гідроксильні групи (по C-2, C-3) розташовані на одному боці кільця, тоді як усі первинні гідроксильні групи по C-6 розташовані на іншому боці. Як результат, зовнішні сторони є гідрофільними, роблячи циклодекстрини водорозчинними. На відміну від цього, порожнини циклодекстринів є гідрофобними, оскільки вони вистелені воднем атомів C-3 та C-5 та ефір-подібними киснями. Ці матриці уможливають комплексоутворення з різними відносно гідрофобними сполуками, включаючи, наприклад, стероїдні сполуки, такі як бета-естрадіол (див., наприклад, van Uden et al. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 38:1-3-113 (1994)). Комплексоутворення відбувається за допомогою ван-дер-ваальсових взаємодій та шляхом утворення водневих зв'язків. Загальний огляд хімії циклодекстринів див. у Wenz, Agnew. *Chem. Int. Ed. Engl.*, 33:803-822 (1994).

Фізико-хімічні властивості циклодекстринових похідних сильно залежать від типу та ступеню заміщення. Наприклад, їхня розчинність у воді знаходиться у діапазоні від нерозчинних (наприклад, триацетил-бета-циклодекстрин) до розчинності 147 % (мас/об) (G-2-бета-циклодекстрин). Крім того, вони розчинні у багатьох органічних розчинниках. Властивості циклодекстринів дозволяють контролювати розчинність різних компонентів композиції шляхом збільшення або зменшення їх розчинності.

Були описані різні циклодекстрини та способи їх одержання. Наприклад, Parmeter (I), et al. (Патент США № 3453259) та Gramera, et al. (Патент США № 3459731) описують електронейтральні циклодекстрини. Інші похідні включають циклодекстрини з катіонними властивостями [Parmeter (II), Патент США № 3453257], нерозчинні зшиті циклодекстрини (Solms, Патент США № 3420788) та циклодекстрини з аніонними властивостями [Parmeter (III), Патент США № 3426011]. Із циклодекстринових похідних з аніонними властивостями можна вказати такі, де карбонові кислоти, фосфористі кислоти, фосфінові кислоти, фосфонові кислоти, фосфорні кислоти, тіофосфонові кислоти, тіосульфонові кислоти та сульфонові кислоти приєднані до батьківського циклодекстрину [див. Parmeter (III), *supra*]. Крім того, сульфоалкілефірні похідні циклодекстринів описані Stella, et al. (Патент США № 5134127).

Ліпосоми складаються із щонайменше однієї ліпідної бішарової оболонки, що містить у собі водний внутрішній компартмент. Ліпосоми можуть бути охарактеризовані по типу та по розміру оболонки. Невеликі одношарові везикули (SUV) мають одну оболонку та типовий діаметр у межах від 0,02 до 0,05 мкм; великі одношарові везикули (LUVS) типово більше, ніж 0,05 мкм. Оліголамельярні великі везикули та мультиламельярні везикули мають декілька, звичайно концентричних, шарів оболонки, та вони типово більше ніж 0,1 мкм. Ліпосоми з декількома неконцентричними оболонками, тобто декількома більш дрібними везикулами, що містяться у більшій везикулі, називають мультивезикулярними везикулами.

Один аспект даного винаходу відноситься до композицій, що включають ліпосоми, що містять сполуку відповідно до даного винаходу, де оболонка ліпосоми сформульована для забезпечення ліпосоми з підвищеною несучою здатністю. Альтернативно або на додаток до

цього, сполука відповідно до даного винаходу може міститися у, або бути адсорбована на, ліпосомному бішарі ліпосоми. Сполука відповідно до даного винаходу може бути агрегована з ліпідною поверхнево-активною речовиною та може транспортуватися, перебуваючи у внутрішньому просторі ліпосоми; у цих випадках ліпосомна оболонка сформульована таким

5

чином, щоб бути стійкою до руйнівних ефектів агрегату активний засіб-поверхнево-активна речовина.

Відповідно з одним варіантом втілення даного винаходу ліпідний бішар ліпосоми містить ліпіди, дериватизовані поліетиленгліколем (PEG) таким чином, щоб PEG ланцюги простиралися від внутрішньої поверхні ліпідного бішару у внутрішній простір, інкапсульований ліпосомою, та простиралися від зовнішньої поверхні ліпідного бішару у оточуюче середовище.

10

Активні речовини, що містяться у ліпосомах відповідно до даного винаходу, знаходяться у солюбілізованій формі. Агрегати, що складаються з поверхнево-активної речовини та активної речовини (такі як емульсії або міцели, що містять активну речовину, що представляє інтерес), можуть бути поміщені у внутрішньому просторі ліпосом відповідно до даного винаходу.

15

Поверхнево-активна речовина діє як агент, що диспергує та солюбілізує активну речовину, та може бути вибрана з будь-якої підходящої аліфатичної, циклоаліфатичної або ароматичної поверхнево-активної речовини, включаючи, але не обмежуючись цим, біосумісні лізофосфатидилхоліни (LPC) з різною довжиною ланцюгів (наприклад, від близько C<sub>14</sub> до близько C<sub>20</sub>). Полімер-дериватизовані ліпіди, такі як PEG-ліпіди, також можна використовувати для міцелоутворення, оскільки їх дія спрямована на інгібування злиття міцела/оболонка, та оскільки приєднання полімеру до молекул поверхнево-активної речовини знижує СМС поверхнево-активної речовини та сприяє міцелоутворенню. Кращими є поверхнево-активні речовини з СМС у мікромолярному діапазоні; поверхнево-активні речовини з більш високим СМС можна використовувати для одержання міцел, поміщених у ліпосоми відповідно до даного винаходу, однак міцелярні поверхнево-активні мономерні речовини можуть впливати на стабільність ліпосомного бішару та можуть бути рушійною силою у розробці ліпосом бажаної стабільності.

20

25

Ліпосоми у відповідності з даним винаходом можна отримати будь-яким з різних способів, які відомі з рівня техніки. Див., наприклад, Патент США № 4235871; опубліковані заявки РСТ WO 96/14057; New RRC, Liposomes: A practical approach, IRL Press, Oxford (1990), pages 33-104; Lasic DD, Liposomes from physics to applications, Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, 1993.

30

Наприклад, ліпосоми відповідно до даного винаходу можна одержати шляхом дифундування ліпіду, дериватизованого гідрофільним полімером, у попередньо сформовані ліпосоми, наприклад, піддаючи попередньо сформовані ліпосоми контактуванню з міцелами, утвореними з ліпідпривитих полімерів, при концентраціях ліпідів, що відповідають кінцевому мольному відсотку дериватизованого ліпіду, який є бажаним, у ліпосомі. Ліпосоми, що містять гідрофільний полімер, також можуть бути утворені шляхом гомогенізації, гідратування ліпідної області або методами екструзії, як це відомо з рівня техніки.

35

У одному аспекті даного винаходу ліпосоми одержують таким чином, щоб вони мали по суті гомогенні розміри у обраному розмірному діапазоні. Один ефективний спосіб класифікації за розміром включає екструзування водної суспензії ліпосом через ряд полікарбонатних мембран, що мають вибраний однаковий розмір пор; розмір пор мембрани повинен приблизно відповідати найбільшим розмірам ліпосом, які одержують шляхом екструзії через таку мембрану. Див., наприклад, Патент США № 4737323 (12 квітня 1988 р.).

45

Характеристики вивільнення препарату відповідно до даного винаходу залежать від інкапсулюючої речовини, концентрації інкапсульованого лікарського засобу та присутності модифікаторів вивільнення. Наприклад, вивільненням можна маніпулювати, оскільки воно є рН залежним, наприклад, з використанням рН-чутливого покриття, яке вивільняє тільки при низькому рН, як, наприклад, у шлунку, або при більш високому рН, як, наприклад, у кишечнику.

50

Ентеросолюбільне покриття можна використовувати для запобігання вивільненню доти, поки препарат не пройде через шлунок. Можна використовувати кілька покриттів або суміші ціанаміду, інкапсульованого у різних речовинах, для одержання початкового вивільнення у шлунку з наступним більш пізнім вивільненням у кишечнику. Вивільненням також можна маніпулювати шляхом включення солей або пороутворюючих речовин, які можуть підвищувати водопоглинення або вивільняти лікарський засіб за допомогою дифузії з капсули. Експіканти, які модифікують розчинність лікарського засобу, також можна використовувати для контролювання швидкості вивільнення. Речовини, які підсилюють руйнування матриці або вивільняють із матриці, також можуть бути включені. Вони можуть бути додані до лікарського засобу, додані у вигляді окремої фази (тобто у вигляді дрібних часток) або можуть бути спільно розчинені у полімерній фазі, залежно від сполуки. У всіх випадках кількість повинна знаходитися

55

60

у межах від 0,1 до тридцяти відсотків (мас./мас. полімеру). Типи речовин, які підсилюють руйнування, включають неорганічні солі, такі як сульфат амонію та хлорид амонію, органічні кислоти, такі як лимонна кислота, бензойна кислота та аскорбінова кислота, неорганічні основи, такі як карбонат натрію, карбонат калію, карбонат кальцію, карбонат цинку та гідроксид цинку, та органічні основи, такі як протамінсульфат, спермін, холін, етаноламін, діетаноламін та триетаноламін, та поверхнево-активні речовини, такі як Tween® та Pluronic®. Пороутворюючі речовини, які додають мікроструктуру матрицям (тобто водорозчинні сполуки, такі як неорганічні солі та цукри), додають у вигляді твердих часток. Діапазон повинен становити від одного до тридцяти відсотків (мас./мас. полімеру).

Поглинанням також можна маніпулювати шляхом зміни часу знаходження часток у кишечнику. Це досягається, наприклад, шляхом покриття часток мукозально-адгезивним полімером або вибору його в якості інкапсулюючої речовини. Приклади включають більшість полімерів з вільними карбоксильними групами, такі як хітозан, целюлози та особливо поліакрилати (як використовується у даній заявці, поліакрилати відносяться до полімерів, що включають акрилатні групи та модифіковані акрилатні групи, таких як ціаноакрилати та метакрилати).

#### Фармацевтичні комбінації

Винахід, головним чином, відноситься до застосування сполуки формули (I) (або фармацевтичної композиції, що включає сполуку формули (I)) у лікуванні одного або декількох захворювань, зазначених у даній заявці; де відповідь на лікування є сприятливою, як показано, наприклад, шляхом часткового або повного усунення одного або декількох симптомів захворювання, аж до повного лікування або ремісії.

Філадельфійська хромосома-позитивний (Ph+) ALL становить 15-30 % від ALL дорослих та до 5 % від педіатричних ALL (Faderl S, Garcia-manero G, Thomas D, et al. Philadelphia Chromosome Positive Acute Lymphoblastic Leukemia-Current Concepts and Future Perspectives. Rev Clin Exp Hematol 2002; 6:142-160). Педіатричний Ph+ALL характеризується більш старшим віком (у середньому 9-10 років проти приблизно 4 років для всіх ALL пацієнтів) та більш високим числом WBC при постановці діагнозу. Як у дорослих, так і у дітей Ph+ALL характеризується реципрокальною транслокацією між хромосомами 9 та 22 (t(9; 22)(q34; q11)), що приводить до злиття BCR гену на хромосомі 22 з ABL генними послідовностями, транслокованими із хромосоми 9, приводячи до експресії BCR-ABL1 білку. Існують 2 основних варіанти BCR-ABL1, p190BCR-ABL1, обумовлений у приблизно 85 % Ph+ALL пацієнтів, та p210 BCR-ABL1, типовий для CML, ідентифікований у приблизно 15 % Ph+ALL пацієнтів (Dombret H, Galbert J, Boiron J, et al. Outcome of Treatment in Adults with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia-Results of the prospective multicenter LALA-94 trial. Blood 2002; 100:2357-2366; Faderl S, Garcia-manero G, Thomas D, et al. Philadelphia Chromosome Positive Acute Lymphoblastic Leukemia-Current Concepts and Future Perspectives. Rev Clin Exp Hematol 2002; 6:142-160).

Лікування ALL основане на класифікації ризику для кожного пацієнта, з підвищенням інтенсивності лікування для пацієнтів, які мають більший ризик рецидиву; ця стратегія максимізує швидкості ремісії, при цьому обмежуючи непотрібні токсичності. Прогрес поступово збільшувався, від введення комбінованої хіміотерапії та лікування передсимптоматичного лейкозу центральної нервової системи до більш нових інтенсивних схем лікування для пацієнтів, які мають більший ризик рецидиву (C. H. Pui and W. E. Evans. Acute Lymphoblastic Leukemia New Engl J Med 1998; 339:605-615). До розробки іматинібу Ph+ALL пацієнтів лікували за допомогою інтенсивної хіміотерапії з наступною трансплантацією гематопоетичних стовбурових клітин (HSCT), ідеально з підходящим родинним донором, оскільки було показано, що це приводить до поліпшеного EFS проти будь-якого HSCT з іншими донорами або хіміотерапії, використовуваної окремо. У цілому та на відміну від більшості педіатричних пацієнтів з ALL, пацієнти з Ph+ALL мали погані прогнози з низьким відсотком виживання без несприятливих подій (EFS) (Arico M, Valsecchi M G, Camitta B, Schrappe M, Chessells J, Baruchel A, Gaynon P, Silverman L, Janka-Schaub G, Kamps W, et al. New Engl J Med 2000; 342:998-1006).

Існуючі терапії (такі як GLEEVEC®, TASIGNA®, SPRYCEL®, BOSULIF®, ICLUSIG™ та подібні) зв'язуються з АТФ-зв'язуючим сайтом кіназного домену. На відміну від цього, сполуки відповідно до даного винаходу є потужними інгібіторами BCR-ABL1, ABL1 та ABL2, які зв'язуються із сайтом на кіназному домені, який відрізняється від АТФ-зв'язуючого сайту.

Тому сполуки відповідно до даного винаходу з їхнім новим, алостеричним механізмом дії можуть бути використані як самостійна терапія або можуть бути використані послідовно або у комбінації з існуючими терапіями, вибраними з GLEEVEC®, TASIGNA®, SPRYCEL®, BOSULIF® та ICLUSIG™.

У якості самостійної терапії сполуки відповідно до даного винаходу можуть бути використані для лікування BCR-ABL1, ABL1 та ABL 2-споріднених захворювань та розладів. BCR-ABL1 може бути дикого типу або мутантним BCR-ABL1, вибраним з V299L, T315I, F317I/L, Y253F/H, E255K/V та F359C/V. Сполуки відповідно до даного винаходу можуть бути використані для лікування пацієнтів, які не реагують на існуючі методи лікування у результаті мутацій, що виникають у АТР-зв'язуючому сайті. У якості комбінованої терапії сполуки відповідно до даного винаходу являють собою унікальну можливість для лікування пацієнтів з Ph<sup>+</sup> лейкозом з використанням комбінації двох потужних, механістично різних інгібіторів BCR-ABL. Комбінований підхід у клініці може забезпечити пацієнтів з більш глибоким та більш стійким скороченням пухлинного навантаження зі зниженням ризику рецидиву.

У іншому варіанті втілення даного винаходу представлений спосіб лікування теплокрової тварини, що має лейкоз, вибраний із хронічного мієлолейкозу (CML) та гострого лімфобластного лейкозу (ALL), що включає введення зазначеній тварині терапевтично ефективної кількості сполуки відповідно до даного винаходу або її фармацевтично прийнятної солі.

У наступному варіанті втілення теплокровна тварина являє собою людину (пацієнта).

У наступному варіанті втілення сполука відповідно до даного винаходу являє собою (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід (приклад 9) або його фармацевтично прийнятну сіль.

У іншому варіанті втілення даного винаходу представлений спосіб лікування теплокрової тварини, що має лейкоз, вибраний з хронічного мієлолейкозу (CML) та гострого лімфобластного лейкозу (ALL), що включає послідовне введення зазначеній тварині терапевтично ефективної кількості сполуки відповідно до даного винаходу або її фармацевтично прийнятної солі та терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з іматинібу, нілотинібу, дазатинібу, босутинібу, понатинібу та бафетинібу.

У наступному варіанті втілення теплокровна тварина являє собою людину (пацієнта).

У наступному варіанті втілення сполука відповідно до даного винаходу являє собою (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід (приклад 9) або його фармацевтично прийнятну сіль.

У наступному варіанті втілення доза (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід (приклад 9) складає 90-130 мг.

У наступному варіанті втілення доза нілотинібу складає 10-50 мг/кг, іматинібу складає 50-200 мг/кг, дазатинібу складає 5-20 мг/кг або понатинібу складає 2-10 мг/кг.

У наступному варіанті втілення доза босутинібу складає 500 мг.

У іншому варіанті втілення даного винаходу представлений спосіб лікування теплокрової тварини, що має лейкоз, вибраний з хронічного мієлолейкозу (CML) та гострого лімфобластного лейкозу (ALL), що включає одночасне введення зазначеній тварині терапевтично ефективної кількості сполуки відповідно до даного винаходу або її фармацевтично прийнятної солі та терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з іматинібу, нілотинібу, дазатинібу, босутинібу, понатинібу та бафетинібу.

У наступному варіанті втілення теплокровна тварина являє собою людину (пацієнта).

У наступному варіанті втілення сполука відповідно до даного винаходу являє собою (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід (приклад 9) або його фармацевтично прийнятну сіль.

У наступному варіанті втілення доза (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід (приклад 9) складає 90-130 мг.

У наступному варіанті втілення доза нілотинібу складає 10-50 мг/кг, іматинібу складає 50-200 мг/кг, дазатинібу складає 5-20 мг/кг або понатинібу складає 2-10 мг/кг.

У наступному варіанті втілення доза босутинібу складає 500 мг.

У іншому варіанті втілення даного винаходу представлений спосіб лікування теплокрової тварини, що має лейкоз, вибраний з хронічного мієлолейкозу (CML) та гострого лімфобластного лейкозу (ALL), що включає одночасне введення зазначеній тварині терапевтично ефективної кількості (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід (приклад 9) або його фармацевтично прийнятної солі та терапевтично ефективної кількості нілотинібу.

У іншому варіанті втілення даного винаходу представлений спосіб лікування теплокрової тварини, що має лейкоз, вибраний з хронічного мієлолейкозу (CML) та гострого лімфобластного лейкозу (ALL), що включає одночасне введення зазначеній тварині терапевтично ефективної кількості (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід (приклад 9) або його фармацевтично прийнятної солі та терапевтично ефективної кількості нілотинібу.

Сполуку формули (I) також можна використовувати у комбінації з іншими протипухлинними сполуками. Такі сполуки включають, але не обмежуються цим, інгібітори рибонуклеотидредуктази, інгібітори топоізомерази I; JAK інгібітори, такі як руксолітиніб; інгібітори *smoothened*, такі як LDE225; інтерферон; інгібітори топоізомерази II; діючі на мікротрубочки активні сполуки; алкілюючі сполуки; інгібітори гістон деацетилази; інгібітори mTOR, такі як RAD001; протипухлинні антиметаболіти; сполуки платини; сполуки, що прицільно діють на/знижують протеїн- або ліпідкіназну активність, інгібітори метіонінамінопептидази; модифікатори біологічної відповіді; інгібітори Ras онкогенних ізоформ; інгібітори теломерази; інгібітори протеасоми; сполуки, що використовуються у лікуванні гематологічних злоякісних захворювань, такі як флударабін; сполуки, які прицільно діють на, знижують або інгібують активність PKC, такі як мідостаурин; інгібітори HSP90, такі як 17-AAG (17-аліламіногелданаміцин, NSC330507), 17-DMAG (17-диметиламіноетиламіно-17-деметоксигелданаміцин, NSC707545), IPI-504, CNF1010, CNF2024, CNF1010 від компанії Conforma Therapeutics, HSP990 та AUY922; темозоломід (TEMODAL®); інгібітори кінезинового веретенного білку, такі як SB715992 або SB743921 від компанії GlaxoSmithKline або пентамідин/хлорпромазин від компанії CombinatoRx; інгібітори PI3K, такі як BEZ235, BKM120 або BYL719; інгібітори MEK, такі як ARRY142886 від компанії Array BioPharma, AZD6244 від компанії AstraZeneca, PD181461 від компанії Pfizer, лейковорин, EDG зв'язуючі, антилейкемічні сполуки, інгібітори S-аденозилметіонін декарбоксілази, антипроліферативні антитіла або інші хіміотерапевтичні сполуки. Крім того, альтернативно або на додаток до цього, їх можна використовувати у комбінації з іонізуючим опроміненням. Крім того, альтернативно або на додаток, вони можуть бути використані у комбінації з JAK інгібіторами, такими як руксолітиніб.

Крім того, альтернативно або на додаток, вони можуть бути використані у комбінації з інгібіторами *smoothened*, такими як LDE225.

Крім того, альтернативно або на додаток вони можуть бути використані у комбінації з інтерфероном.

Термін "інгібітори рибонуклеотидредуктази" відноситься до піримідинових або пуринових нуклеозидних аналогів, включаючи, але не обмежуючись цим, флударабін та/або цитозин арабінозид (ara-C), 6-тіогуанін, 5-фторурацил, кладрибін, 6-меркаптопурин (особливо у комбінації з ara-C проти ALL), клофарабін, неларабін (проліки 9- $\beta$ -арабінофуранозилгуанін, ara-G), пентостатин, гідроксисечовину або 2-гідрокси-1H-ізоіндол-1,3-діонові похідні (Nandy et al., Acta Oncologica 1994; 33:953-961).

Термін "інгібітор топоізомерази I", як це використовується у даній заявці, включає, але не обмежується цим, топотекан, гіматекан, іринотекан, камптотеціан та його аналоги, 9-нітрокамптотецин та макромолекулярний камптотециновий кон'югат PNU-166148 (сполука A1 в WO99/17804). Іринотекан можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, під торговою маркою CAMPTOSAR. Топотекан можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, під торговою маркою Hycamtin.

Термін "інгібітор топоізомерази II", як це використовується у даній заявці, включає, але не обмежується цим, антрацикліни, такі як доксорубіцин (включаючи ліпосомний препарат, наприклад, CAELYX), даунорубіцин, епірубіцин, ідарубіцин та неморубіцин, антрахінони мітоксантрон та лосоксантрон та подофілотоксини етопозид та теніпозид. Етопозид можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, під торговою маркою ETOPOPHOS. Теніпозид можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, під торговою маркою VM 26-BRISTOL. Доксорубіцин можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, під торговою маркою ADRIBLASTIN або ADRIAMYCIN. Епірубіцин можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, під торговою маркою FARMORUBICIN. Ідарубіцин можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, під торговою маркою ZAVEDOS. Мітоксантрон можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, під торговою маркою NOVANTRON.

Термін "діюча на мікротрубочки активна сполука" відноситься до стабілізуючих мікротрубочки, дестабілізуючих мікротрубочки сполук та інгібіторів полімеризації мікротубуліну, що включають, але не обмежуючись цим, таксани, наприклад, паклітаксел та доцетаксел, алкалоїди барвінку, наприклад, вінбластин, особливо вінбластин сульфат, вінкристин, особливо вінкристин сульфат, та вінорелбін, дискодермоліди, кохіцин та епотилони та їх похідні, наприклад, епотилон B або D або їх похідні. Паклітаксел можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, TAXOL. Доцетаксел можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, під торговою маркою TAXOTERE. Вінбластин сульфат можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, під

торговою маркою VINBLASTIN R.P. Вінкристин сульфат можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, під торговою маркою FARMISTIN. Дискодермолід можна отримати, наприклад, як розкрито у патенті США № 5010099. Також включені похідні епотилону, які розкриті у WO 98/10121, US 6194181, WO 98/25929, WO 98/08849, WO 99/43653, WO 98/22461 та WO 00/31247. Особливо кращими є Епотилон А та/або В.

Термін "алкілююча сполука", як це використовується у даній заявці, включає, але не обмежується цим, циклофосфамід, іфосфамід, мелфалан або нітрозосечовину (BCNU або Gliadel). Циклофосфамід можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, під торговою маркою CYCLOSTIN. Іфосфамід можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, під торговою маркою HOLOXAN.

Термін "інгібітори гістон деацетилази" або "інгібітори HDAC" відноситься до сполук, які інгібують гістон деацетилазу та які мають антипроліферативні активність. Він включає сполуки, такі як LDH589, розкритий у WO 02/22577, особливо N-гідрокси-3-[4-[[2-(гідроксиетил)]2-(1H-індол-3-іл)етил]-аміно]метил]феніл]-2Е-2-пропенамід, N-гідрокси-3-[4-[[2-(2-метил-1H-індол-3-іл)-етил]-аміно]метил]феніл]-2Е-2-пропенамід та його фармацевтично прийнятні солі. Крім того, цей термін особливим чином включає Субероїланлід гідроксамову кислоту (SAHA).

Термін "протипухлинний антиметаболіт" включає, але не обмежується цим, 5-фторурацил або 5-FU, капецитабін, геміцитабін, ДНК деметилуючі сполуки, такі як 5-азацитидин та децитабін, метотрексат та едатрексат, та антагоністи фолієвої кислоти, такі як преметрексед. Капецитабін можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, під торговою маркою XELODA. Геміцитабін можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, під торговою маркою GEMZAR.

Термін "сполука платини", як це використовується у даній заявці, включає, але не обмежується цим, карбоплатин, цис-платин, цисплатину та оксалиплатин. Карбоплатин можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, під торговою маркою CARBOPLAT. Оксалиплатин можна вводити, наприклад, у формі, як він поставляється на ринок, наприклад, під торговою маркою ELOXATIN.

Термін "сполуки, що прицільно діють на/знижують протеїн- або ліпідкіназну активність"; або "протеїн- або ліпідфосфатазну активність", як це використовується у даній заявці, включає, але не обмежується цим, інгібітори тирозинової, та/або серінової, та/або треонінової протеїнкінази або інгібітори ліпідкінази, наприклад:

а) сполуки, які прицільно діють на, знижують або інгібують активність членів ABL1 сімейства, продукти злиття їх генів (наприклад, BCR-ABL1 кіназа) та мутанти, такі як сполуки, які прицільно діють на, знижують або інгібують активність членів ABL1 сімейства та продукти злиття їх генів, наприклад, іматиніб, нілотиніб, дасатиніб, босутиніб, понатиніб, бафетиніб, PD180970, AG957, NSC 680410 та PD173955;

б) сполуки, які прицільно діють на, знижують або інгібують активність членів протеїнкінази C (PKC) та Raf сімейства серінових/треонінових кіназ, членів MEK, SRC, JAK, FAK, PDK1, PKB/Akt та Ras/MAPK сімейства та/або членів сімейства цикліназалежних кіназ (CDK), та особливо ті стауроспоринові похідні, які розкриті у патенті США № 5093330, наприклад, мідостаурин; приклади інших сполук включають, наприклад, UCN-01, сафінгол, BAY 43-9006, Бріостатин 1, Перифосин; Ілмофосин; RO 318220 та RO 320432; GO 6976; Ізис 3521; LY333531/LY379196; ізохінолінові сполуки, такі як сполуки, розкриті у WO 00/09495; FTIs; BEZ235 (інгібітор P13K) або AT7519 (інгібітор CDK);

Термін "інгібітори mTOR" відноситься до сполук, які інгібують мішень рапаміцину у ссавців (mTOR) та які мають антипроліферативну активність, такі як сіролімус (Rapamune®), еверолімус (Certican™), CCI-779 та ABT578.

Термін "модифікатор біологічної відповіді", як це використовується у даній заявці, відноситься до лімфокіну або інтерферонів, наприклад, інтерферону γ.

Термін "інгібітор онкогенних ізоформ Ras", наприклад, H-Ras, K-Ras або N-Ras, як це використовується у даній заявці, відноситься до сполук, які прицільно діють на, знижують або інгібують онкогенну активність Ras, наприклад, "інгібітор фарнезилтрансферази", наприклад, L-744832, DK8G557 або R115777 (Zarnestra).

Термін "інгібітор теломерази", як це використовується у даній заявці, відноситься до сполук, які прицільно діють на, знижують або інгібують активність теломерази. Сполуки, які прицільно діють на, знижують або інгібують активність теломерази, головним чином, являють собою сполуки, які інгібують рецептор теломерази, наприклад, теломестатин.

Термін "інгібітор метіонінамінопептидази", як це використовується у даній заявці, відноситься до сполук, які прицільно діють на, знижують або інгібують активність

метіонінамінопептидази. Сполуки, які прицільно діють на, знижують або інгібують активність метіонінамінопептидази, являють собою, наприклад, бенгамід або його похідну.

Термін "інгібітор протеасоми", як це використовується у даній заявці, відноситься до сполук, які прицільно діють на, знижують або інгібують активність протеасоми. Сполуки, які прицільно діють на, знижують або інгібують активність протеасоми, включають, наприклад, Бортезомід (Velcade™) та MLN 341.

Термін "інгібітори HSP90", як це використовується у даній заявці, включає, але не обмежується цим, сполуки, які прицільно діють на, знижують або інгібують власну АТРазну активність HSP90; руйнують, прицільно діють на, знижують або інгібують HSP90-залежні білки через убіхітинпротеасомний шлях. Сполуки, які прицільно діють на, знижують або інгібують власну АТРазну активність HSP90, головним чином, являють собою сполуки, білки або антитіла, які інгібують АТРазну активність HSP90, наприклад, 17-аліламіно, 17-деметоксигелданаміцин (17AAG), гелданаміцинову похідну; інші гелданаміцин-споріднені сполуки; радицикол та інгібітори HDAC. Приклади інгібіторів HSP90 включають HSP990 та AU922.

Для лікування гострого мієлогенного лейкозу (AML) сполуки формули (I) можна використовувати у комбінації зі стандартними терапіями лейкозу, особливо у комбінації з терапіями, використовуваними для лікування AML. Зокрема, сполуки формули (I) можна вводити у комбінації з, наприклад, інгібіторами фарнезилтрансферази та/або іншими лікарськими засобами, корисними для лікування AML, такими як Даунорубіцин, Адріаміцин, Ага-С, VP-16, Теніпозид, Мітоксантрон, Ідарубіцин, Карбоплатинум та РКС412.

Сполуки, які прицільно діють на, знижують або інгібують активність гістондеацетилази (HDAC), такі як бутират натрію та субероїланлід гідроксамова кислота (SAHA), інгібують активність ферментів, відомих як гістондеацетилази. Конкретні інгібітори HDAC включають MS275, SAHA, FK228 (попередня назва FR901228), Трихостатин А та сполуки, розкриті у патенті США № 6552065, зокрема, N-гідрокси-3-[4-[[[2-(2-метил-1H-індол-3-іл)-етил]-аміно]метил]феніл]-2Е-2-пропенамід або його фармацевтично прийнятну сіль та N-гідрокси-3-[4-[(2-гідроксиетил){2-(1H-індол-3-іл)етил]-аміно]метил]феніл]-2Е-2-пропенамід або його фармацевтично прийнятну сіль, особливо лактатну сіль.

Підходи пошкодження пухлинних клітин відносяться до підходів, таких як іонізуюче випромінювання. Термін "іонізуюче випромінювання", використовуваний вище й далі, означає іонізуюче випромінювання, яке виникає у вигляді або електромагнітних променів (таких як Х-промені та гама промені), або часток (таких як альфа та бета частки). Іонізуюче випромінювання забезпечується, але не обмежується цим, у променевої терапії та відомо з рівня техніки. Див. Hellman, Principles of Radiation Therapy, Cancer, in Principles and Practice of Oncology, Devita et al., Eds., 4<sup>th</sup> Edition, Vol. 1, pp. 248-275 (1993).

Термін "інгібітори S-аденозилметіоніндекарбоксилази", як це використовується у даній заявці, включає, але не обмежується цим, сполуки, розкриті у патенті США № 5461076.

"Інші хіміотерапевтичні сполуки" включають, але не обмежуються цим, рослинні алкалоїди, гормональні сполуки та антагоністи; модифікатори біологічної відповіді, переважно лімфокіни або інтерферони; антисмислові олігонуклеотиди або олігонуклеотидні похідні; shRNA або siRNA; або різні інші сполуки або сполуки з іншим або невідомим механізмом дії.

Структура активних сполук, що визначаються кодовими номерами, родовими або торговими назвами, може бути взята з діючої редакції стандартного довідника "The Merck Index" або з баз даних, наприклад, Patents International (наприклад, IMS World Publications).

Ніяке цитування посилальних документів, яке можна знайти у даному розкритті, не повинне розглядатися як припущення, що ці цитовані посилальні документи є відомим рівнем техніки, який міг би негативно вплинути на патентоздатність даного винаходу.

Способи одержання сполук відповідно до даного винаходу

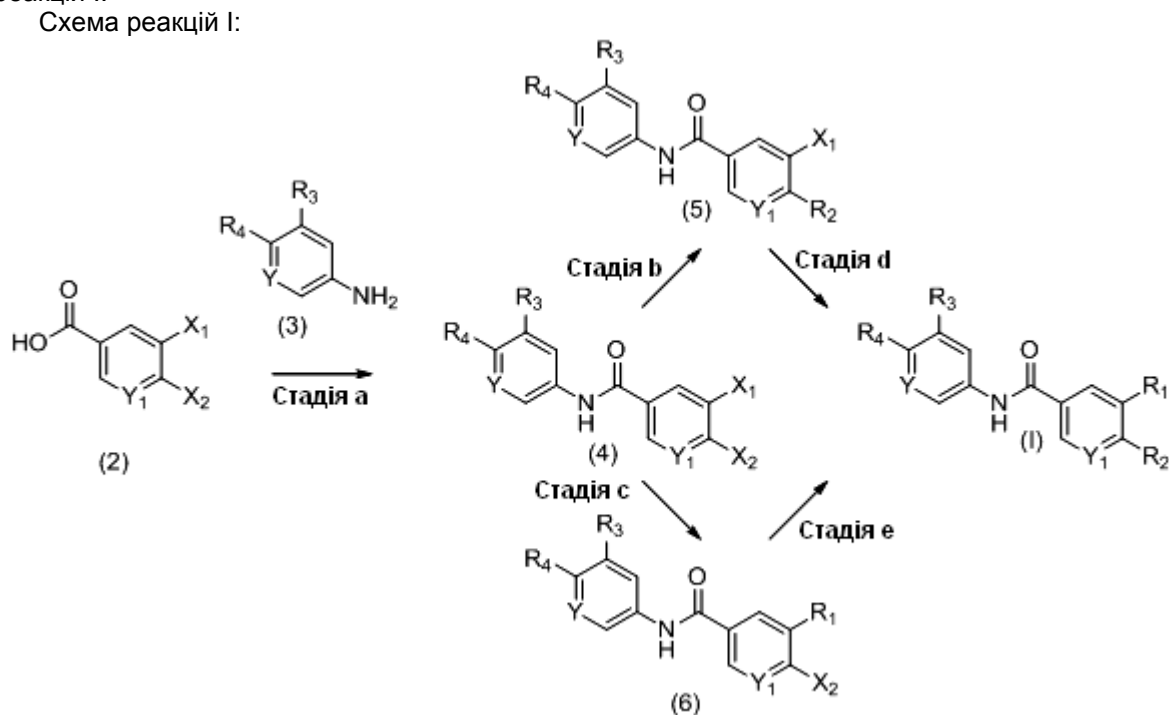
Даний винахід також включає способи одержання сполук відповідно до даного винаходу. У описаних реакціях може бути необхідно захищати реакційноздатні функціональні групи, наприклад, гідрокси, аміно, іміно, тіо або карбоксигрупи, де ці групи є бажаними у кінцевому продукті, для уникнення їх небажаної участі у реакціях. Звичайні захисні групи можна використовувати у відповідності зі стандартною практикою, наприклад, див. T.W. Greene та P. G. M. Wuts in "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley та Sons, 1991.

До значень температур, зазначених раніше або далі у заявці, повинне бути додане "близько" як незначні відхилення від наведених числових значень, наприклад, відхилення  $\pm 10\%$  є припустимими. Усі реакції можуть здійснюватися у присутності одного або декількох розріджувачів та/або розчинників. Вихідні матеріали можна використовувати у еквімолярних кількостях; з іншого боку, сполуку можна використовувати у надлишку, наприклад, для функціонування як розчиннику або для зсуву рівноваги у цілому або, у більшості випадків, для



прискорення швидкості реакції. Реакційні реагенти, такі як кислоти, луги або каталізатори, можна додавати у підходящих кількостях, як відомо у даній галузі, необхідних для реакції, та відповідно до загальновідомих процедур.

5 Сполуки формули (I) можна отримати аналогічно представленому у наступній Схемі реакцій I:



у якій Y, Y<sub>1</sub>, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> та R<sub>4</sub> є такими, як визначено для формули (I) у Короткому описі винаходу, та X<sub>1</sub> та X<sub>2</sub> являють собою атоми галогену, X<sub>1</sub> може бути вибраний з хлору, брому або йоду, та X<sub>2</sub> може бути вибраний з хлору або фтору.

10 Стадія а: сполуку формули (4) можна отримати шляхом взаємодії хлорангідриду кислоти сполуки формули (2) зі сполукою формули (3) у присутності підходящого розчинника (наприклад, тетрагідрофурану або подібного) та органічної основи (наприклад, діізопропілетиламіну або подібного). Реакція протікає при температурі від близько 0°C до  
 15 приблизно кімнатної температури та може протікати приблизно до 2 годин до повного завершення.

Хлорангідрид кислоти сполуки формули (2) можна отримати з використанням хлоруючого агенту (наприклад, тіонілхлориду або оксалілхлориду або подібного) у присутності каталізатору (наприклад, диметилформаміду або подібного) та підходящого розчинника (наприклад, толуолу  
 20 або подібного). Реакція протікає при температурі від кімнатної або при нагріванні до близько 85 °C та може протікати приблизно до 2 годин до повного завершення.

Стадія b: сполуку формули (5) можна отримати шляхом взаємодії сполуки формули (4) з R<sub>2</sub>-H, де R<sub>2</sub> такий, як визначено у Короткому описі винаходу, у присутності підходящого розчинника (наприклад, 2-пропанолу або диметилсульфоксиду або подібного) та підходящої органічної основи (наприклад, діізопропілетиламіну або триетиламіну або подібного). Реакція протікає при температурі від близько 90°C до близько 140 °C та може зайняти від близько 30 хвилин до  
 25 близько 72 годин до завершення.

Стадія c: сполуку формули (6) можна отримати шляхом взаємодії сполуки формули (4), де X<sub>1</sub> переважно являє собою бром або йод, з R<sub>1</sub>-Z<sub>1</sub>, де R<sub>1</sub> такий, як визначено у даній заявці, Z<sub>1</sub> переважно являє собою боронову кислоту або складний ефір (реакція Сузукі), у присутності підходящого розчинника (наприклад, диметоксиетану або суміші диметоксиетану та води або подібного), підходящої неорганічної основи (наприклад, карбонату натрію або подібного) та паладієвого каталізатору (наприклад, біс(трифенілфосфін)паладій(II) дихлориду або комплексу  
 30 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен-паладій(II)дихлориду з дихлорметаном або тетракіс(трифенілфосфін)паладій(0) або подібного) та, необов'язково, співрозчиннику (наприклад, етанолу або подібного). Реакція протікає при температурі від приблизно 80°C до  
 35 близько 130°C та може зайняти від 20 хвилин до близько 18 годин до завершення.

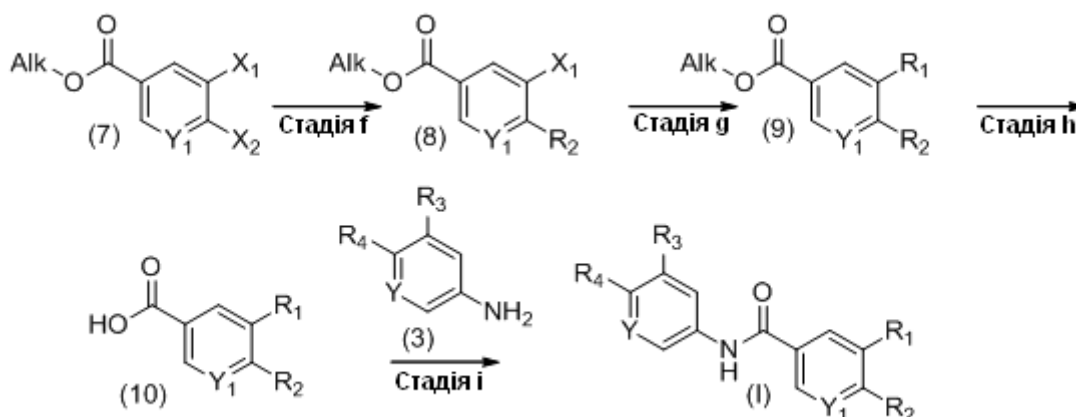
Альтернативно, стадію с можна здійснити шляхом взаємодії сполуки формули (4), де  $X_1$  переважно являє собою бром або йод, з  $R_1-Z_2$ , де  $R_1$  такий, як визначено у даній заявці,  $Z_2$  переважно являє собою реагент на основі триалкілолова (реакція Стіла), у присутності підходящого розчинника (наприклад, диметилсульфоксиду або подібного) та паладієвого каталізатору (наприклад, тетракіс(трифенілфосфін)-паладій(0)). Реакція протікає при температурі від близько 140 °C та може зайняти в цілому до близько 18 годин.

Стадія d: сполуку формули (I) можна отримати шляхом взаємодії сполуки формули (5), де  $X_1$  переважно являє собою бром або йод, з  $R_1-Z_1$ , де  $R_1$  такий, як визначено у даній заявці,  $Z_1$  переважно являє собою боронову кислоту або складний ефір (реакція Сузукі), у присутності підходящого розчинника (наприклад, диметоксиетану або суміші диметоксиетану та води або подібного), неорганічної основи (наприклад, карбонату натрію або подібного) та паладієвого каталізатору (наприклад, біс(трифенілфосфін)паладій(II) дихлориду або комплексу 1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен-паладій(II)дихлориду з дихлорметаном або тетракіс(трифенілфосфін)паладій(0) або подібного) та, необов'язково, співрозчиннику (наприклад, етанолу або подібного). Реакція протікає при температурі від близько 80-130 °C та може зайняти від близько 20 хвилин до 2 годин до завершення.

Стадія e: сполуку формули (I) можна отримати шляхом взаємодії сполуки формули (6) з  $R_2-H$ , де  $R_2$  такий, як визначено у даній заявці, у присутності підходящого розчинника (наприклад, 2-пропанолу або диметилсульфоксиду або подібного), органічної основи (наприклад, діізопропілетиламіну або триетиламіну або подібного). Реакція протікає при температурі від близько 90-140 °C та може зайняти від близько 30 хвилин до 72 годин до завершення.

Сполуки формули (I) можна отримати аналогічно тому, як описано у наступній Схемі реакцій II:

Схема реакцій II:



у якій  $Y$ ,  $Y_1$ ,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  та  $R_4$  є такими, як визначено для формули (I) у Короткому описі винаходу, та  $X_1$  та  $X_2$  являють собою атоми галогену,  $X_1$ , зокрема, хлор, бром або йод,  $X_2$ , зокрема, хлор або фтор, та  $Alk$  являє собою ланцюг нижчого алкілу, зокрема, метил.

Стадія f: сполуку формули (8) можна отримати шляхом взаємодії сполуки формули (7) з  $R_2-H$ , де  $R_2$  такий, як визначено у даній заявці, по аналогії зі стадією b.

Стадія g: сполуку формули (9) можна отримати шляхом взаємодії сполуки формули (8), де  $X_1$  переважно являє собою бром або йод, з  $R_1-Z_1$ , де  $R_1$  такий, як визначено у даній заявці,  $Z_1$  переважно являє собою боронову кислоту або складний ефір (реакція Сузукі), по аналогії зі стадією d.

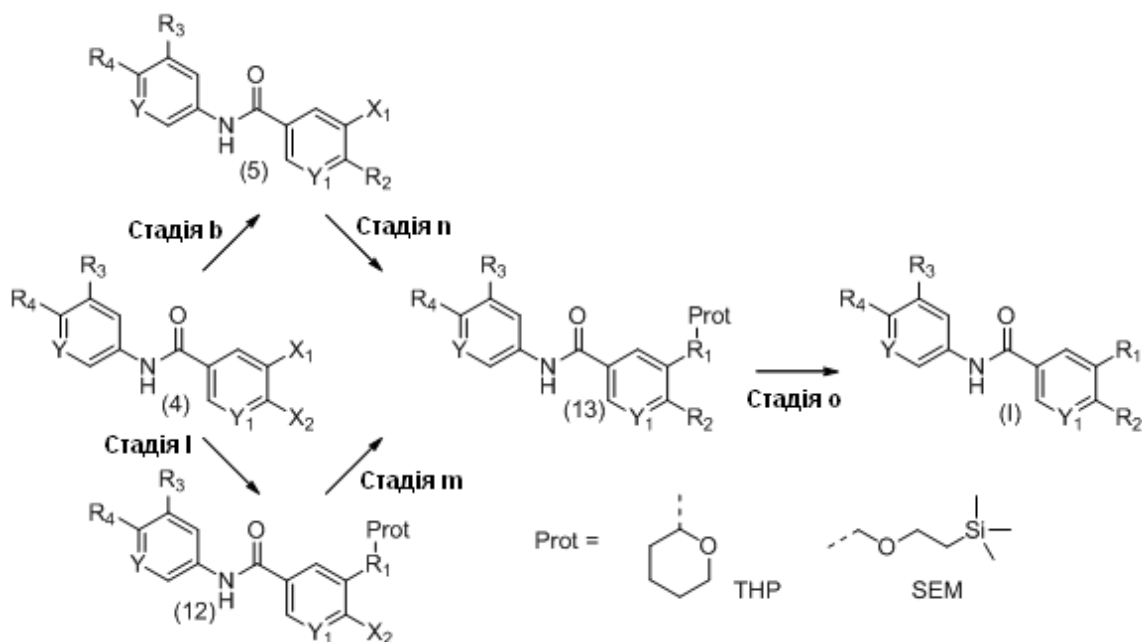
Стадія h: сполуку формули (10) можна отримати шляхом гідролізу складного ефіру сполуки формули (9) у присутності підходящого розчинника (наприклад, води або подібного), неорганічної основи (наприклад, гідроксиду натрію або подібного). Реакція протікає при кімнатній температурі та може зайняти в цілому до близько 2 годин.

Стадія i: сполуку формули (I) можна отримати шляхом взаємодії сполуки формули (10) зі сполукою формули (3) у присутності зв'язуючого реагенту (такого як 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіімідгідрохлорид та гідроксибензотриазол або подібного), підходящої основи (такої як N-метилморфолін, діізопропілетиламін або подібного) та

підходящого розчиннику (такого як дихлорметан, диметилформамід або подібного). Реакція протікає при кімнатній температурі та може зайняти приблизно 12 годин до завершення.

Сполуки формули (I) можна отримати аналогічно тому, як описано у наступній Схемі реакцій III:

5 Схema реакцій III:



у якій Y, Y<sub>1</sub>, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> та R<sub>4</sub> є такими, як визначено для формули (I) у Короткому описі винаходу, та X<sub>1</sub> та X<sub>2</sub> являють собою атоми галогену, X<sub>1</sub>, зокрема, хлор, бром або йод, X<sub>2</sub>, зокрема, хлор або фтор, Prot являє собою захисну групу, зокрема, тетрагідро-2H-піран-2-іл (THP) або 2-(триметилсиліл)етокси]метил (SEM), коли R<sub>1</sub> являє собою піразол з вільним NH.

10 Стадія I: сполуку формули (12) можна отримати шляхом взаємодії сполуки формули (4) з Prot-R<sub>1</sub>-Z<sub>1</sub>, де R<sub>1</sub> такий, як визначено у даній заявці, Z<sub>1</sub> переважно являє собою боронову кислоту або складний ефір (реакція Сузукі), Prot являє собою, зокрема, THP або SEM, по аналогії зі стадією с.

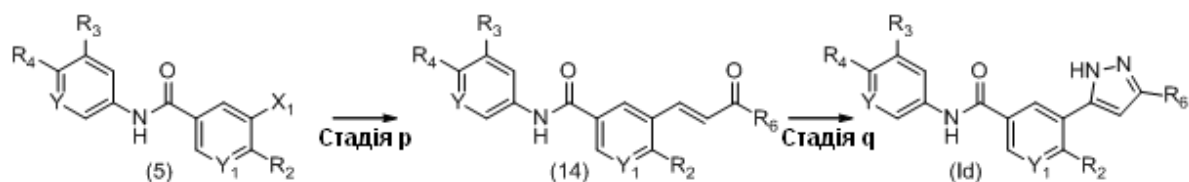
Стадія m: сполуку формули (13) можна отримати шляхом взаємодії сполуки формули (12) з R<sub>2</sub>-H, де R<sub>2</sub> такий, як визначено у даній заявці, по аналогії зі стадією е.

20 Стадія n: сполуку формули (13) можна отримати шляхом взаємодії сполуки формули (5) з Prot-R<sub>1</sub>-Z<sub>1</sub>, де R<sub>1</sub> такий, як визначено у даній заявці, Z<sub>1</sub> переважно являє собою боронову кислоту або складний ефір (реакція Сузукі), Prot являє собою, зокрема, THP або SEM, по аналогії зі стадією d.

25 Стадія o: сполуку формули (I) можна отримати шляхом взаємодії сполуки формули (13) з агентом зняття захисту (наприклад, тетра-н-бутиламонійфторидом або трифтороцтовою кислотою або хлористоводневою кислотою або подібним) у присутності підходящого розчиннику (наприклад, тетрагідрофурану або дихлорметану або подібного). Реакція протікає при кімнатній температурі або температурі до близько 80 °C та може зайняти від близько 2 до 24 годин до завершення.

30 Сполуки формули (I), де R<sub>1</sub> являє собою піразол, заміщений групою R<sub>6</sub>, можна отримати аналогічно тому, як описано у наступній Схемі реакцій IV:

Схema реакцій IV:

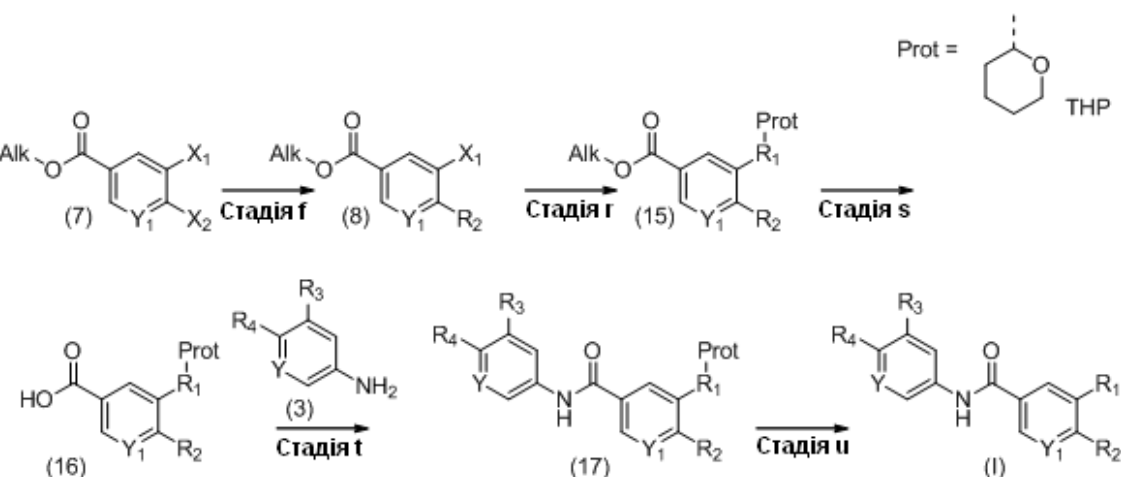


у якій  $Y$ ,  $Y_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  та  $R_6$  є такими, як визначено для формули (I) у Короткому описі винаходу, та  $X_1$  являє собою атом галогену, зокрема, бром або йод, та  $R_6$  являє собою нижчий алкіл, зокрема, метил.

Стадія p: сполуку формули (14) можна отримати шляхом взаємодії сполуки формули (5) з алкілвінілкетонем (наприклад, метилвінілкетонем або подібним) у присутності підходящого розчиннику (наприклад, диметилформаміду або подібного), органічної основи (наприклад, триетиламіну або подібного) та паладієвого каталізатору (наприклад, три-орто-толілфосфін-паладійдиацетату або подібного). Реакція протікає при температурі від близько 130°C та може зайняти до 16 годин до завершення.

Стадія q: сполуку формули (1d) можна отримати шляхом взаємодії сполуки формули (14) із захищеним гіdraзидом (наприклад, гіdraзидом толуол-4-сульфонової кислоти або подібним) у присутності підходящого розчиннику (наприклад, етанолу або подібного). Реакція протікає при температурі від близько 80°C та може зайняти до 2 годин до завершення. Потім захисну групу видаляють *in situ* з використанням алкоголяту (наприклад, метоксиду натрію або подібного). Зняття захисту відбувається при температурі близько 80°C та може зайняти до 48 годин до завершення.

Сполуки формули (I) можна отримати аналогічно тому, як описано у наступній Схемі реакцій V:



у якій  $Y$ ,  $Y_1$ ,  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$  та  $R_4$  є такими, як визначено для формули (I) у Короткому описі винаходу,  $X_1$  та  $X_2$  являють собою атоми галогену,  $X_1$ , зокрема, хлор, бром або йод,  $X_2$ , зокрема, хлор або фтор, та  $Alk$  являє собою ланцюг нижчого алкілу, зокрема, метил,  $Prot$  являє собою захисну групу, зокрема, тетрагідро-2H-піран-2-іл (THP), коли  $R_1$  являє собою піразол з вільним NH.

Стадія g: сполуку формули (15) можна отримати шляхом взаємодії сполуки формули (8), де  $X_1$  переважно являє собою бром або йод, з  $Prot-R_1-Z_1$ , де  $R_1$  такий, як визначено у даній заявці,  $Prot$  являє собою, зокрема, тетрагідро-2H-піран-2-іл (THP), коли  $R_1$  являє собою піразол з вільним NH,  $Z_1$  переважно являє собою боронову кислоту або складний ефір (реакція Сузукі), по аналогії зі стадією d.

Стадія s: сполуку формули (16) можна отримати шляхом гідролізу складного ефіру сполуки формули (15) у присутності підходящого розчиннику (наприклад, води та метанолу або подібного), неорганічної основи (наприклад, гідроксиду натрію або подібного). Реакція протікає при кімнатній температурі та може зайняти приблизно 14 годин до завершення.

Стадія t: сполуку формули (17) можна отримати шляхом взаємодії сполуки (16) зі сполукою формули (3) у присутності зв'язуючого реагенту (такого як 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіімід гідрохлорид та гідроксибензотриазол або подібного), підходящої основи (такої як N-метилморфолін або подібного) та підходящого розчиннику (такого як тетрагідрофуран або подібного). Реакція протікає при температурі від близько 25-65 °C та може зайняти до близько 2 днів до завершення.

Стадія u: сполуку формули (I) можна отримати шляхом взаємодії сполуки формули (17) з агентом зняття захисту (наприклад, хлористоводневою кислотою або подібним) у присутності

підходящого розчиннику (наприклад, тетрагідрофурану та метанолу або подібного). Реакція протікає при кімнатній температурі близько 2 годин до завершення.

Детальні приклади синтезу сполук формули (I) можна знайти у розділі Приклади, нижче.

Додаткові способи одержання сполук відповідно до даного винаходу

5 Сполуку відповідно до даного винаходу можна отримати у вигляді фармацевтично прийнятної кислотно-адитивної солі шляхом взаємодії форми вільної основи сполуки з фармацевтично прийнятною неорганічною або органічною кислотою. Альтернативно, фармацевтично прийнятну основно-адитивну сіль сполуки відповідно до даного винаходу можна отримати шляхом взаємодії форми вільної кислоти сполуки з фармацевтично  
10 прийнятною неорганічною або органічною основою.

Сполуки формули (I) також можна модифікувати шляхом додавання відповідних функціональних груп для посилення селективних біологічних властивостей. Модифікації подібного роду відомі у даній галузі техніки та включають ті, які збільшують проникнення у дану біологічну систему (наприклад, кров, лімфатичну систему, центральну нервову систему, сім'яники), збільшують біодоступність, підвищують розчинність для можливості зробити парентеральне введення (наприклад, ін'єкцію, інфузію), змінюють метаболізм та/або змінюють швидкість секреції. Приклади цього типу модифікацій включають, але не обмежуються цим, етерифікацію, наприклад, з поліетиленгліколями, дериватизацію із замісниками півалоїлокси або жирними кислотами, перетворення у карбамати, гідроксилювання ароматичних кілець та гетероатомне заміщення у ароматичних кільцях. Скрізь, де згадуються сполуки формули (I) та/або N-оксиди, таутомери та/або (переважно фармацевтично прийнятні) солі, це включає такі модифіковані формули, хоча переважно маються на увазі молекули формули (I), їх N-оксиди, їх таутомери та/або їх солі.  
20

Альтернативно, форми солей сполук відповідно до даного винаходу можна одержати з використанням солей вихідних речовин або проміжних сполук. Через тісний взаємозв'язок між новими сполуками формули (I) у вільній формі та сполуками у формі їх солей, включаючи ті солі, які можуть бути використані як проміжні сполуки, наприклад, у очищенні або ідентифікації нових сполук, будь-яке посилання на сполуки або сполуку формули (I) вище та далі у даній заявці слід розуміти як посилання на сполуку у вільній формі та/або також на одну або декілька її солей, як це є підходящим та доцільним, а також на один або кілька сольватів, наприклад, гідратів.  
25 30

Солі отримують, наприклад, у вигляді кислотно-адитивних солей, переважно з органічними або неорганічними кислотами, зі сполук формули (I) з основним атомом азоту, особливо у вигляді фармацевтично прийнятних солей. Підходящі неорганічні кислоти являють собою, наприклад, галогенові кислоти, такі як хлористоводнева кислота, сірчана кислота або фосфорна кислота. Підходящі органічні кислоти являють собою, наприклад, карбонові, фосфонові, сульфонові або сульфамінові кислоти, наприклад, оцтову кислоту, пропіонову кислоту, октанову кислоту, деканову кислоту, додеканову кислоту, гліколеву кислоту, молочну кислоту, фумарову кислоту, бурштинову кислоту, малонову кислоту, адипінову кислоту, пімелінову кислоту, суберінову кислоту, азелаїнову кислоту, яблучну кислоту, винну кислоту, лимонну кислоту, амінокислоти, такі як глютамінова кислота або аспарагінова кислота, малеїнову кислоту, гідроксималеїнову кислоту, метилмалеїнову кислоту, циклогексанкарбонову кислоту, адамантанкарбонову кислоту, бензойну кислоту, саліцилову кислоту, 4-аміносаліцилову кислоту, фталеву кислоту, фенілоцтову кислоту, мигдальну кислоту, коричну кислоту, метан- або етансульфонову кислоту, 2-гідроксietансульфонову кислоту, етан-1,2-дисульфонову кислоту, бензолсульфонову кислоту, 4-толуолсульфонову кислоту, 2-нафталінсульфонову кислоту, 1,5-нафталін-дисульфонову кислоту, 2- або 3-метилбензолсульфонову кислоту, метилсірчану кислоту, етилсірчану кислоту, додецилсірчану кислоту, N-циклогексилсульфамінову кислоту, N-метил-, N-етил- або N-пропіл-сульфамінову кислоту або іншу органічну протонну кислоту, таку як аскорбінова кислота. Солі звичайно можуть бути перетворені у вільні сполуки, наприклад, шляхом обробки підходящими основними сполуками, наприклад, карбонатами лужних металів, гідрокарбонатами лужних металів або гідроксидами лужних металів, звичайно карбонатом калію або гідроксидом натрію.  
35 40 45 50

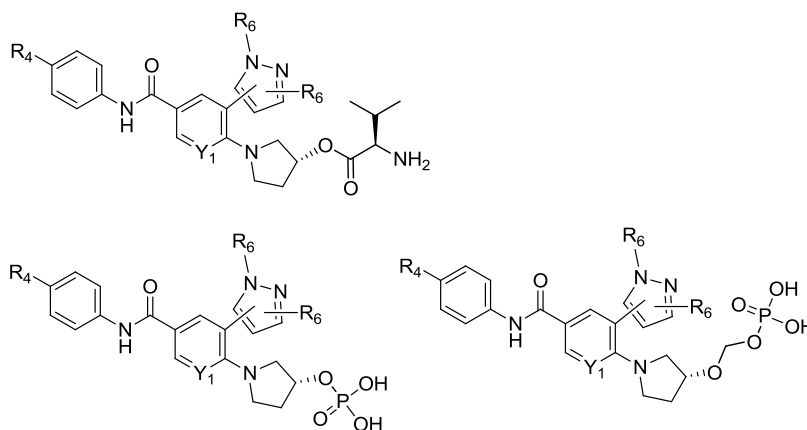
Для цілей виділення або очищення також є можливим використання фармацевтично неприйнятних солей, наприклад, пікратів або перхлоратів. Для терапевтичного застосування застосовують тільки фармацевтично прийнятні солі або вільні сполуки (де це застосовно у формі фармацевтичних препаратів), та, внаслідок цього, вони є кращими.  
55

Форми вільної кислоти або вільної основи сполук відповідно до даного винаходу можна одержати з відповідної солі приєднання основи або кислотно-адитивної солі, відповідно. Наприклад, сполука відповідно до даного винаходу у формі кислотно-адитивної солі може бути  
60

перетворена у відповідну вільну основу шляхом обробки підходящою основою (наприклад, розчином гідроксиду амонію, гідроксиду натрію та т. п.). Сполука відповідно до даного винаходу у формі солі приєднання основи може бути перетворена у відповідну вільну кислоту шляхом обробки підходящою кислотою (наприклад, хлористоводневою кислотою тощо).

Сполуки відповідно до даного винаходу у неокисненій формі можна одержати з N-оксидів сполук відповідно до даного винаходу шляхом обробки відновлюючим агентом (наприклад, сіркою, діоксидом сірки, трифенілфосфіном, боргідридом літію, боргідридом натрію, трихлоридом фосфору, трибромідом або подібним) у підходящому інертному органічному розчиннику (наприклад, ацетонітрилі, етанолі, водному розчині діоксану або подібному) при температурі від 0 до 80 °C.

Пролікарські похідні сполук відповідно до даного винаходу можна отримати за способами, відомими спеціалістам у даній галузі техніки (наприклад, детальніше див. Saulnier MG, Langley DR, Kadow JF, Senter PD, Knipe JO, Tun MM, Vyas DM та Doyle TW (1994) Synthesis of etoposide phosphate, BMY-4048 1: a watersoluble clinically active prodrug of etoposide. Bioorg Med Chem Lett 4:2567-2572; та Rautio J, Kumpulainen H, Heimbach T, Oliyai R, Oh D, Jarvinen T та Savolainen J (2008); Prodrugs: design and clinical applications. Nat Rev Drug Discov. 7:255-70). Наприклад, сполука відповідно до даного винаходу може утворювати фосфатний складний ефір гідроксильної групи. Більш конкретно, сполука відповідно до даного винаходу може утворювати проліки, як показано:



Крім того, сполука відповідно до даного винаходу може бути проліками іншої сполуки відповідно до даного винаходу. Для ілюстрації, сполука прикладу 36 являє собою проліки сполуки прикладу 37, та сполука прикладу 37 являє собою потенційний метаболіт сполуки прикладу 36.

Захищені похідні сполук відповідно до даного винаходу можна одержати за способами, відомими фахівцям у даній галузі техніки. Якщо одна або декілька інших функціональних груп, наприклад, карбокси, гідрокси, аміно, сульфгідрил або подібні, є захищеними або їх необхідно захистити у вихідній речовині, описаній у даній заявці, або у будь-якому іншому попереднику, тому що вони не повинні брати участь у реакції або заважати реакції, це такі групи, які звичайно використовують у синтезі пептидних сполук й також цефалоспоринові та пеніцилінові, а також похідних нуклеїнової кислоти та цукрів. Захисні групи являють собою такі групи, які не присутні у кінцевих сполуках, як тільки їх видаляють, у той час як групи, які залишаються як замісники, не є захисними групами у тому розумінні, яке використовують у даній заявці, вони являють собою групи, які додають на стадії вихідної речовини або проміжної сполуки та видаляють із одержанням кінцевої сполуки. Також у випадку перетворень сполук формули (I) у іншу сполуку формули (I) захисні групи можуть бути введені та вилучені, якщо це необхідно або корисно. Захисні групи вже можуть бути присутніми у попередниках та повинні захищати зазначені функціональні групи від небажаних побічних реакцій, таких як реакції ацилювання, етерифікації, естерифікації, окиснення, сольволізу та подібні реакції. Характеристикою захисних груп є те, що вони легко піддаються, тобто без небажаних побічних реакцій, видаленню, як правило, за допомогою реакції ацетолізу, протонілізу, сольволізу, відновлення, фотолізу або також у результаті ферментативної активності, наприклад, в умовах, аналогічних фізіологічним умовам, та що вони не присутні у кінцевих продуктах. Фахівець знає або може легко встановити, які захисні групи є підходящими у реакціях, зазначених вище та нижче.

Захист таких функціональних груп за допомогою таких захисних груп, самі захисні групи та реакції їх видалення описані, наприклад, у стандартних довідниках, таких як J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London and New York 1973, в T. W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999, в "The Peptides"; Volume 3 (editors: E. Gross and J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981, в "Methoden der organischen Chemie" (Methods of organic chemistry), Houben Weyl, 4th edition, Volume 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, в H.-D. Jakubke and H. Jescheit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Amino acids, peptides, proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach and Basel 1982, та у Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Chemistry of carbohydrates: monosaccharides and derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974.

Сполуки відповідно до даного винаходу можуть бути легко отримані або утворені у процесі здійснення способу відповідно до даного винаходу у вигляді сольватів (наприклад, гідратів). Гідрати сполук відповідно до даного винаходу можна одержати шляхом перекристалізації із суміші вода/органічний розчинник з використанням органічних розчинників, таких як діоксин, тетрагідрофуран або метанол.

Сполуки відповідно до даного винаходу можна одержати у вигляді їх індивідуальних стереоізомерів шляхом взаємодії рацемічної суміші сполуки з оптично активним поділяючим агентом з утворенням пари діастереоізомерних сполук, розділення діастереоізомерів та виділення оптично чистих енантіомерів. У той час як розчинення енантіомерів може бути здійснене з використанням ковалентних діастереоізомерних похідних сполук відповідно до даного винаходу, кращими є дисоціюючі комплекси (наприклад, кристалічні діастереоізомерні солі). Діастереоізомери мають різні фізичні властивості (наприклад, температуру плавлення, температуру кипіння, розчинність, реактивність і т. д.) та можуть бути легко розділені завдяки цим відмінностям. Суміші діастереоізомерів, наприклад, можна розділити на їхні індивідуальні діастереоізомери за допомогою фракційної кристалізації, хроматографії, розподілу розчиннику та аналогічних процедур. Цей розділення може відбуватися або на рівні вихідної сполуки, або у самій сполуці формули (I). Енантіомери можна розділити шляхом утворення діастереоізомерних солей, наприклад, шляхом утворення солі з енантіомерно-чистою хіральною кислотою, або за допомогою хроматографії, наприклад, за допомогою ВЕРХ, з використанням хроматографічних субстратів з хіральною лігандами. Оптично чистий енантіомер потім виділяють, разом з поділяючим агентом, за допомогою будь-яких практичних засобів, які не будуть приводити до рацемізації. Більш докладний опис методів, які можна використовувати для розділення стереоізомерів сполук з їх рацемічної суміші, можна знайти у Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981.

Узагальнюючи зазначене вище, сполуки формули (I) можна отримати за способом, який включає:

- (a) способи, показані на Схемах реакцій I-V; та
- (b) необов'язково перетворення сполуки відповідно до даного винаходу у фармацевтично прийнятну сіль;
- (c) необов'язково перетворення форми солі сполуки відповідно до даного винаходу у несольову форму;
- (d) необов'язково перетворення неокисленої форми сполуки відповідно до даного винаходу у фармацевтично прийнятний N-оксид;
- (e) необов'язково перетворення N-оксидної форми сполуки відповідно до даного винаходу у її неокислену форму;
- (f) необов'язково виділення окремого ізомеру сполуки відповідно до даного винаходу з суміші ізомерів;
- (g) необов'язково перетворення недериватизованої сполуки відповідно до даного винаходу у фармацевтично прийнятну пролікарську похідну; та
- (h) необов'язково перетворення пролікарської похідної сполуки відповідно до даного винаходу у її недериватизовану форму.

Оскільки одержання вихідних речовин практично не описане, такі сполуки є відомими, або їх можна одержати аналогічно способом, відомим у даній галузі техніки, або як описано далі у розділі Приклади.

Спеціалісту у даній галузі техніки буде зрозуміло, що приведені вище перетворення являють собою тільки репрезентативні способи одержання сполук відповідно до даного винаходу та що інші добре відомі способи можуть бути використані аналогічним чином.

Приклади

Наступні приклади ілюструють винахід, не обмежуючи його обсяг. В представлених прикладах температури дані у градусах Цельсія. Якщо не зазначено інше, реакції протікають при кімнатній температурі. Крім того, якщо не зазначено інше, умови аналітичної ВЕРХ є наступними:

5 Умова 1: НВЕРХ-МС, колонка Acquity BEH C18, 1,7 мкм, 2,1×50 мм, температура печі 40 °С, елюенти: А=вода+0,1 % мурашиної кислоти, та В=MeCN+0,1 % мурашиної кислоти, градієнт від 20 % до 100 % В впродовж 4,3 хвил., швидкість потоку 0,7 мл/хвил., детекція УФ/VIS (DAD), ESI (+/-).

10 Умова 2: LC-МС, колонка Ascentis® Express C18, 2,7 мкм, 2,1×30 мм, 50 °С, елюенти: А=вода+0,05 % мурашиної кислоти + 3,75 мМ ацетату амонію, та В=MeCN+0,04 % мурашиної кислоти, градієнт від 5 % до 95 % В впродовж 3,7 хвил., швидкість потоку від 1,2 мл/хвил. до 1,4 мл/хвил. впродовж 3,7 хвил., детекція УФ/VIS (DAD), ESI (+/-).

15 Умова 3: НВЕРХ-МС, колонка Acquity HSS T3, 1,8 мкм, 2,1×50 мм, температура печі 50 °С, елюенти: А=вода+0,05 % мурашиної кислоти+3,75 мМ ацетату амонію, та В=MeCN+0,04 % мурашиної кислоти, градієнт від 2 % до 98 % В впродовж 1,40 хвил., потім 98 % В впродовж 0,75 хвил., швидкість потоку 1,2 мл/хвил., детекція УФ/VIS (DAD), ESI (+/-).

20 Умова 4: ВЕРХ, колонка Chromolith® Performance, RP-18e, 100×4,6 мм + передколонка 5×4,6 мм при кімнатній температурі, елюенти: А=вода+0,1 % мурашиної кислоти, та В=MeCN+0,1 % мурашиної кислоти, градієнт від 2 % до 100 % В впродовж 8 хвил., потім 100 % В впродовж 2 хвил., швидкість потоку 2,0 мл/хвил., детекція УФ/VIS (DAD).

Умова 5: ВЕРХ, колонка CC125/4 Nucleosil® 100-3 C18HD, 4,0×125 мм, елюенти: А=вода+0,1 % TFA, та В=MeCN+0,1 % TFA, градієнт від 2 % до 100 % В впродовж 7 хвил., потім 100 % В впродовж 2 хвил. та у кінці від 100 % до 2 % В впродовж 1 хвил., швидкість потоку 1,0 мл/хвил., детекція УФ 215 нм.

25 Умова 6: умова, аналогічна умові 3, температура печі 60 °С замість 50 °С.

Умова 7: ВЕРХ, колонка Eclipse XDB C18, 5 мкм, 4,6×150 мм, температура печі 25 °С, елюенти: А=вода+0,1 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, та В=MeCN, градієнт від 10 % до 95 % В впродовж 17 хвил., швидкість потоку 1,0 мл/хвил., детекція УФ/VIS (DAD) 210 нм.

30 Умова 8: LC-МС, колонка Poroshell® 120 SB-C18, 3,0×50 мм, 2,7 мкм, елюенти: А=вода+0,1 % TFA, та В=MeCN+0,1 % TFA, градієнт від 5 % В впродовж 0,5 хвил., 5 % до 95 % В впродовж 6,5 хвил., 95 % В впродовж 3 хвил., 95 % до 5 % В впродовж 0,1 хвил., 5 % В впродовж 2 хвил., швидкість потоку 0,8 мл/хвил., УФ/VIS (DAD), ESI (+).

Далі, якщо не зазначено інше, умови препаративної ВЕРХ є наступними:

35 Умова 9: препаративна ВЕРХ, колонка: XBridge C18 30×100 мм, 5 мкм; швидкість потоку 30 мл/хвил.; рухома фаза: А=вода+0,1 % мурашиної кислоти; В=MeCN; перемінний градієнт, від початкового % В до кінцевого % В, та час виконання, як визначено у прикладах.

40 Умова 10: препаративна ВЕРХ системи Gilson, колонка SunFire™ prep C18 OBD, 5 мкм, 30×100 мм, елюенти: А=вода+0,1 % TFA, та В=MeCN, градієнт 5 % В впродовж 2 хвил., потім від 5 % до 100 % В впродовж 20 хвил. та на завершення 100 % В впродовж 3 хвил., швидкість потоку 30 мл/хвил., детекція УФ/VIS.

Препаративну ахіральну SFC здійснюють з використанням наступної системи: Waters SFC THAR100; швидкість потоку 100 мл/хвил.; рухома фаза: А=надкритичний CO<sub>2</sub>; В=MeOH; перемінний градієнт, від початкового % В до кінцевого % В, час виконання та колонки, як визначено у прикладах. Деталі для колонок:

45 Колонка DEAP: колонка Діетиламіно (250×30 мм, 5 мкм, 60 Å), Princeton;

Колонка Diol: колонка Діол (250×30 мм, 5 мкм, 60 Å), Princeton.

Спектри <sup>1</sup>H-ЯМР записували на 300 МГц або 400 МГц ЯМР-спектрометрі, як зазначено. Значимі піки представлені у наступному порядку: мультиплетність (с, синглет; д, дублет; т, триплет; кв, квартет; м, мультиплет; уш. с, уширений синглет) та число протонів.

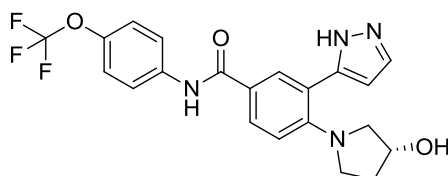
50 У наступних прикладах використовують скорочення, приведені нижче: водн. (водний); DAD (детектор на діодній матриці); DCM (дихлорметан); DIPEA (діізопропіл-етиламін); DMF (N, N-диметилформамід); DME (диметоксиетан); ДМСО (диметилсульфоксид); drpf (1,1'-біс(дифенілфосфіно)фероцен); екв. (еквіваленти); ESI (іонізація електророзпиленням); EtOAc (етилацетат); EtOH (етанол); Et<sub>2</sub>O (діетиловий ефір); год. (година); ВЕРХ (високоєфективна рідинна хроматографія); HV (високий вакуум); iPrOH (ізопропанол); iPr<sub>2</sub>O (діізопропіловий ефір); LC (рідинна хроматографія); М (молярний); MeCN (ацетонітрил); MeOH (метанол); MeTHF (2-метилтетрагідрофуран); хвил. (хвилини); мл (мілілітри); MP (макропористий); MPLC (рідинна хроматографія середнього тиску); MS (мас-спектрометрія); MW (мікрохвильове нагрівання); n-BuLi (n-бутиллітій); NMM (N-метилморфолін); NMP (N-метилпіролідинон); ЯМР (ядерний магнітний резонанс); PL (полістирол); PPh<sub>3</sub> (трифенілфосфін); PTFE (політетрафторетилен); RM



(реакційна суміш); RT (кімнатна температура); нас. (насичений); сек. (секунди); SFC (надкритична рідинна хроматографія); Si-Thiol (3-силікагель, модифікований меркаптопропілом); SPE (твердофазна екстракція); TBAF (тетра-н-бутиламонійфторид); TBME (метил трет-бутиловий ефір); TFA (трифтороцтова кислота); THF (тетрагідрофуран);  $t_R$  (час утримання); НВЕРХ (надвисокоєфективна рідинна хроматографія) та УФ (ультрафіолет).

Приклад 1

(R)-4-(3-Гідроксипіролідин-1-іл)-3-(1H-піразол-5-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)бензамід

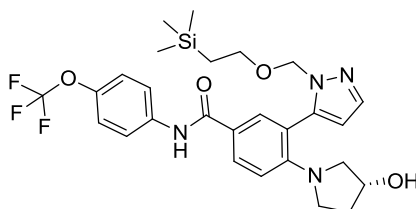


10

(R)-4-(3-Гідроксипіролідин-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)-3-(1-((2-(триметилсиліл)етокси)метил)-1H-піразол-5-іл)бензамід (Стадія 1.1, 149 мг, 0,2 ммоль) додавали у мікрохвильову посудину, яку щільно закривали та продували аргонном. Потім додавали 1 М розчин TBAF у THF (2,98 мл, 2,98 ммоль) та реакційну суміш перемішували при 80 °C впродовж 3 днів. Реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (40 мл), промивали насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  та насиченим сольовим розчином, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску. Неочищений продукт очищали за допомогою препаративної SFC (Колонка DEAP, від 25 % до 30 % впродовж 6 хвилин) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,98$  хвил.,  $m/z=433,3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $m/z=431,3$   $[\text{M}-\text{H}]^-$ ;  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,75 (уш. с., 1 H), 1,86 (уш. с., 1 H), 2,70-2,79 (м, 1 H), 3,03-3,19 (м, 2 H), 3,19-3,28 (м, 1 H), 4,20 (уш. с., 1 H), 4,73-4,92 (м, 1 H), 6,34 (д,  $J=11,00$  Гц, 1 H), 6,73-6,94 (м, 1 H), 7,32 (д,  $J=8,80$  Гц, 2 H), 7,65 (д,  $J=104,42$  Гц, 1 H), 7,81-7,96 (м, 4 H), 10,10 (с, 1 H), 12,88 (д,  $J=81,67$  Гц, 1 H).

Стадія 1.1: (R)-4-(3-Гідроксипіролідин-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)-3-(1-((2-(триметилсиліл)етокси)метил)-1H-піразол-5-іл)бензамід

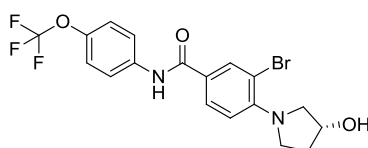
25



Суспензію (R)-3-бром-4-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)-феніл)бензаміду (Стадія 1.2, 100 мг, 0,225 ммоль), 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1-((2-(триметилсиліл)етокси)метил)-1H-піразолу (146 мг, 0,45 ммоль),  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$  (17,34 мг, 0,025 ммоль) та  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (119 мг, 1,123 ммоль) у суміші води (272 мкл), DME (953 мкл) та EtOH (136 мкл) піддавали мікрохвильовому опроміненню при 125 °C впродовж 20 хвилин. Реакційну суміш розводили за допомогою THF (3 мл), обробляли за допомогою Si-Thiol (Silicycle, 1,44 ммоль/г, 94 мг, 0,135 ммоль), фільтрували та фільтрат випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (Колонка з силікагелем RediSep®, 4 г, циклогексан/EtOAc від 40 % до 100 % EtOAc) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді жовтого масла. НВЕРХ-МС (Умова 1)  $t_R=3,28$  хвил.,  $m/z=563,2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $m/z=561,2$   $[\text{M}-\text{H}]^-$ .

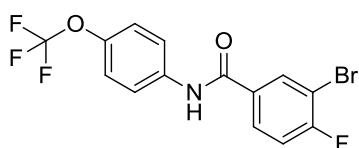
Стадія 1.2: (R)-3-Бром-4-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)-феніл)бензамід

40



Суміш 3-бром-4-фтор-N-(4-(трифторметокси)феніл)бензаміду (Стадія 1.3, 100 мг, 0,264 ммоль), (R)-піролідін-3-олу (46,1 мг, 0,529 ммоль) та ТЕА (147 мкл, 1,058 ммоль) у ДМСО (199 мкл) перемішували при 90 °С впродовж 16 годин. Реакційну суміш розводили за допомогою ТВМЕ/EtOAc (1:1) (30 мл), промивали 0,5 М розчином HCl (3×5 мл) та насиченим сольовим розчином (5 мл) та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, 4 г, циклогексан/EtOAc-EtOH+0,1 % NH<sub>4</sub>OH (8:2), від 30 % до 80 % EtOAc-EtOH+0,1 % NH<sub>4</sub>OH (8:2)) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді не зовсім білої твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 1)  $t_R$ =2,83 хвил.,  $m/z$ =444,9/446,9 [M+H]<sup>+</sup>,  $m/z$ =443,0/445,0 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ млн.ч. 1,80-1,92 (м, 1 H), 1,92-2,04 (м, 1 H), 3,24-3,30 (м, 1 H), 3,36-3,46 (м, 1 H), 3,60-3,72 (м, 1 H), 3,81 (дд, J=10,51, 4,65 Гц, 1 H), 4,36 (д, J=2,69 Гц, 1 H), 4,97 (д, J=3,42 Гц, 1 H), 6,93 (д, J=8,80 Гц, 1 H), 7,34 (д, J=8,56 Гц, 2 H), 7,80-7,90 (м, 3 H), 8,14 (д, J=1,96 Гц, 1 H), 10,19 (с, 1 H).

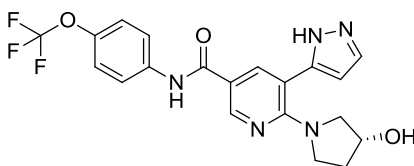
Стадія 1.3: 3-Бром-4-фтор-N-(4-(трифторметокси)феніл)бензамід



SOCl<sub>2</sub> (2,92 мл, 40,0 ммоль) та DMF (0,5 мл) додавали по краплям до суспензії 3-бром-4-фторбензойної кислоти (1,752 г, 8 ммоль) у толуолі (20 мл) та реакційну суміш перемішували при 80 °С впродовж 1 години. Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок розводили за допомогою THF (15 мл). Додавали DIPEA (2,79 мл, 16,00 ммоль) та суміш охолоджували до 0 °С, обробляли розчином 4-трифторметоксианіліну (1,181 мл, 8,80 ммоль) у THF (5 мл) та перемішували впродовж 1 години. Реакційну суміш обробляли водним 1 М розчином HCl (50 мл) та екстрагували за допомогою ТВМЕ. Об'єднані екстракти промивали водним 1 М розчином HCl, водним 1 М розчином NaOH та насиченим сольовим розчином, сушили над MgSO<sub>4</sub> та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, кристалізували з суміші н-гептан/DCM з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 1)  $t_R$ =3,18 хвил.,  $m/z$ =377,9/379,9 [M+H]<sup>+</sup>,  $m/z$ =375,9/377,9 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ млн.ч. 7,38 (д, J=8,6 Гц, 2 H), 7,56 (т, J=8,7 Гц, 1 H), 7,87 (д, J=9,0 Гц, 2 H), 8,00-8,06 (м, 1 H), 8,32 (дд, J=6,6, 2,2 Гц, 1 H), 10,50 (с, 1 H).

Приклад 2

(R)-6-(3-Гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-3-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід

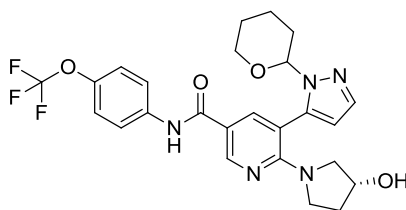


Суміш DME (570 мкл), води (163 мкл) та EtOH (81 мкл) додавали до суміші (R)-5-бром-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід (Стадія 2.2, 60 мг, 0,134 ммоль), (1H-піразол-3-іл)боронової кислоти (45,1 мг, 0,403 ммоль), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (9,44 мг, 0,013 ммоль), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (42,8 мг, 0,403 ммоль) у мікрохвильовій посудині. Посудину щільно закривали, відкачували повітря/продували 3 рази аргонном та реакційну суміш піддавали мікрохвильовому опроміненню при 120 °С впродовж 10 хвилин. Додавали додаткову кількість (1H-піразол-3-іл)боронової кислоти (45,1 мг, 0,403 ммоль) та реакційну суміш піддавали мікрохвильовому опроміненню при 120 °С впродовж 30 хвилин, розводили за допомогою THF (1 мл) та обробляли за допомогою Si-Thiol (Silicycle 1,27 ммоль/г, 52,9 мг, 0,067 ммоль), фільтрували та фільтрат випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який очищали за допомогою препаративної ВЕРХ (Умова 9, 15 % впродовж 0,2 хвил., потім від 15 % до 45 % впродовж 14 хвилин) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини.

Альтернативно, сполуку прикладу 2 отримували шляхом обробки суспензії 6-((R)-3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід (Стадія 2.1, 68,3 г, 132 ммоль) у DCM (1 л) за допомогою TFA (305 мл, 3959 ммоль) при кімнатній температурі впродовж 5,5 годин. Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок розчиняли у EtOAc (2 л), промивали насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  (3×500 мл) та насиченим сольовим розчином (2×500 мл) та сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок суспендували у DCM (300 мл) та перемішували при кімнатній температурі впродовж 15 хвилин. Кристалічну речовину фільтрували, промивали за допомогою DCM (200 мл), сушили при зниженому тиску, розчиняли у MeOH (500 мл) та обробляли за допомогою Si-Thiol (Biotage, 10,0 г, 13 ммоль) впродовж 15 годин при 30 °C. Суміш фільтрували та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (силікагель, 2 кг, DCM/MeOH 95:5) та кристалізували з MeCN з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої кристалічної твердої речовини.

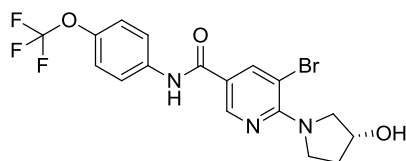
Аналітичні дані для прикладу 2: ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=5,37$  хвил., хіральна ВЕРХ (CHIRALPAK® AD-H, 250×4,6 мм, елюент: EtOH/MeCN (98:2), 0,5 мл/хвил., УФ 210 нм)  $t_R=9,62$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 1)  $t_R=1,79$  хвил.,  $m/z=434,1/435,1$  [M+H]<sup>+</sup>,  $m/z=432,1/433,1$  [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ млн.ч. 1,65-1,76 (м, 1 H), 1,76-1,87 (м, 1 H), 2,97 (д, J=11,37 Гц, 1 H), 3,19-3,29 (м, 2 H), 3,34-3,48 (м, 1 H), 4,10-4,23 (м, 1 H), 4,89 (уш. с., 1 H), 6,40 (с, 1 H), 7,33 (д, J=8,70 Гц, 2 H), 7,58/7,82 (уш. с., 1 H), 7,89 (д, J=8,70 Гц, 2 H), 8,06 (с, 1 H), 8,77 (с, 1 H), 10,21 (с, 1 H), 12,88/13,07 (уш. с., 1 H).

Стадія 2.1: 6-((R)-3-Гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід



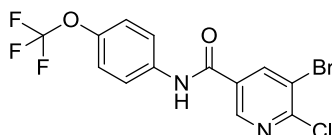
Пінаколовий складний ефір 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-боронової кислоти (59,9 г, 214,4 ммоль),  $\text{K}_3\text{PO}_4$  (105,7 г, 498,1 ммоль) та  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (9,6 г, 8,30 ммоль) додавали до суспензії (R)-5-бром-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід (Стадія 2.2, 74 г, 165,8 ммоль) у толуолі (740 мл) та перемішували при 110 °C впродовж 2,5 годин у атмосфері аргону. Суміш потім розводили за допомогою EtOAc (2 л), промивали водою (2×1 л) та сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Розчинник випарювали при зниженому тиску та неочищений залишок очищали за допомогою флеш-хроматографії (силікагель, 2 кг, DCM/MeOH 95:5). Отриману речовину розчиняли у суміші MeOH (500 мл) та THF (800 мл) та обробляли за допомогою Si-Thiol (Biotage, 15 г, 19,5 ммоль) при кімнатній температурі впродовж 17 годин. Суміш фільтрували та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який кристалізували з MeOH, з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої кристалічної твердої речовини. ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=5,99$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 6)  $m/z=518,2$  [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ млн.ч. 1,42 (уш. с., 3 H), 1,63-1,98 (м, 4 H), 2,20-2,37 (м, 1 H), 2,71-2,94 (м, 1 H), 3,21 (д, J=6,65 Гц, 3 H), 3,32-3,51 (м, 1 H), 3,69-3,92 (м, 1 H), 4,08-4,24 (м, 1 H), 4,75-4,88 (м, 1 H), 4,89-5,17 (м, 1 H), 6,29-6,49 (м, 1 H), 7,32 (д, J=8,99 Гц, 2 H), 7,59 (с, 1 H), 7,78-8,10 (м, 3 H), 8,80 (т, J=2,54 Гц, 1 H), 10,05-10,28 (м, 1 H).

Стадія 2.2: (R)-5-Бром-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)-феніл)нікотинамід



(R)-Піролідін-3-ол (17,1 мл, 211,2 ммоль) та DIPEA (67,6 мл, 387,6 ммоль) додавали до суспензії 5-бром-6-хлор-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинаміду (Стадія 2.3, 69,6 г, 175,9 ммоль) у iPrOH (120 мл) та перемішували при 140 °C впродовж 1 години. Суміш розводили за допомогою EtOAc (1 л), промивали за допомогою 1N HCl (2×200 мл), насиченим розчином NaHCO<sub>3</sub> (200 мл) та насиченим сольовим розчином (2×200 мл) та сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Розчинник випарювали при зниженому тиску та продукт кристалізували з суміші EtOAc/iPr<sub>2</sub>O з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої кристалічної твердої речовини. ВЕРХ (Умова 5) t<sub>R</sub>=6,58 хвил., НВЕРХ-МС (Умова 6) m/z=446,0/448,0 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ млн.ч. 1,78-2,01 (м, 2 H), 3,55 (д, J=11,34 Гц, 1 H), 3,64-3,76 (м, 1 H), 3,79-3,91 (м, 2 H), 4,33 (уш. с., 1 H), 4,97 (д, J=3,13 Гц, 1 H), 7,33 (д, J=9,38 Гц, 2 H), 7,83 (д, J=8,99 Гц, 2 H), 8,30-8,36 (м, 1 H), 8,66 (д, J=2,35 Гц, 1 H), 10,20 (с, 1 H).

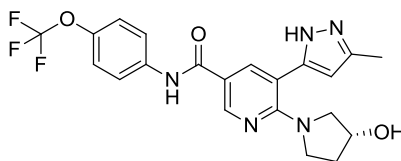
Стадія 2.3: 5-Бром-6-хлор-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід



Перемішуваний розчин 5-бром-6-хлорнікотинової кислоти (375 г, 1,586 моль) та DMF (37 мл) у толуолі (3,1 л) обробляли по краплям за допомогою SOCl<sub>2</sub> (347 мл, 4,758 моль) при кімнатній температурі та потім перемішували при 85 °C впродовж 2,5 годин. Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок розчиняли у THF (3,1 л), охолоджували до -25 °C, обробляли спочатку за допомогою DIPEA (543 мл, 3,172 моль) та потім додаванням по краплям розчину 4-(трифторметокси)аніліну (295 г, 1,665 моль) у THF (3,1 л). Через 30 хвилин при 10 °C розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок розчиняли у TBME (4 л), промивали за допомогою 1N HCl (2×1 л), насиченим розчином NaHCO<sub>3</sub> (1 л) та насиченим сольовим розчином (2×200 мл) та сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Розчинник випарювали при зниженому тиску та продукт кристалізували з суміші EtOAc/н-гептан з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді бежевої кристалічної твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 3) t<sub>R</sub>=1,25 хвил., m/z=393/395/397 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ млн.ч. 7,40 (д, J=8,60 Гц, 2 H), 7,86 (д, J=8,60 Гц, 2 H), 8,73 (д, J=2,20 Гц, 1 H), 8,92 (д, J=2,20 Гц, 1 H), 10,69 (с, 1 H).

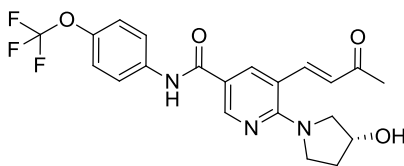
Приклад 3

(R)-6-(3-Гідроксипіролідін-1-іл)-5-(3-метил-1H-піразол-5-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід



(R, E)-6-(3-Гідроксипіролідін-1-іл)-5-(3-оксобут-1-ен-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід (Стадія 3.1, 50 мг, 0,091 ммоль) та гідратид толуол-4-сульфонової кислоти (34,5 мг, 0,181 ммоль) та EtOH (302 мкл) додавали у мікрохвильову посудину, яку щільно закривали та перемішували при 80 °C впродовж 1,5 годин. Суміш охолоджували до кімнатної температури, додавали NaOMe (17,15 мг, 0,318 ммоль) та реакційну суміш перемішували при 80 °C впродовж 48 годин. Реакційну суміш підкислювали водним розчином мурашиної кислоти, фільтрували через 0,2 мкм PTFE мембранний фільтр та очищали за допомогою препаративної ВЕРХ (Умова 9, від 20 % до 50 % впродовж 18 хвилин) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 1) t<sub>R</sub>=2,08 хвил., m/z=448,0 [M+H]<sup>+</sup>, m/z=446,0 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ млн.ч. 1,68-1,79 (м, 1 H), 1,78-1,90 (м, 1 H), 2,29 (уш. с., 3 H), 2,98 (д, J=11,74 Гц, 1 H), 3,25-3,37 (м, 2 H), 3,40-3,53 (м, 1 H), 4,21 (уш. с., 1 H), 4,83 (уш. с., 1 H), 6,13 (с, 1 H), 7,33 (д, J=8,31 Гц, 2 H), 7,86 (д, 2 H), 8,01 (уш. с., 1 H), 8,71 (уш. с., 1 H), 10,15 (с, 1 H), 12,57 (уш. с., 1 H).

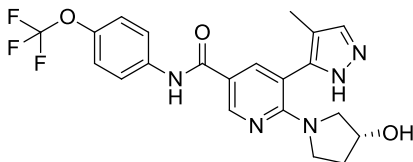
Стадія 3.1: (R, E)-6-(3-Гідроксипіролідін-1-іл)-5-(3-оксобут-1-ен-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід



(R)-5-Бром-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)-нікотинамід (Стадія 2.2, 250 мг, 0,560 ммоль), Pd(OAc)<sub>2</sub> (3,77 мг, 0,017 ммоль), три-о-толілфосфін (20,46 мг, 0,067 ммоль), бут-3-ен-2-он (55,1 мкл, 0,672 ммоль) та TEA (102 мкл, 0,728 ммоль) додавали у мікрохвильову посудину, яку щільно закривали та продували аргоном. Додавали DMF (1,87 мл) та реакційну суміш перемішували при 130 °C впродовж 6 годин. Потім додавали додаткову кількість бут-3-ен-2-ону (22,96 мкл, 0,280 ммоль) та суміш перемішували при 130 °C впродовж 16 годин. Реакційну суміш виливали у воду (25 мл) та екстрагували за допомогою DCM (3×20 мл). Об'єднані екстракти сушили над MgSO<sub>4</sub> та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, 12 г, циклогексан/EtOAc-EtOH+0,1 % NH<sub>4</sub>OH (9:1) від 40 % до 75 % EtOAc-EtOH+0,1 % NH<sub>4</sub>OH (9:1)). Фракції, що містять чистий продукт, об'єднували та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який піддавали азеотропній перегонці з ксилолом та розтирали у порошок з циклогексаном, з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді жовтої твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 1) t<sub>R</sub>=2,39 хвил., m/z=436,0 [M+H]<sup>+</sup>, m/z=434,0 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ мн.ч. 1,82-1,91 (м, 1 H), 1,91-2,00 (м, 1 H), 2,35 (с, 3 H), 3,43 (д, J=11,25 Гц, 1 H), 3,59-3,67 (м, 1 H), 3,78-3,88 (м, 2 H), 4,34 (уш. с., 1 H), 4,99 (д, J=3,18 Гц, 1 H), 6,61 (д, J=15,89 Гц, 1 H), 7,36 (д, J=8,31 Гц, 2 H), 7,81-7,93 (м, J=16,14, 9,29 Гц, 3 H), 8,29 (д, J=2,20 Гц, 1 H), 8,71 (д, J=2,45 Гц, 1 H), 10,21 (с, 1 H).

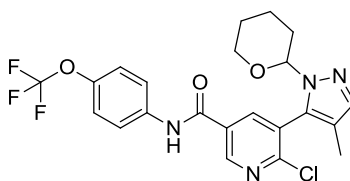
#### Приклад 4

(R)-6-(3-Гідроксипіролідін-1-іл)-5-(4-метил-1H-піразол-5-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід

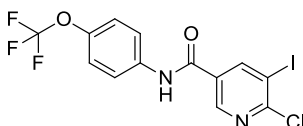


DIPEA (43,9 мкл, 0,252 ммоль) додавали у розчин 6-хлор-5-(4-метил-1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамиду (Стадія 4.1, 55 мг, 0,114 ммоль) та (R)-піролідін-3-олу (11,96 мг, 0,137 ммоль) у iPrOH (114 мкл) у посудині, яку щільно закривали, та нагрівали при 140 °C впродовж 18 годин. Після охолодження до кімнатної температури реакційну суміш розчиняли у EtOAc, промивали насиченим сольовим розчином, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> та розчинник випарювали при зниженому тиску та неочищений продукт очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, EtOAc/MeOH 98:2) з одержанням 6-((R)-3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(4-метил-1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамиду у вигляді не зовсім білої піни. Цю проміжну сполуку (39 мг, 0,073 ммоль) розчиняли у DCM (0,8 мл), обробляли за допомогою TFA (0,262 мл, 3,4 ммоль) та перемішували при кімнатній температурі впродовж 3 годин. Реакційну суміш виливали у 25 мл Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10 % та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> та розчинник випарювали при зниженому тиску, та неочищений продукт очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, DCM/MeOH від 2 % до 10 % MeOH) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді не зовсім білого порошку. ВЕРХ (Умова 4) t<sub>R</sub>=4,46 хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3) t<sub>R</sub>=0,92 хвил., m/z=448,4 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ мн.ч. 1,64-1,81 (м, 2 H), 1,86 (с, 3 H), 2,78-2,97 (м, 1 H), 3,07-3,41 (м, 3 H), 4,18 (уш. с., 1 H), 4,81 (уш. с., 1 H), 7,32 (д, J=8,60 Гц, 2 H), 7,58 (уш. с., 1 H), 7,85 (д, J=9,38 Гц, 2 H), 7,93 (уш. с., 1 H), 8,73 (уш. с., 1 H), 10,14 (с, 1 H), 12,63 (уш. с., 1 H).

Стадія 4.1: 6-Хлор-5-(4-метил-1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід



- 5  $K_3PO_4$  (127 мг, 0,6 ммоль) додавали у розчин 6-хлор-5-йод-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід (Стадія 4.2, 89 мг, 0,2 ммоль) та 4-метил-1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразолу (58,4 мг, 0,2 ммоль) у діоксані (1 мл) у посудині, яку продували аргоном, нагрівали до 110 °C та потім додавали  $PdCl_2(dppf)$  (7,32 мг, 0,01 ммоль). Посудину щільно закривали та реакційну суміш перемішували у атмосфері аргону при 110 °C впродовж 18 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної
- 10 температури, розчиняли у EtOAc та промивали насиченим сольовим розчином. Органічну фазу сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску. Залишок очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, н-гептан/EtOAc від 50 % до 100 % EtOAc) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої піни. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,24$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,22$  хвил.,  $m/z=481,2$   $[M+H]^+$ .
- 15 Стадія 4.2: 6-Хлор-5-йод-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід

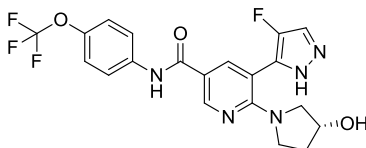


- 20 DMF (0,13 мл) та  $SOCl_2$  (0,734 мл, 10,05 ммоль) додавали до суміші 6-хлор-5-йоднікотинової кислоти (1,00 г, 3,35 ммоль) та 4-(трифторметокси)аніліну (0,623 мг, 3,52 ммоль) у толуолі (7 мл) та реакційну суміш перемішували при 80 °C впродовж 1 години. Розчинник випарювали при зниженому тиску та у атмосфері аргону залишок розчиняли у THF (7,00 мл) та DIPEA (1,17 мл, 6,7 ммоль), охолоджували до -15 °C, обробляли по краплям розчином 4-(трифторметокси)аніліну (0,476 мл, 3,52 ммоль) у THF (7,00 мл) та перемішували при кімнатній
- 25 температурі впродовж 1 години. Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок обробляли водним 1 N розчином HCl (30 мл) та екстрагували за допомогою TBME (100 мл). Об'єднані екстракти промивали насиченим водним розчином  $Na_2CO_3$  (30 мл) та насиченим сольовим розчином (30 мл), сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску, поки не починалася кристалізація. Продукт розтирали у порошок з н-гептаном, фільтрували та сушили з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді не зовсім білої твердої
- 30 речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,36$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,23$  хвил.,  $m/z=441,1$   $[M-H]^-$ .

#### Приклад 5

(R)-5-(4-Фтор-1H-піразол-5-іл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід

35

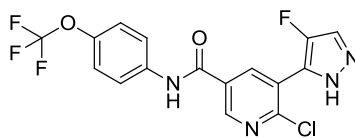


- 40 DIPEA (71,9 мкл, 0,412 ммоль) додавали у розчин 6-хлор-5-(4-фтор-1H-піразол-5-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід (Стадія 5.1, 75 мг, 0,187 ммоль) та (R)-піролідін-3-олу (19,97 мг, 0,225 ммоль) у iPrOH (187 мкл) у посудині, яку щільно закривали та нагрівали при 140 °C впродовж 1 години. Після охолодження при кімнатній температурі реакційну суміш розчиняли у EtOAc та промивали насиченим сольовим розчином, сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, DCM/MeOH від

2 % до 10 % MeOH) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої піни. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=4,73$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,93$  хвил.,  $m/z=452,4$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,64-1,95 (м, 2 H), 3,00 (д,  $J=11,34$  Гц, 1 H), 3,18-3,51 (м, 3 H), 4,22 (уш. с., 1 H), 4,86 (уш. с., 1 H), 7,32 (д,  $J=8,60$  Гц, 2 H), 7,77-8,11 (м, 4 H), 8,76 (уш. с., 1 H), 10,17 (с, 1 H), 12,90 (уш. с., 1 H).

5

Стадія 5.1: 6-Хлор-5-(4-фтор-1H-піразол-5-іл)-N-(4-(трифторметокси)-феніл)-нікотинамід



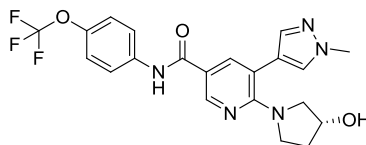
10  $Pd(Ph_3P)_4$  (17,33 мг, 0,015 ммоль) додавали у розчин 6-хлор-5-йод-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід (Стадія 4.2, 133 мг, 0,3 ммоль) та 4-фтор-5-(трибутилстаніл)-1H-піразолу (101 мг, 0,270 ммоль) у ДМСО (1 мл) у посудині у атмосфері аргону. Посудину щільно закривали та реакційну суміш нагрівали при 100 °С впродовж 18 годин. Після охолодження до кімнатної температури реакційну суміш розчиняли у EtOAc, промивали насиченим сольовим розчином, сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, н-гептан/EtOAc від 10 % до 50 % EtOAc) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді не зовсім білого порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=5,5$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,05$  хвил.,  $m/z=399,2$   $[M-H]^-$ .

15

20

Приклад 6

(R)-6-(3-Гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1-метил-1H-піразол-4-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід



25

Суміш (R)-5-бром-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід (Стадія 2.2, 60 мг, 0,134 ммоль), 1-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразолу (42 мг, 0,202 ммоль),  $Pd(PPh_3)_2Cl_2$  (9,44 мг, 0,013 ммоль),  $Na_2CO_3$  (42,8 мг, 0,403 ммоль), DME (570 мкл), води (163 мкл) та EtOH (81 мкл) у мікрохвильовій посудині щільно закривали, відкачували повітря/продували аргonom та піддавали мікрохвильовому опроміненню при 120 °С впродовж 10 хвилин. Реакційну суміш розводили за допомогою THF (1 мл), обробляли за допомогою Si-Thiol (Silicycle, 1,44 ммоль/г, 46,7 мг, 0,067 ммоль), фільтрували та фільтрат випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який очищали за допомогою препаративної ВЕРХ (Умова 9, 25 % впродовж 0,2 хвил. потім від 15 % до 45 % впродовж 14 хвилин) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини. LC-МС (Умова 2)  $t_R=1,61$  хвил.,  $m/z=448,2/449,2$   $[M+H]^+$ ,  $m/z=446,1$   $[M-H]^-$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,71-1,80 (м, 1 H), 1,81-1,91 (м, 1 H), 2,98 (д,  $J=11,25$  Гц, 1 H), 3,25-3,39 (м, 2 H), 3,44-3,53 (м, 1 H), 3,89 (с, 3 H), 4,22 (с, 1 H), 4,84 (с, 1 H), 7,34 (д,  $J=8,56$  Гц, 2 H), 7,53 (с, 1 H), 7,84 (д,  $J=5,38$  Гц, 2 H), 7,86-7,88 (м, 1 H), 7,94 (д,  $J=2,45$  Гц, 1 H), 8,67 (д,  $J=2,45$  Гц, 1 H), 10,14 (с, 1 H).

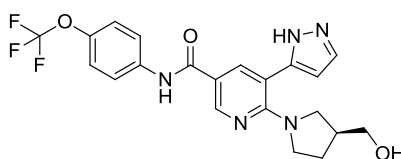
30

35

40

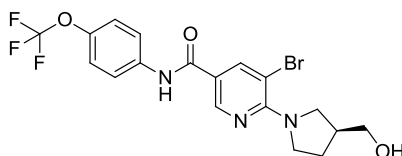
Приклад 7

(S)-6-(3-(Гідроксиметил)піролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували за способом, аналогічним описаному у прикладі 2, з використанням (S)-5-бром-6-(3-(гідроксиметил)піролідин-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинаміду (Стадія 7.1) та (1H-піразол-3-іл)боронової кислоти з одержанням твердої речовини білого кольору. НВЕРХ-МС (Умова 1)  $t_R=1,89$  хвил.,  $m/z=448,0$   $[M+H]^+$ ,  $m/z=446,1$   $[M-H]^-$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,48-1,64 (м, 1 H), 1,77-1,90 (м, 1 H), 2,15-2,28 (м, 1 H), 3,03 (дд,  $J=11,25$ , 6,85 Гц, 1 H), 3,22 (уш. с., 2 H), 3,25-3,31 (м, 2 H), 3,34-3,39 (м, 1 H), 4,62 (уш. с., 1 H), 6,39 (уш. с., 1 H), 7,34 (д,  $J=8,56$  Гц, 2 H), 7,51-7,84 (м, 1 H), 7,83-7,90 (м, 2 H), 8,03 (с, 1 H), 8,68-8,79 (м, 1 H), 10,19 (с, 1 H), 12,87-13,12 (м, 1 H).

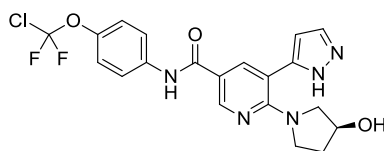
Стадія 7.1: (S)-5-Бром-6-(3-(гідроксиметил)піролідин-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)-феніл)нікотинамід



Суміш 5-бром-6-хлор-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинаміду (Стадія 2.3, 500 мг, 1,264 ммоль), (S)-бета-пролінолгідрохлориду (226 мг, 1,643 ммоль), DIPEA (662 мкл, 3,79 ммоль) та iPrOH (1,945 мл) у щільно закритій посудині піддавали мікрохвильовому опроміненню при 140 °C впродовж 60 хвилин. Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок обробляли водним 0,5 М розчином HCl (20 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти промивали 0,5 М розчином HCl (10 мл) та водою, сушили над  $MgSO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням продукту, який розтирали у порошок з циклогексаном, фільтрували та сушили з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 1)  $t_R=2,76$  хвил.,  $m/z=460,0/462,0$   $[M+H]^+$ ,  $m/z=458,0/460,0$   $[M-H]^-$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,59-1,76 (м, 1 H), 1,92-2,04 (м, 1 H), 2,26-2,44 (м, 1 H), 3,37-3,50 (м, 2 H), 3,56 (дд,  $J=11,00$ , 7,34 Гц, 1 H), 3,67-3,85 (м, 3 H), 4,71 (уш. с., 1 H), 7,35 (д,  $J=8,56$  Гц, 2 H), 7,85 (д, 1 H), 8,34 (д,  $J=1,96$  Гц, 1 H), 8,68 (д,  $J=1,96$  Гц, 1 H), 10,21 (с, 1 H).

#### Приклад 8

(S)-N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід

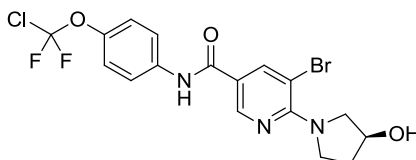


$K_3PO_4$  (41,3 мг, 0,195 ммоль) додавали у розчин (S)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідин-1-іл)нікотинаміду (Стадія 8.1, 30 мг, 0,067 ммоль) та 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразолу (36,2 мг, 0,13 ммоль) у толуолі (0,32 мл) у посудині, яку продували аргонном. Додавали  $Pd(PPh_3)_4$  (3,75 мг, 0,032 ммоль). Посудину щільно закривали та нагрівали при 110 °C впродовж 18 годин. Після охолодження при кімнатній температурі реакційну суміш розчиняли у EtOAc, промивали насиченим сольовим розчином, сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, DCM/MeOH від 2 % до 5 % MeOH) з одержанням N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-((S)-3-гідроксипіролідин-1-іл)-5-(1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)нікотинаміду, частину якого (21 мг, 0,039 ммоль) розчиняли у DCM (0,5 мл), обробляли за допомогою TFA (0,141 мл, 1,82 ммоль) та перемішували при кімнатній температурі впродовж 3 годин. Реакційну суміш виливали у 10 % водний розчин  $Na_2CO_3$  (10 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, DCM/MeOH від 2 % до 5 % MeOH) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=4,49$  хвил.,



хіральна ВЕРХ (CHIRALCEL® OD-H, 250×4,6 мм, елюент: н-гептан/EtOH/MeOH (85:10:5), 1 мл/хвил., УФ DAD,  $t_R$ =13,32 хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R$ =0,92 хвил.,  $m/z$ =450,3  $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,65-1,76 (м, 1 H), 1,77-1,92 (м, 1 H), 2,86-2,97 (м, 1 H), 3,18-3,35 (м, 2 H), 3,34-3,47 (м, 1 H), 4,10-4,24 (м, 1 H), 4,66-4,93 (м, 1 H), 6,28-6,42 (м, 1 H), 7,31 (д,  $J$ =8,99 Гц, 2 H), 7,85 (д,  $J$ =8,99 Гц, 3 H), 7,96-8,05 (м, 1 H), 8,64-8,81 (м, 1 H), 10,17 (с, 1 H), 12,80-13,14 (м, 1 H).

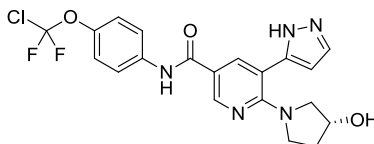
Стадія 8.1: (S)-5-Бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамід



DIPEA (190 мкл, 1,1 ммоль) додавали у розчин 5-бром-6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)нікотинамід (Стадія 9.3, 206 мг, 0,5 ммоль) та (S)-піролідін-3-олу (52,3 мг, 0,6 ммоль) у iPrOH (500 мкл) у посудині, яку щільно закривали та нагрівали при 140 °C впродовж 1 години. Після охолодження при кімнатній температурі реакційну суміш розчиняли у EtOAc, промивали 0,5 М водним розчином HCl та насиченим сольовим розчином, сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, н-гептан/EtOAc від 20 до 100 % EtOAc) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білого кристалічного порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R$ =5,59 хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R$ =1,17 хвил.,  $m/z$ =462,0/464,1  $[M+H]^+$ .

Приклад 9

(R)-N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід



Суміш (R)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамід (Стадія 9.2, 100 мг, 0,216 ммоль) та 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1-((2-(триметилсиліл)етокси)метил)-1H-піразолу (215 мг, 0,663 ммоль),  $Pd(PPh_3)_2Cl_2$  (17 мг, 0,024 ммоль),  $Na_2CO_3$  (115 мг, 1,081 ммоль), DME (917 мкл), води (262 мкл) та EtOH (131 мкл) у мікрохвильовій посудині щільно закривали, відкачували повітря/продували 3 рази аргонном та піддавали мікрохвильовому опроміненню при 125 °C впродовж 20 хвилин. Реакційну суміш розводили за допомогою 2 мл DME, перемішували з Si-Thiol (Silicycle 1,44 ммоль/г, 90 мг, 0,130 ммоль) впродовж 3 годин. Суміш центрифугували та супернатант фільтрували через 0,45 мкм PTFE фільтр, та розчинник випарювали при зниженому тиску. Неочищений продукт очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, 12 г, циклогексан/EtOAc від 40 % до 100 % EtOAc) з одержанням захищеної проміжної сполуки у вигляді безбарвного масла. Потім додавали етилендіамін (96 мкл, 1,428 ммоль) та TBAF 1 M у THF (1,428 мл, 1,428 ммоль) та реакційну суміш перемішували при 80-85 °C впродовж 5 днів. Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок розчиняли у EtOAc (40 мл), промивали 3 рази насиченим водним розчином  $NaHCO_3$  та насиченим сольовим розчином, сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який очищали за допомогою препаративної SFC (колонка DEAP, від 25 % до 30 % впродовж 6 хвилин) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини.

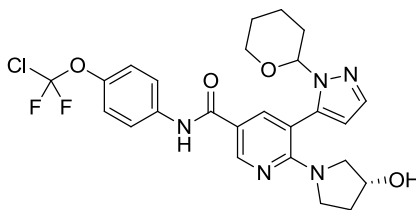
Альтернативно, сполуку прикладу 9 отримували шляхом додавання TFA (168 мл, 2182 ммоль) до розчину N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-((R)-3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)нікотинамід (Стадія 9.1, 31,3 г, 54,6 ммоль) у DCM (600 мл). Суміш перемішували при кімнатній температурі впродовж 2,5 годин. Розчинник

випарювали при зниженому тиску та залишок розчиняли у EtOAc (1,5 л), промивали насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  (3×500 мл) та насиченим сольовим розчином (500 мл), сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який суспендували у DCM (300 мл), перемішували при кімнатній температурі впродовж 15 хвилин, фільтрували, промивали за допомогою DCM (200 мл), сушили та очищали за допомогою хроматографії (силікагель, 1 кг, DCM/MeOH 95:5). Залишок розчиняли у MeOH (500 мл) та обробляли за допомогою Si-Thiol (Biotage, 5,0 г, 6,5 ммоль) впродовж 16 годин при 25 °C. Смолу відфільтровували, розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок кристалізували з MeCN з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої кристалічної твердої речовини.

Альтернативно, сполуку прикладу 9 отримували шляхом додавання по краплям водного розчину HCl (7,7 мл 6 М) до розчину N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-((R)-3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)нікотинамід (Стадія 9.1, 3,8 г, 7,12 ммоль) у MeOH (20 мл) та THF (10 мл) при охолодженні (нижче 35 °C). Суміш перемішували при 22 °C впродовж 2 годин та потім додавали до охолодженого (10 °C) 1,2 М розчину NaOH (22 мл). Під час додавання температуру підтримували нижче 30 °C та pH підтримували у межах 9-10. Реакційну суміш потім перемішували впродовж 30 хвилин при 30 °C. Розчинник випарювали при зниженому тиску, поки бажана сполука не осаджувалась. Осад фільтрували та сушили з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді жовтої твердої речовини.

Аналітичні дані для прикладу 9: ВЕРХ (Умова 5)  $t_R$ =5,54 хвил., хіральна ВЕРХ (CHIRALCEL® OD-H, 250×4,6 мм, елюент: н-гептан/EtOH/MeOH (85:10:5), 1 мл/хвил., УФ 210 нм)  $t_R$ =10,17 хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R$ =0,93 хвил.,  $m/z$ =450,3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ,  $m/z$ =494,1  $[\text{M}+\text{мурашина кислота-H}]^-$ ;  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,65-1,76 (м, 1 H), 1,76-1,87 (м, 1 H), 2,93 (д, J=11,73 Гц, 1 H), 3,19-3,29 (м, 2 H), 3,35-3,51 (м, 1 H), 4,10-4,25 (м, 1 H), 4,89 (уш. с., 1 H), 6,41 (уш. с., 1 H), 7,33 (д, J=8,50 Гц, 2 H), 7,57/7,83 (уш. с., 1 H), 7,90 (д, J=8,50 Гц, 2 H), 8,07 (уш. с., 1 H), 8,77 (уш. с., 1 H), 10,23 (с, 1 H), 12,97/13,15 (уш. с., 1 H).

Стадія 9.1: N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-6-((R)-3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)нікотинамід



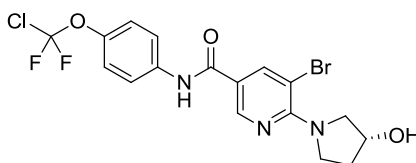
1-(Тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразол (29,6 г, 102 ммоль),  $\text{K}_3\text{PO}_4$  (51,6 г, 236 ммоль) та  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (4,55 г, 3,93 ммоль) додавали до суспензії (R)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамід (Стадія 9.2, 36,4 г, 79 ммоль) у толуолі (360 мл) у атмосфері аргону та суміш перемішували при 110 °C впродовж 4 годин. Реакційну суміш виливали у насичений сольовий розчин (500 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc (2×1 л). Об'єднані екстракти промивали насиченим сольовим розчином (500 мл), сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який очищали за допомогою хроматографії (колонка з силікагелем, 1,5 кг, DCM/MeOH 95:5) з одержанням темно-жовтої піни, яку розчиняли у MeOH/DCM (1 л суміші 3:1) та обробляли за допомогою Si-Thiol (Biotage, 35 г, 45,5 ммоль) впродовж 17 годин при 30 °C. Смолу відфільтровували та розчинник випарювали при зниженому тиску, поки бажана сполука кристалізувалася. Продукт фільтрували, промивали за допомогою MeOH та сушили з одержанням зазначеної у заголовку сполуки.

Альтернативно, сполуку Стадії 9.1 отримували шляхом додавання 4-(хлордифторметокси)аніліну (16,6 г, 84,9 ммоль), NMM (21,7 г, 212,1 ммоль), гідроксибензотриазолгідрату ( $\text{HOBT} \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 11,9 г, 77,77 ммоль) та 1-етил-3-(3-диметиламінопропіл)карбодіімідгідрохлориду ( $\text{EDCI} \cdot \text{HCl}$ , 20,9 г, 109,0 ммоль) до розчину 6-((R)-3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)нікотинової кислоти (Стадія 9.4, 29,83 г, 70,7 ммоль) у THF (271 мл). Суміш перемішували впродовж 1,5 годин при 25 °C та потім при 65 °C впродовж 16 годин. Після охолодження реакційної суміші до 35 °C додавали  $\text{EDCI} \cdot \text{HCl}$  (13,3 г, 69,4 ммоль) та реакційну суміш перемішували впродовж 1,5 годин

при 35 °С, потім знову при 65 °С впродовж 16 годин. Після охолодження реакційної суміші до 35 °С додавали воду (150 мл), THF видаляли при зниженому тиску, додавали EtOAc (180 мл) та суміш перемішували при 35 °С впродовж 1 години. Два шари розділяли та водну фазу потім екстрагували за допомогою EtOAc (60 мл). Об'єднані органічні шари промивали водою (90 мл), насиченим сольовим розчином (90 мл). Розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням коричневої твердої речовини, яку очищали за допомогою колонкової хроматографії (силікагель, DCM/MeOH від 40:1 до 20:1) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді жовтої твердої речовини.

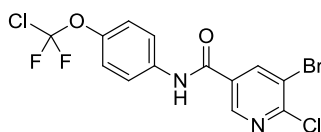
Аналітичні дані для Стадії 9.1: ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=6,12$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,06$  хвил.,  $m/z=533,2$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,36-2,02 (м, 7 H), 2,23-2,38 (м, 1 H), 3,08-3,29 (м, 2 H), 3,32-3,52 (м, 2 H), 3,73-3,93 (м, 1 H), 4,13-4,25 (м, 1 H), 4,80-4,90 (м, 1 H), 4,95-5,17 (м, 1 H), 6,33-6,50 (м, 1 H), 7,33 (д,  $J=8,99$  Гц, 2 H), 7,61 (д,  $J=1,56$  Гц, 1 H), 7,86 (д,  $J=8,99$  Гц, 2 H), 7,97-8,11 (м, 1 H), 8,82 (с, 1 H), 10,13-10,25 (м, 1 H).

Стадія 9.2: (R)-5-Бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідин-1-іл)нікотинамід



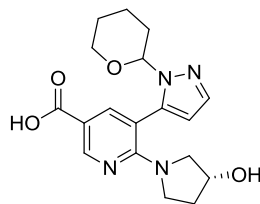
(R)-Піролідин-3-ол (9,55 г, 109,6 ммоль) та DIPEA (35,1 мл, 201,3 ммоль) додавали до суспензії 5-бром-6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)нікотинамід (Стадія 9.3, 37,7 г, 91,5 ммоль) у iPrOH (65 мл) та перемішували при 140 °С впродовж 1 години. Додавали EtOAc (700 мл) та розчин промивали 1N розчином HCl (2×200 мл), насиченим розчином NaHCO<sub>3</sub> (200 мл) та насиченим сольовим розчином (2×200 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> та розчин концентрували при зниженому тиску, поки не починалася кристалізація. Додавали н-гептан (1 л) та суміш перемішували при кімнатній температурі впродовж 30 хвилин, фільтрували та промивали за допомогою iPr<sub>2</sub>O (500 мл) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої кристалічної твердої речовини. ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=6,68$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,10$  хвил.,  $m/z=462,2/464,2$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,78–2,01 (м, 2 H), 3,55 (д,  $J=11,34$  Гц, 1 H), 3,66–3,75 (м, 1 H), 3,79-3,93 (м, 2 H), 4,34 (уш. с., 1 H), 4,98 (д,  $J=3,13$  Гц, 1 H), 7,32 (д,  $J=8,99$  Гц, 2 H), 7,84 (д,  $J=8,99$  Гц, 2 H), 8,33 (д,  $J=1,96$  Гц, 1 H), 8,66 (д,  $J=1,96$  Гц, 1 H), 10,21 (с, 1 H).

Стадія 9.3: 5-Бром-6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)нікотинамід



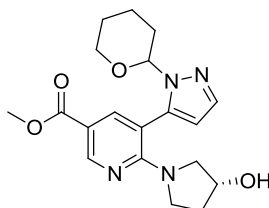
DMF (2,55 мл, 33,0 ммоль) та SOCl<sub>2</sub> (24,08 мл, 330 ммоль) додавали до суспензії 5-бром-6-хлорнікотинової кислоти (26 г, 110 ммоль) у толуолі (220 мл) та реакційну суміш перемішували при 80 °С впродовж 1 години. Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок розчиняли у THF (220 мл) та охолоджували до -16 °С. Додавали DIPEA (38,4 мл, 220 ммоль) з наступним додаванням по краплям розчину 4-(хлордифторметокси)аніліну (22,35 г, 115 ммоль) у THF (220 мл) впродовж 15 хвилин. Суспензію перемішували впродовж 1 години при кімнатній температурі. Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок розчиняли у TBME (700 мл), промивали 1 N розчином HCl (2×200 мл), насиченим розчином NaHCO<sub>3</sub> (200 мл) та насиченим сольовим розчином (2×200 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням продукту, який кристалізували з EtOAc-н-гептану з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої кристалічної твердої речовини. ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=7,77$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,24$  хвил.,  $m/z=409,1/411,1/413,1$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 7,38 (д,  $J=8,99$  Гц, 2 H), 7,85 (д,  $J=8,99$  Гц, 2 H), 8,72 (уш. с., 1 H), 8,92 (уш. с., 1 H), 10,68 (с, 1 H).

Стадія 9.4: 6-((R)-3-Гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)нікотинава кислота



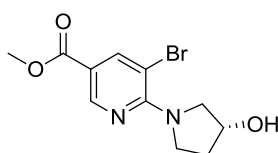
5 Водний розчин NaOH (180 мл 2,6 М) додавали у розчин метил 6-((R)-3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)нікотинату (Стадія 9.5, 111 г, 299 ммоль) у MeOH (270 мл) та реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі впродовж 14 годин. MeOH випарювали при зниженому тиску та водний залишок обробляли насиченим сольовим розчином (90 мл), екстрагували за допомогою MeTHF двічі (540 мл + 360 мл) та об'єднані органічні шари промивали водою (90 мл). Додавали MeTHF до об'єднаних водних шарів, двофазну суміш охолоджували до 0 °C та підкислювали (pH=4-4,5) водним розчином HCl (18 %), та екстрагували за допомогою MeTHF. Об'єднані органічні екстракти промивали насиченим сольовим розчином та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який перекристалізовували з суміші EtOAc/TBME (1:1) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 7)  $t_R=4,74$  хвил., LC-МС (Умова 8)  $t_R=3,37$  хвил.,  $m/z=359,0$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,44 (уш. с., 2 H), 1,51 (д,  $J=11,54$  Гц, 2 H), 1,64-1,86 (м, 4 H), 1,90 (уш. с., 1 H), 2,31 (д,  $J=9,29$  Гц, 1 H), 2,77 (уш. с., 1 H), 3,10 (уш. с., 1 H), 3,21 (д,  $J=8,78$  Гц, 2 H), 3,27-3,51 (м, 4 H), 3,87 (д,  $J=11,54$  Гц, 1 H), 4,16 (уш. с., 1 H), 4,75-4,93 (м, 1 H), 5,04 (уш. с., 1 H), 6,35 (д,  $J=17,32$  Гц, 1 H), 7,51-7,64 (м, 1 H), 7,64-7,82 (м, 1 H), 8,67 (д,  $J=2,26$  Гц, 1 H), 12,58 (уш. с., 1 H).

Стадія 9.5: Метил 6-((R)-3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)нікотинат



25 Суміш (R)-метил 5-бром-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинату (Стадія 9.6, 90 г, 299 ммоль), пінаколінового ефіру 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-боронової кислоти (103,9 г, 373,6 ммоль),  $K_3PO_4$  (126,9 г, 597,7 ммоль),  $Pd(PPh_3)_2Cl_2$  (6,29 г, 8,97 ммоль) у толуолі (900 мл) перемішували при 92 °C та впродовж 16 годин. Після охолодження суміші до кімнатної температури розчин промивали водою (450 мл), 5 % розчином  $NaHCO_3$  (430 мл) та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який використовували без подальшого очищення на наступній стадії. ВЕРХ (Умова 7)  $t_R=6,929$  хвил., LC-МС (Умова 8)  $t_R=4,30$  хвил.,  $m/z=373,0$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,19-1,28 (м, 1 H), 1,35-1,63 (м, 4 H), 1,63-1,86 (м, 3 H), 1,89 (уш. с., 1 H), 2,12-2,39 (м, 1 H), 3,11 (уш. с., 1 H), 3,18-3,48 (м, 4 H), 3,78 (с, 4 H), 3,88 (д,  $J=11,54$  Гц, 1 H), 4,08-4,24 (м, 1 H), 4,86 (дд,  $J=18,20, 2,89$  Гц, 1 H), 5,02 (д,  $J=8,28$  Гц, 1 H), 6,39 (уш. с., 1 H), 7,58 (д,  $J=1,25$  Гц, 1 H), 7,78 (уш. с., 1 H), 8,69 (т,  $J=2,01$  Гц, 1 H).

Стадія 9.6: (R)-метил 5-бром-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинат

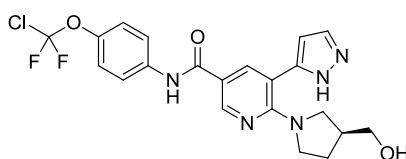


40

DIPEA (105,3 г, 142,2 мл, 814,4 ммоль) додавали у розчин метил-5-бром-6-хлорнікотинату (85 г, 339,5 ммоль) та (R)-піролідін-3-олу (54,2 г, 441,2 ммоль) у ізопропілацетаті та реакційну суміш перемішували при 70 °C впродовж 14 годин. Розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який розчиняли у толуолі (850 мл), промивали водою (127 мл) та насиченим сольовим розчином (127 мл) та концентрували при зниженому тиску поки не починалось осадження. У перемішувану суміш, яку потім охолоджували до 0 °C, повільно додавали н-гептан (340 мл) при 22 °C та продукт фільтрували, промивали сумішшю толуол/н-гептан (1:1,5) та сушили з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді жовтої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 7)  $t_R=8,54$  хвил., LC-МС (Умова 8)  $t_R=4,62$  хвил.,  $m/z=300,9/302,9$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,77-1,99 (м, 2 H), 3,57 (д,  $J=11,54$  Гц, 1 H), 3,72 (дд,  $J=11,11$ , 7,97, 3,26 Гц, 1 H), 3,78 (с, 3 H), 3,81-3,90 (м, 2 H), 4,26-4,39 (м, 1 H), 4,99 (уш. с., 1 H), 8,11 (д,  $J=2,01$  Гц, 1 H), 8,56 (д,  $J=1,76$  Гц, 1 H).

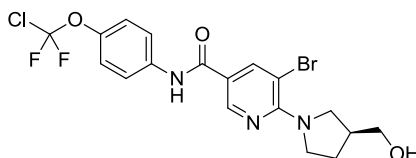
Приклад 10

(S)-N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-6-(3-(гідроксиметил)піролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід



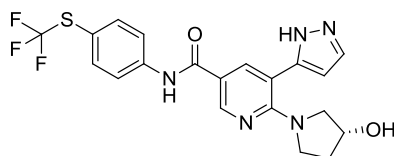
Суміш (S)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-(гідроксиметил)-піролідін-1-іл)нікотинамід (Стадія 10.1, 119 мг, 0,25 ммоль), 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразолу (139 мг, 0,5 ммоль),  $Pd(PPh_3)_2Cl_2$  (0,018 г, 0,025 ммоль),  $Na_2CO_3$  (0,106 г, 1,000 ммоль), DME (1,061 мл), води (0,303 мл) та EtOH (0,152 мл) додавали у мікрохвильову посудину, яку щільно закривали, відкачували повітря/продували 3 рази аргонном, потім піддавали мікрохвильовому опроміненню при 125 °C впродовж 20 хвилин. Реакційну суміш розводили за допомогою DME (2 мл) та перемішували впродовж ночі з Si-Thiol (Silicycle 1,43 ммоль/г, 0,105 г, 0,150 ммоль). Суміш центрифугували та супернатант фільтрували через 0,45 мкм PTFE фільтр та розчинник випарювали при зниженому тиску. Неочищений продукт очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, 12 г, циклогексан/EtOAc від 20 % до 90 % EtOAc) з одержанням захищеної проміжної сполуки, яку обробляли сумішшю DCM (2,5 мл) та TFA (0,963 мл, 12,50 ммоль) та перемішували при кімнатній температурі впродовж 2 годин. Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок обробляли 7 N розчином  $NH_3$  у MeOH (2 мл, 14 ммоль). Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок очищали за допомогою препаративної SFC (Колонка DEAP, ізократичне елювання 28 % впродовж 9 хвилин) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді жовтого масла. НВЕРХ-МС (Умова 1)  $t_R=1,87$  хвил.,  $m/z=464,1$   $[M+H]^+$ ,  $m/z=462,1$   $[M-H]^-$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,49-1,65 (м, 1 H), 1,75-1,97 (м, 1 H), 2,14-2,30 (м, 1 H), 3,04 (дд,  $J=11,37$ , 6,97 Гц, 1 H), 3,14-3,26 (м, 2 H), 3,26-3,29 (м, 1 H), 3,35-3,46 (м, 2 H), 4,60 (т,  $J=5,14$  Гц, 1 H), 6,39 (д,  $J=1,96$  Гц, 1 H), 7,33 (д,  $J=9,05$  Гц, 2 H), 7,76 (уш. с., 1 H), 7,84-7,94 (м, 2 H), 8,04 (д,  $J=2,45$  Гц, 1 H), 8,74 (с, 1 H), 10,18 (с, 1 H), 12,87 (уш. с., 1 H).

Стадія 10.1: (S)-5-Бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-(гідроксиметил)-піролідін-1-іл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 9.2, з використанням 5-бром-6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-нікотинамід (Стадія 9.3) та (S)-1-піролідін-3-іл-метанолу з одержанням не зовсім білої кристалічної твердої речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=5,82$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,14$  хвил.,  $m/z=476,2/478,3$   $[M+H]^+$ .

Приклад 11  
 (R)-6-(3-Гідроксипіролідин-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)-N-(4-  
 ((трифторметил)тіо)феніл)нікотинамід

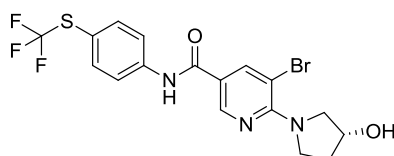


5

Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано у прикладі 9, з використанням

(R)-5-бром-6-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-N-(4-  
 ((трифторметил)тіо)феніл)нікотинамід (Стадія 11.1) та 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-  
 діоксаборолан-2-іл)-1-((2-(триметилсиліл)етокси)метил)-1H-піразолу з одержанням твердої  
 речовини білого кольору. НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,97$  хвил.,  $m/z=450,2$   $[M+H]^+$ ,  $m/z=448,1$   $[M-H]^-$   
 ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,67-1,78 (м, 1 H), 1,78-1,88 (м, 1 H), 2,94 (д,  $J=11,92$  Гц, 1  
 H), 3,19-3,34 (м, 2 H), 3,38-3,50 (м, 1 H), 4,20 (уш. с., 1 H), 4,81-4,93 (м, 1 H), 6,33-6,45 (м, 1 H),  
 7,83 (м,  $J=113,40$ , 8,20 Гц, 3 H), 7,93 (д,  $J=8,66$  Гц, 2 H), 7,99-8,08 (м, 1 H), 8,70-8,81 (м, 1 H),  
 10,30 (с, 1 H), 12,90-13,16 (м, 1 H).

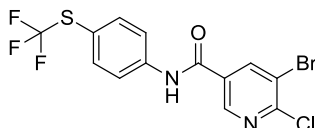
Стадія 11.1: (R)-5-Бром-6-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-N-(4-((трифторметил)тіо)-  
 феніл)нікотинамід



20

DIPEA (73 мкл, 0,42 ммоль) додавали у розчин 5-бром-6-хлор-N-(4-  
 ((трифторметил)тіо)феніл)нікотинамід (Стадія 11.2, 123 мг, 0,3 ммоль) та (R)-піролідин-3-олу  
 (31,4 мг, 0,36 ммоль) у iPrOH (300 мкл) у посудині, яку щільно закривали та нагрівали при 140 °C  
 впродовж 1 години. Після охолодження при кімнатній температурі реакційну суміш розводили за  
 допомогою EtOAc, промивали насиченим сольовим розчином, сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник  
 випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який розтирали у порошок з  $iPr_2O$ ,  
 фільтрували та сушили з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білого  
 кристалічного порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=5,9$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,21$  хвил.,  
 $m/z=464,1$   $[M+H]^+$ .

Стадія 11.2: 5-Бром-6-хлор-N-(4-((трифторметил)тіо)феніл)нікотинамід

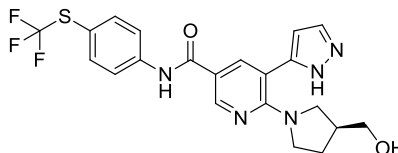


Додавали DMF (0,12 мл) з наступним повільним додаванням  $SOCl_2$  (0,73 мл, 10 ммоль) до  
 суміші 5-бром-6-хлорнікотинової кислоти (473 мг, 2 ммоль) у толуолі (5 мл) та реакційну суміш  
 потім перемішували при 80 °C впродовж 1 години. Після охолодження при кімнатній температурі  
 толуол випарювали при зниженому тиску та залишок розчиняли у THF (0,4 мл). Додавали  
 DIPEA (0,7 мл, 4 ммоль) та розчин охолоджували до 0 °C у атмосфері азоту. Потім по краплям  
 додавали 4-трифторметилсульфаніл-анілін (438 мг, 2,2 ммоль) у THF (1 мл) та реакційну суміш  
 перемішували при 0 °C впродовж 2 годин. Реакційну суміш розводили за допомогою TBME (50  
 мл), обробляли 1 М розчином HCl та екстрагували за допомогою TBME. Об'єднані екстракти  
 промивали 1 М водним розчином NaOH та насиченим сольовим розчином, сушили над  $Na_2SO_4$   
 та розчинник випарювали при зниженому тиску та продукт кристалізували з суміші TBME/н-

гексан з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді не зовсім білого кристалічного порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,63$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,33$  хвил.,  $m/z=411,1$   $[M+H]^+$ .

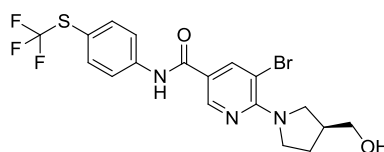
Приклад 12

(S)-6-(3-(Гідроксиметил)піролідин-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)-N-(4-  
5 ((трифторметил)тіо)феніл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано у прикладі 10, з  
10 використанням (S)-5-бром-6-(3-(гідроксиметил)піролідин-1-іл)-N-(4-  
((трифторметил)тіо)феніл)нікотинамід (Стадія 12.1) та 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-  
тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразолу з одержанням блідо-жовтого порошку.  
НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,99$  хвил.,  $m/z=464,2$   $[M+H]^+$ ,  $m/z=462,2$   $[M-H]^-$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  
15 ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,48-1,64 (м, 1 H), 1,76-1,93 (м, 1 H), 2,15-2,27 (м, 1 H), 3,04 (дд,  $J=11,49$ , 7,09  
Гц, 1 H), 3,18-3,26 (м, 2 H), 3,27-3,29 (м, 1 H), 3,32-3,41 (м, 2 H), 4,60 (уш. с., 1 H), 6,39 (д,  $J=1,71$   
Гц, 1 H), 7,67 (д,  $J=8,56$  Гц, 2 H), 7,80 (уш. с., 1 H), 7,87-7,99 (м, 2 H), 8,04 (д,  $J=2,45$  Гц, 1 H), 8,74  
(уш. с., 1 H), 10,28 (с, 1 H), 12,76-13,20 (м, 1 H).

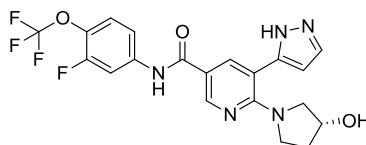
Стадія 12.1: (S)-5-Бром-6-(3-(гідроксиметил)піролідин-1-іл)-N-(4-  
20 ((трифторметил)тіо)феніл)нікотинамід



DIPEA (4,89 мл, 28,0 ммоль) додавали у розчин 5-бром-6-хлор-N-(4-  
25 ((трифторметил)тіо)феніл)нікотинамід (Стадія 11.2, 2,88 г, 7,0 ммоль) та (S)-1-піролідин-3-іл-  
метанолу (1,156, 8,40 ммоль) у iPrOH (7,0 мл) у посудині, яку щільно закривали та потім  
нагрівали при 140 °C впродовж 1 години. Після охолодження при кімнатній температурі  
реакційну суміш розчиняли у EtOAc, промивали водним 0,5 М розчином HCl та насиченим  
сольовим розчином, сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з  
30 одержанням залишку, який розтирали у порошок з  $iPr_2O$ , фільтрували та сушили з одержанням  
зазначеної у заголовку сполуки у вигляді бежевого кристалічного порошку. ВЕРХ (Умова 4)  
 $t_R=6,17$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,20$  хвил.,  $m/z=476,2/478,2$   $[M+H]^+$ .

Приклад 13

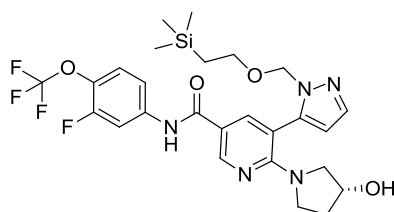
(R)-N-(3-Фтор-4-(трифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-5-(1H-піразол-5-  
35 іл)нікотинамід



Суміш (R)-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-5-(1-((2-  
40 (триметилсиліл)етокси)метил)-1H-піразол-5-іл)нікотинамід (Стадія 13.1, 64 мг, 0,11 ммоль),  
етилендіаміну (37,2 мкл, 0,55 ммоль) та 1 М розчину TBAF у THF (1,651 мл, 1,651 ммоль) у  
мікрохвильовій посудині щільно закривали та перемішували при 80-85 °C впродовж 20 годин.  
Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок розчиняли у EtOAc (40 мл), промивали  
3 рази насиченим водним розчином  $NaHCO_3$  та насиченим сольовим розчином, сушили над  
 $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту,

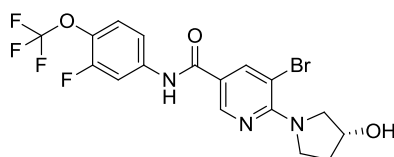
який очищали за допомогою препаративної SFC (Колонка Diol, ізократична хроматографія 27 %) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді білої твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,95$  хвил.,  $m/z=452,3$   $[M+H]^+$ ,  $m/z=450,3$   $[M-H]^-$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,64-1,78 (м, 1 H), 1,78-1,89 (м, 1 H), 2,95 (д,  $J=11,74$  Гц, 1 H), 3,29 (уш. с., 2 H), 3,37-3,49 (м, 1 H), 4,20 (уш. с., 1 H), 4,83 (уш. с., 1 H), 6,35-6,42 (м, 1 H), 7,52 (т,  $J=9,05$  Гц, 1 H), 7,62 (д,  $J=9,29$  Гц, 1 H), 7,74 (уш. с., 1 H), 7,98 (дд,  $J=13,20, 2,20$  Гц, 1 H), 8,02 (д,  $J=2,20$  Гц, 1 H), 8,74 (д,  $J=1,71$  Гц, 1 H), 10,31 (уш. с., 1 H), 12,95 (уш. с., 1 H).

Стадія 13.1: (R)-N-(3-Фтор-4-(трифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1-((2-(триметилсиліл)етокси)метил)-1H-піразол-5-іл)нікотинамід



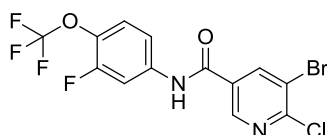
Суміш (R)-5-бром-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамід (Стадія 13.2, 100 мг, 0,215 ммоль), 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1-((2-(триметилсиліл)етокси)метил)-1H-піразолу (104 мг, 0,321 ммоль),  $Pd(PPh_3)_2Cl_2$  (15,2 мг, 0,022 ммоль),  $Na_2CO_3$  (91 мг, 0,862 ммоль), DME (914 мкл), води (261 мкл) та EtOH (131 мкл) у мікрохвильовій посудині щільно закривали, відкачували повітря/продували 3 рази аргонном та піддавали мікрохвильовому опроміненню при  $125^\circ C$  впродовж 20 хвилин. Реакційну суміш розводили за допомогою DME (3 мл), потім перемішували впродовж ночі з Si-Thiol (Silicycle 1,44 ммоль/г, 90 мг, 0,129 ммоль). Суміш центрифугували та супернатант фільтрували через 0,45 мкм PTFE фільтр та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який очищали за допомогою препаративної SFC (колонка DEAP, від 15 % до 20 % впродовж 6 хвилин) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді жовтого прозорого масла. НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,28$  хвил.,  $m/z=581,2$   $[M+H]^+$ ,  $m/z=580,4$   $[M-H]^-$ .

Стадія 13.2: (R)-5-Бром-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 9.2, з використанням 5-бром-6-хлор-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)феніл)-нікотинамід (Стадія 13.3) та (R)-піролідін-3-олу з одержанням не зовсім білої кристалічної твердої речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=5,82$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,17$  хвил.,  $m/z=464,1$   $[M+H]^+$ .

Стадія 13.3: 5-Бром-6-хлор-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід

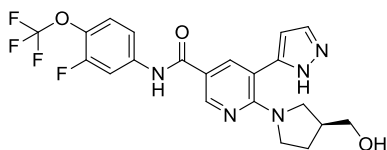


Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 11.2 з використанням 5-бром-6-хлорнікотинової кислоти та 3-фтор-4-трифторметокси-аніліну з одержанням не зовсім білої кристалічної твердої речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,43$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,29$  хвил.,  $m/z=413$   $[M-H]^-$ .

Приклад 14



(S)-N-(3-Фтор-4-(трифторметокси)феніл)-6-(3-(гідроксиметил)піролідин-1-іл)-5-(1Н-піразол-5-іл)нікотинамід



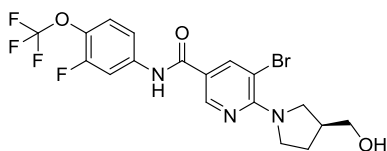
5

Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано у прикладі 10, з використанням (S)-5-бром-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)феніл)-6-(3-(гідроксиметил)піролідин-1-іл)нікотинамід (Стадія 14.1) та 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразолу з одержанням блідо-жовтого порошку. НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,96$  хвил.,  $m/z=466,2$   $[M+H]^+$ ,  $m/z=464,2$   $[M-H]^-$ .  $^1H$ -ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 2,77 (с, 3 H), 3,38–3,61 (м, 4 H), 4,61 (уш. с., 1 H), 6,47 (с, 1 H), 7,68 (д,  $J=8,56$  Гц, 2 H), 7,83 (уш. с., 1 H), 7,93 (д,  $J=8,80$  Гц, 2 H), 8,15 (уш. с., 1 H), 8,71 (уш. с., 1 H), 10,36 (с, 1 H), 12,83–13,15 (м, 1 H).

10

Стадія 14.1: (S)-5-Бром-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)феніл)-6-(3-(гідроксиметил)піролідин-1-іл)нікотинамід

15



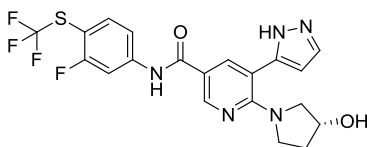
Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 9.2, з використанням 5-бром-6-хлор-N-(3-фтор-4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід (Стадія 13.3) та (S)-1-піролідин-3-іл-метанолу з одержанням не зовсім білої кристалічної твердої речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=5,99$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,18$  хвил.,  $m/z=478,1/480,1$   $[M+H]^+$ .

20

Приклад 15

(R)-N-(3-Фтор-4-((трифторметил)тіо)феніл)-6-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-5-(1Н-піразол-5-іл)нікотинамід

25

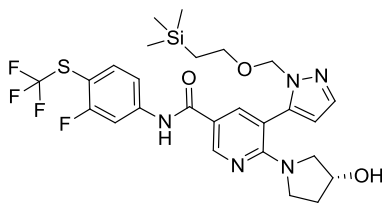


Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано у прикладі 13, з використанням (R)-N-(3-фтор-4-((трифторметил)тіо)феніл)-6-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-5-(1-((2-(триметилсиліл)етокси)метил)-1H-піразол-5-іл)нікотинамід (Стадія 15.1) з одержанням білуватої твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,00$  хвил.,  $m/z=468,3$   $[M+H]^+$ ,  $m/z=466,1$   $[M-H]^-$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,68–1,78 (м, 1 H), 1,79–1,89 (м, 1 H), 2,96 (д,  $J=11,74$  Гц, 1 H), 3,24–3,30 (м, 2 H), 3,40–3,49 (м, 1 H), 4,20 (д,  $J=2,20$  Гц, 1 H), 4,84 (уш. с., 1 H), 6,38 (д,  $J=1,96$  Гц, 1 H), 7,66–7,78 (м, 3 H), 7,98 (дд,  $J=11,98$ , 1,96 Гц, 1 H), 8,03 (д,  $J=2,45$  Гц, 1 H), 8,75 (д,  $J=2,45$  Гц, 1 H), 10,24–10,72 (м, 1 H), 12,59–13,22 (м, 1 H).

30

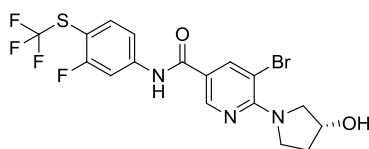
35

Стадія 15.1: (R)-N-(3-Фтор-4-((трифторметил)тіо)феніл)-6-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-5-(1-((2-(триметилсиліл)етокси)метил)-1H-піразол-5-іл)нікотинамід



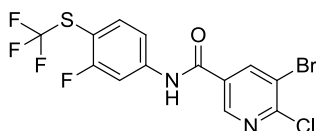
Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 13.1, з використанням (R)-5-бром-N-(3-фтор-4-((трифторметил)тіо)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамід (Стадія 15.2) та 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксaborолан-2-іл)-1-((2-(триметилсиліл)етокси)метил)-1H-піразолу з одержанням жовтої смоли. НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,33$  хвил.,  $m/z=598,4$   $[M+H]^+$ ,  $m/z=596,5$   $[M-H]^-$ .

Стадія 15.2: (R)-5-Бром-N-(3-фтор-4-((трифторметил)тіо)феніл)-6-(3-гідрокси-піролідін-1-іл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 9.2, з використанням 5-бром-6-хлор-N-(3-фтор-4-((трифторметил)тіо)-феніл)нікотинамід (Стадія 15.3) та (R)-піролідін-3-олу з одержанням не зовсім білої кристалічної твердої речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,11$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,23$  хвил.,  $m/z=480,1$   $[M+H]^+$ .

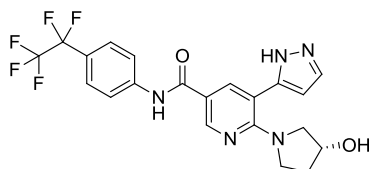
Стадія 15.3: 5-Бром-6-хлор-N-(3-фтор-4-((трифторметил)тіо)феніл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 11.2, з використанням 5-бром-6-хлорнікотинової кислоти та 3-фтор-4-трифторметилсульфаніл-аніліну з одержанням білої кристалічної речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,71$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,34$  хвил.,  $m/z=429$   $[M-H]^-$ .

Приклад 16

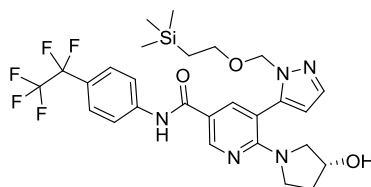
(R)-6-(3-Гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(перфторетил)феніл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід



Суміш (R)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(перфторетил)феніл)-5-(1-((2-(триметилсиліл)етокси)метил)-1H-піразол-5-іл)нікотинамід (Стадія 16.1, 68 мг, 0,114 ммоль) та етилендіаміну (38,4 мкл, 0,569 ммоль) поміщали у мікрохвильову посудину та щільно закривали у атмосфері аргону, додавали 1 М TBAF в THF (1,707 мл, 1,707 ммоль) та реакційну суміш перемішували при 80 °C впродовж 20 годин. Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок розчиняли у EtOAc (40 мл), промивали 3 рази насиченим водним розчином  $\text{NaHCO}_3$  та насиченим сольовим розчином, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який очищали за допомогою препаративної SFC (колонка Diol,

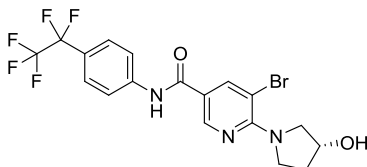
ізократична хроматографія 27 % впродовж 9 хвилин) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді не зовсім білої твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,98$  хвил.,  $m/z=468,2$   $[M+H]^+$ ,  $m/z=466,2$   $[M-H]^-$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,68-1,78 (м, 1 H), 1,83 (дд,  $J=8,80, 4,40$  Гц, 1 H), 2,96 (д,  $J=11,74$  Гц, 1 H), 3,19-3,29 (м, 2 H), 3,40-3,50 (м, 1 H), 4,20 (уш. с., 1 H), 4,83 (уш. с., 1 H), 6,39 (д,  $J=1,96$  Гц, 1 H), 7,65 (д,  $J=8,80$  Гц, 2 H), 7,77 (уш. с., 1 H), 8,02 (д,  $J=9,05$  Гц, 2 H), 8,05 (д,  $J=2,45$  Гц, 1 H), 8,76 (д,  $J=2,20$  Гц, 1 H), 10,33 (с, 1 H), 12,91 (уш. с., 1 H).

Стадія 16.1: (R)-6-(3-Гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(перфторетил)феніл)-5-((2-(триметилсиліл)етокси)метил)-1H-піразол-5-іл)нікотинамід



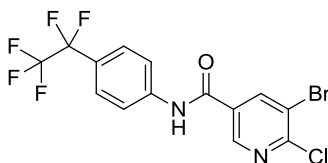
Суміш (R)-5-бром-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(перфторетил)феніл)-нікотинамід (Стадія 16.2, 100 мг, 0,208 ммоль), 5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1-((2-(триметилсиліл)етокси)метил)-1H-піразолу (135 мг, 0,416 ммоль),  $Pd(PPh_3)_2Cl_2$  (14,62 мг, 0,021 ммоль),  $Na_2CO_3$  (88 мг, 0,833 ммоль), DME (883 мкл), води (252 мкл) та EtOH (126 мкл) поміщали у мікрохвильову посудину, яку щільно закривали, відкачували повітря/продували 3 рази аргонном та піддавали мікрохвильовому опроміненню при 125 °C впродовж 20 хвилин. Реакційну суміш розводили за допомогою 3 мл DME, потім перемішували впродовж ночі з Si-Thiol (Silicycle 1,44 ммоль/г, 87 мг, 0,125 ммоль) впродовж ночі. Суміш центрифугували та супернатант фільтрували через 0,45 мкм PTFE фільтр та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який очищали за допомогою препаративної SFC (колонка Diol, від 15 % до 20 % впродовж 6 хвилин) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді безбарвної прозорої смоли. НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,31$  хвил.,  $m/z=598,4$   $[M+H]^+$ ,  $m/z=596,3$   $[M-H]^-$ .

Стадія 16.2: (R)-5-Бром-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(перфторетил)-феніл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 9.2, з використанням 5-бром-6-хлор-N-(4-(перфторетил)феніл)нікотинамід (Стадія 16.3) та (R)-піролідін-3-олу з одержанням не зовсім білої кристалічної твердої речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=5,96$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,20$  хвил.,  $m/z=480,2$   $[M+H]^+$ .

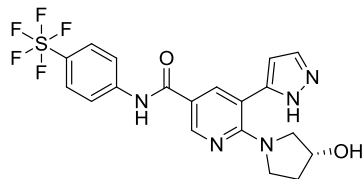
Стадія 16.3: 5-Бром-6-хлор-N-(4-(перфторетил)феніл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 11.2, з використанням 5-бром-6-хлорнікотинової кислоти та 4-пентафторетил-аніліну з одержанням білої кристалічної речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,61$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,32$  хвил.,  $m/z=429$   $[M-H]^-$ .

Приклад 17

(R)-6-(3-Гідроксипіролідин-1-іл)-N-(4-(пентафторсульфаніл)феніл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід

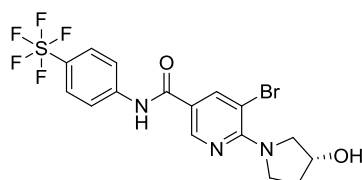


5

Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано у прикладі 8, з використанням

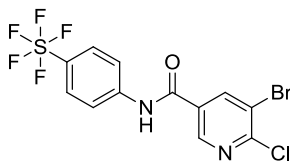
(R)-5-бром-6-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-N-(4-(пентафторсульфаніл)феніл)нікотинамід (Стадія 17.1) та 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразолу з одержанням бежевої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=4,68$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,92$  хвил.,  $m/z=476,3$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,64-1,91 (м, 2 H), 2,93 (д,  $J=11,73$  Гц, 1 H), 3,19-3,34 (м, 2 H), 3,36-3,49 (м, 1 H), 4,12-4,24 (м, 1 H), 4,81 (д,  $J=3,13$  Гц, 1 H), 6,38 (с, 1 H), 7,73-7,89 (м, 3 H), 7,92-8,09 (м, 3 H), 8,73 (д,  $J=1,96$  Гц, 1 H), 10,37 (с, 1 H), 12,82-13,17 (м, 1 H).

Стадія 17.1: (R)-5-Бром-6-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-N-(4-(пентафторсульфаніл)феніл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 9.2, з використанням 5-бром-6-хлор-N-(4-(пентафторсульфаніл)-феніл)-нікотинамід (Стадія 17.2) та (R)-піролідин-3-олу з одержанням твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,16$  хвил.,  $m/z=490,1$   $[M+H]^+$ .

Стадія 17.2: 5-Бром-6-хлор-N-(4-(пентафторсульфаніл)феніл)нікотинамід

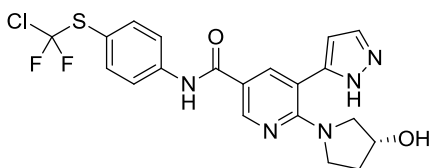


25

Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 11.2, з використанням 5-бром-6-хлорнікотинової кислоти та 4-амінофенілсірчаного пентафториду з одержанням помаранчевої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,43$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,27$  хвил.,  $m/z=435,3/437,2$   $[M+H]^+$ .

Приклад 18

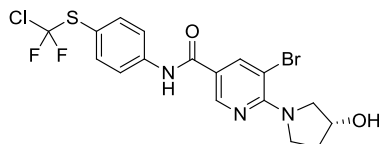
(R)-N-(4-((Хлордифторметил)тіо)феніл)-6-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід



35

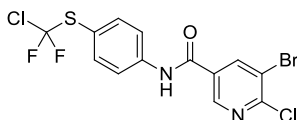
Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано у прикладі 8, з використанням (R)-5-бром-N-(4-((хлордифторметил)тіо)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамід (Стадія 18.1) та 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксaborолан-2-іл)-1H-піразолу з одержанням білуватої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=4,94$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,99$  хвил.,  $m/z=466,3$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц, ДМСO- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,65-1,88 (м, 2 H), 2,86-2,99 (м, 1 H), 3,19-3,33 (м, 2 H), 3,36-3,51 (м, 1 H), 4,13-4,23 (м, 1 H), 4,76-4,90 (м, 1 H), 6,31-6,42 (м, 1 H), 7,65 (д,  $J=8,21$  Гц, 2 H), 7,76-7,84 (м, 1 H), 7,92 (д,  $J=8,60$  Гц, 2 H), 7,98-8,08 (м, 1 H), 8,66-8,82 (м, 1 H), 10,28 (с, 1 H), 12,82-13,14 (м, 1 H).

Стадія 18.1: (R)-5-Бром-N-(4-((хлордифторметил)тіо)феніл)-6-(3-гідрокси-піролідін-1-іл)нікотинамід



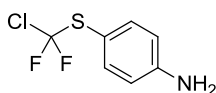
Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 9.2, з використанням 5-бром-6-хлор-N-(4-((хлордифторметил)тіо)феніл)-нікотинамід (Стадія 18.2) та (R)-піролідін-3-олу з одержанням не зовсім білої кристалічної твердої речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=5,97$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,19$  хвил.,  $m/z=478,2/480,1$   $[M+H]^+$ .

Стадія 18.2: 5-Бром-6-хлор-N-(4-((хлордифторметил)тіо)феніл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 11.2, з використанням 5-бром-6-хлорнікотинової кислоти та 4-((хлор-дифторметил)тіо)аніліну (Стадія 18.3) з одержанням не зовсім білої кристалічної твердої речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,78$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,32$  хвил.,  $m/z=425$   $[M-H]^-$ .

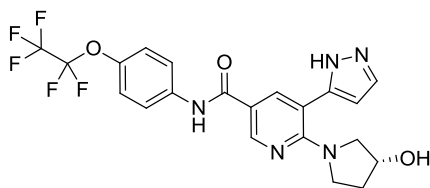
Стадія 18.3: 4-((Хлордифторметил)тіо)анілін



До розчину 4-нітрофенілхлордифторметилсульфіду (отриманого, як описано у DE2845997, 627, 67,5 г, 0,28 моль) у етанолі (270 мл) та води (68 мл), перемішуваного при 72 °C, трьома порціями впродовж 10 хвилин додавали концентрований розчин HCl (3,4 мл, 41,5 ммоль) та порошок заліза (203 г, 3,63 моль). Реакційну суміш перемішували при 82 °C впродовж 30 хвилин, фільтрували через Celite® (EtOH), розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням жовтого масла, яке розчиняли у DCM, та промивали насиченим розчином NaHCO<sub>3</sub> та насиченим сольовим розчином. Органічну фазу сушили над MgSO<sub>4</sub>, фільтрували та фільтрат випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту у вигляді жовтого масла, яке дистильовали (температура кипіння 88-92 °C, 0,9 мм рт. ст.) та фільтрували через Celite®, з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді блідо-жовтого масла.  $^1H$ -ЯМР (300 МГц, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  млн.ч. 3,98 (уш. с., 2 H), 6,67 (дд, 2 H), 7,43 (дд, 2 H).

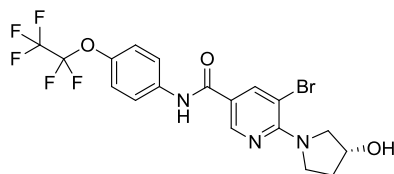
Приклад 19

(R)-6-(3-Гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(перфторетокси)феніл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід



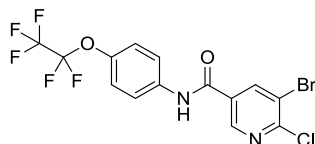
Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано у прикладі 8, з використанням (R)-5-бром-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(перфторетокси)феніл)нікотинамід (Стадія 19.1) та 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразолу з одержанням білуватої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=4,86$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,97$  хвил.,  $m/z=484,4$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,62-1,92 (м, 2 Н), 2,94 (д,  $J=1,00$  Гц, 1 Н), 3,18-3,34 (м, 2 Н), 3,37-3,51 (м, 1 Н), 4,13-4,22 (м, 1 Н), 4,70-4,91 (м, 1 Н), 6,37 (уш. с., 1 Н), 7,31 (д,  $J=8,99$  Гц, 2 Н), 7,86 (м,  $J=9,00$  Гц, 3 Н), 8,01 (уш. с., 1 Н), 8,65-8,83 (м, 1 Н), 10,17 (с, 1 Н), 12,84-13,11 (м, 1 Н).

Стадія 19.1: (R)-5-Бром-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(перфторетокси)-феніл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 9.2, з використанням 5-бром-6-хлор-N-(4-(перфторетокси)феніл)нікотинамід (Стадія 19.2) та (R)-піролідін-3-олу з одержанням не зовсім білої кристалічної твердої речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,01$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,17$  хвил.,  $m/z=496,2$   $[M+H]^+$ .

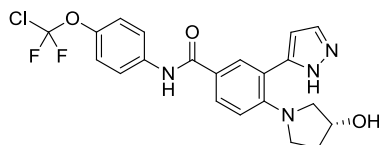
Стадія 19.2: 5-Бром-6-хлор-N-(4-(перфторетокси)феніл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 9.3, з використанням 5-бром-6-хлорнікотинової кислоти та 4-(перфторетокси)аніліну з одержанням не зовсім білої кристалічної твердої речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,73$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,30$  хвил.,  $m/z=443,1$   $[M-H]^-$ .

Приклад 20

(R)-N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-4-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-3-(1H-піразол-5-іл)бензамід

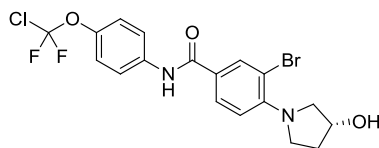


Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано у прикладі 8, з використанням (R)-3-бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-4-(3-гідроксипіролідін-1-іл)бензамід (Стадія 20.1) та пінаколінового ефіру 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-боронової кислоти з одержанням білуватої твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,99$  хвил.,  $m/z=449,0$   $[M+H]^+$ ,  $m/z=493,0$   $[M+\text{мурашина кислота-H}]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,67-1,79 (м, 1 Н), 1,80-1,92 (м, 1 Н), 2,72 (д,  $J=10,88$  Гц, 1 Н), 3,03-3,18 (м, 2 Н), 3,19-3,30

(м, 1 H), 4,19 (уш. с., 1 H), 4,77-4,92 (м, 1 H), 6,22-6,42 (м, 1 H), 6,76-6,93 (м, 1 H), 7,31 (д, J=8,56 Гц, 2 H), 7,45-7,81 (м, 1 H), 7,83-7,95 (м, 4 H), 10,12 (с, 1 H), 12,71-13,12 (м, 1 H).

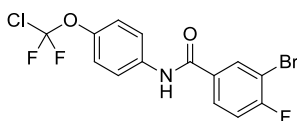
Стадія 20.1: (R)-3-Бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-4-(3-гідроксипіролідин-1-іл)бензамід

5



Суміш 3-бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-4-фторбензаміду (1 г, 2,53 ммоль), (R)-піролідин-3-олу (0,331 г, 3,80 ммоль), TEA (0,706 мл, 5,07 ммоль) та ДМСО (2,53 мл) перемішували при 90 °С впродовж 20 годин. Реакційну суміш обробляли 0,5 М розчином HCl (50 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти промивали 0,5 М розчином HCl, насиченим водним розчином NaHCO<sub>3</sub> та насиченим сольовим розчином, сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, 40 г, циклогексан/EtOAc, від 1 % до 4,5 % EtOAc). Фракції, що містять чистий продукт, об'єднували та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який розтирали у порошок у циклогексані, з одержанням зазначеного у заголовку продукту у вигляді білої аморфної твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 3) t<sub>R</sub>=1,15 хвил., m/z=462,9 [M+H]<sup>+</sup>, m/z=460,9 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ млн.ч. 1,81-1,90 (м, 1 H), 1,92-2,03 (м, 1 H), 3,27 (дд, J=10,39, 1,10 Гц, 1 H), 3,36-3,44 (м, 1 H), 3,62-3,71 (м, 1 H), 3,81 (дд, J=10,45, 4,71 Гц, 1 H), 4,32-4,40 (м, 1 H), 4,99 (д, J=3,42 Гц, 1 H), 6,93 (д, J=8,80 Гц, 1 H), 7,33 (д, J=9,05 Гц, 2 H), 7,82-7,91 (м, 3 H), 8,14 (д, J=2,20 Гц, 1 H), 10,21 (с, 1 H).

Стадія 20.2: 3-Бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-4-фторбензамід



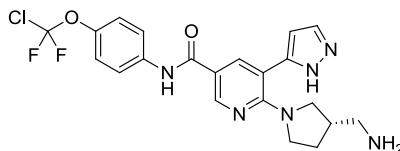
25

Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 1.3, з використанням 3-бром-4-фторбензойної кислоти та 4-(хлордифторметокси)аніліну з одержанням білуватої твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 3) t<sub>R</sub>=1,25 хвил., m/z=394,0 [M+H]<sup>+</sup>, m/z=391,9 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ млн.ч. 7,37 (д, J=9,17 Гц, 2 H), 7,57 (т, J=8,68 Гц, 1 H), 7,84-7,91 (м, 2 H), 8,03 (ддд, J=8,62, 4,83, 2,32 Гц, 1 H), 8,32 (дд, J=6,60, 2,20 Гц, 1 H), 10,52 (с, 1 H).

Приклад 21

(S)-6-(3-(Амінометил)піролідин-1-іл)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід

35



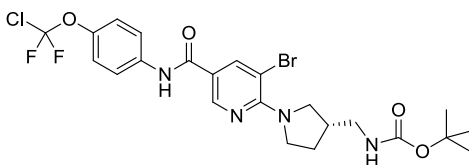
Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано у прикладі 8, з використанням (S)-трет-бутил((1-(3-бром-5-((4-(хлордифторметокси)феніл)карбамоїл)-піридин-2-іл)піролідин-3-іл)метил)карбамату (Стадія 21.1) та 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразолу з одержанням не зовсім білого порошку. ВЕРХ (Умова 4) t<sub>R</sub>=4,15 хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3) t<sub>R</sub>=0,78 хвил., m/z=463,1 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ млн.ч. 1,50-1,62 (м, 1 H), 1,91 (д, J=6,26 Гц, 1 H), 2,27 (с, 1 H), 2,72 (д, J=7,04 Гц, 2 H), 3,04-3,16 (м, 3 H), 3,30 (уш. с., 2 H), 3,47 (дд, J=11,34, 7,04 Гц, 1 H), 6,38 (д,

45

$J=1,96$  Гц, 2 Н), 7,31 (д,  $J=8,60$  Гц, 2 Н), 7,64-7,91 (м, 2 Н), 8,05 (д,  $J=2,35$  Гц, 1 Н), 8,72 (д,  $J=1,95$  Гц, 1 Н), 10,19 (с, 1 Н), 12,86-13,01 (м, 1 Н).

Стадія 21.1: (S)-трет-Бутил((1-(3-бром-5-((4-(хлордифторметокси)феніл)-карбамоіл)піридин-2-іл)піролідин-3-іл)метил)карбамат

5

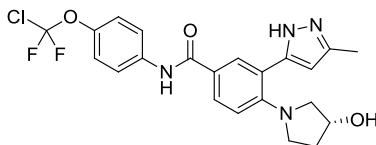


Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 8.1, з використанням 5-бром-6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-нікотинаміду (Стадія 9.3) та трет-бутилового ефіру (R)-1-піролідин-3-ілметил-карбаїнової кислоти з одержанням кристалічної твердої речовини. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,09$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,36$  хвил.,  $m/z=577,2$   $[M+H]^+$ .

Приклад 22

(R)-N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-4-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-3-(3-метил-1Н-піразол-5-іл)бензамід

15

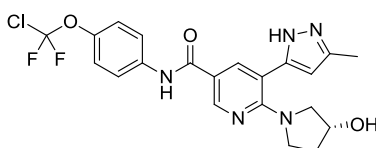


3-Метил-1-(тетрагідро-2Н-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразол (Стадія 23.1, 128 мг, 0,329 ммоль),  $K_3PO_4$  (140 мг, 0,658 ммоль) та  $Pd(PPh_3)_4$  (15,22 мг, 0,013 ммоль) додавали до розчину (R)-3-бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-4-(3-гідроксипіролідин-1-іл)бензаміду (Стадія 20.1, 80 мг, 0,165 ммоль) у толуолі (1,5 мл) у атмосфері аргону та реакційну суміш нагрівали при  $110^\circ C$  впродовж 2 годин. Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок розчиняли у DCM (4 мл) та обробляли за допомогою TFA (0,507 мл, 6,58 ммоль), та перемішували при кімнатній температурі впродовж 2 годин. Реакційну суміш обробляли насиченим водним розчином  $Na_2CO_3$  (20 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти промивали насиченим сольовим розчином (20 мл), сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою препаративної ВЕРХ (Умова 10 - від 20 % до 80 % В впродовж 20 хвилин). Фракції, що містять чистий продукт, об'єднували, обробляли насиченим водним розчином  $Na_2CO_3$  та MeCN випарювали при зниженому тиску. Водний залишок екстрагували за допомогою DCM та об'єднані екстракти сушили над  $Na_2SO_4$ , фільтрували та фільтрат випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який кристалізували з суміші DCM/н-гексан з одержанням зазначеного у заголовку продукту у вигляді білої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=6,41$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,03$  хвил.,  $m/z=463$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,67-1,78 (м, 1 Н), 1,84 (с, 1 Н), 2,16-2,30 (м, 3 Н), 2,74 (д,  $J=10,56$  Гц, 1 Н), 3,04-3,33 (м, 3 Н), 4,14-4,23 (м, 1 Н), 4,76-4,87 (м, 1 Н), 6,07 (с, 1 Н), 6,73-6,86 (м, 1 Н), 7,29 (д,  $J=8,21$  Гц, 2 Н), 7,78-7,90 (м,  $J=8,99$  Гц, 4 Н), 10,07 (с, 1 Н), 12,34-12,56 (м, 1 Н).

Приклад 23

(R)-N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідин-1-іл)-5-(3-метил-1Н-піразол-5-іл)нікотинамід

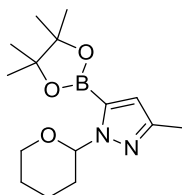
40





3-Метил-1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразол (Стадія 23.1, 150 мг, 0,359 ммоль),  $K_3PO_4$  (147 мг, 0,692 ммоль) та  $Pd(PPh_3)_4$  (15,98 мг, 0,014 ммоль) додавали до розчину (R)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинаміду (Стадія 9.2, 80 мг, 0,173 ммоль) у толуолі (1,5 мл) у атмосфері аргону та реакційну суміш перемішували при 110 °C впродовж 2 годин. Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок розчиняли у DCM (1,5 мл), обробляли за допомогою TFA (0,533 мл, 6,92 ммоль) та перемішували при кімнатній температурі впродовж 2 годин. Реакційну суміш обробляли насиченим водним розчином  $Na_2CO_3$  (20 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти промивали насиченим сольовим розчином (20 мл), сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем, 12 г, DCM/MeOH від 99:1 до 92:8) та кристалізували з суміші DCM/н-гексан з одержанням зазначеного у заголовку продукту у вигляді білої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=5,92$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,94$  хвил.,  $m/z=464,1 [M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,67-1,89 (м, 2 H), 2,19-2,31 (м, 3 H), 2,98 (д,  $J=10,95$  Гц, 1 H), 3,24-3,35 (м, 2 H), 3,39-3,52 (м, 1 H), 4,16-4,25 (м, 1 H), 4,80-4,90 (м, 1 H), 6,11-6,17 (м, 1 H), 7,32 (д,  $J=8,60$  Гц, 2 H), 7,87 (д,  $J=8,99$  Гц, 2 H), 7,97-8,06 (м, 1 H), 8,66-8,78 (м, 1 H), 10,16 (с, 1 H), 12,51-12,70 (м, 1 H).

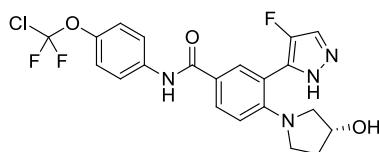
Стадія 23.1: 3-Метил-1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразол



Суміш 3-метилпіразолу (3,0 г, 35,4 ммоль), 3,4-дигідро-2H-пірану (4,97 мл, 53,2 ммоль) та TFA (0,02 мл, 0,260 ммоль) перемішували при 85 °C впродовж 6 годин у атмосфері аргону. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури та додавали NaN 60 % у мінеральному маслі (0,061 г, 1,524 ммоль) та реакційну суміш перемішували впродовж 10 хвилин. Реакційну суміш очищали за допомогою перегонки з посудини у посудину з одержанням 3-метил-1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразолу (температура кипіння 150-170 °C/12 мбар). Розчин н-BuLi у н-гексані (3,38 мл 1,6 М розчину, 5,41 ммоль) додавали по краплям впродовж 10 хвилин до розчину 3-метил-1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразолу (1,0 г, 5,41 ммоль) у THF (12 мл) при -70 °C у атмосфері азоту та реакційну суміш перемішували впродовж 10 хвилин, та потім обробляли по краплям 2-метокси-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксабороланом (0,898 г, 5,69 ммоль) та перемішували при -70 °C впродовж 1 години. Реакційній суміші давали нагрітись до кімнатної температури, обробляли за допомогою н-гексану та продукт фільтрували, розчиняли у воді (10 мл) та підкислювали до pH 6 водним розчином лимонної кислоти (10 %). Воду випарювали при зниженому тиску та водний залишок екстрагували за допомогою EtOAc, сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням зазначеного у заголовку продукту у вигляді жовтої смоли. НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,56$  хвил.,  $m/z=211,2 [M+H]^+$ .

Приклад 24

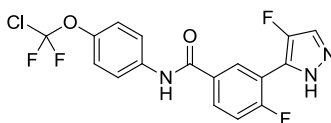
(R)-N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-3-(4-фтор-1H-піразол-5-іл)-4-(3-гідроксипіролідін-1-іл)бензамід



Суміш N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-4-фтор-3-(4-фтор-1H-піразол-5-іл)бензаміду (Стадія 24.1, 62 мг, 0,147 ммоль), R-3-гідроксипіролідину (0,031 мл, 0,206 ммоль) та TEA (0,062 мл, 0,442 ммоль) у  $DMCO$  (0,5 мл) перемішували при 100 °C впродовж 16 годин. Реакційну суміш

розводили за допомогою EtOAc (30 мл), обробляли насиченим водним розчином  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (20 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти промивали водою (20 мл) та насиченим сольовим розчином (20 мл), сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою препаративної ВЕРХ (Умова 10). Фракції, що містять чистий продукт, об'єднували, обробляли насиченим водним розчином  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  та MeCN видаляли при зниженому тиску. Водний залишок екстрагували за допомогою DCM та об'єднані екстракти сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску. Залишок розчиняли у DCM та обробляли за допомогою н-гексану з одержанням зазначеного у заголовку продукту у вигляді білої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=6,61$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,01$  хвил.,  $m/z=467,3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,69-1,95 (м, 2 Н), 2,79 (д,  $J=10,56$  Гц, 1 Н), 3,06-3,20 (м, 2 Н), 3,22-3,35 (м, 1 Н), 4,13-4,30 (м, 1 Н), 4,79-4,96 (м, 1 Н), 6,75-6,92 (м, 1 Н), 7,31 (д,  $J=8,60$  Гц, 2 Н), 7,86 (м,  $J=9,38$  Гц, 5 Н), 10,11 (с, 1 Н), 12,67-13,12 (м, 1 Н).

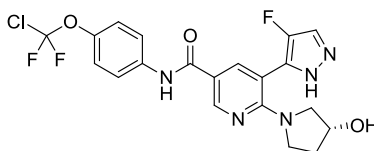
Стадія 24.1: N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-4-фтор-3-(4-фтор-1Н-піразол-5-іл)бензамід



Суміш 3-бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-4-фторбензаміду (Стадія 20.2, 200 мг, 0,497 ммоль), 4-фтор-5-(трибутилстаніл)-1Н-піразолу (211 мг, 0,472 ммоль) та  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (28,7 мг, 0,025 ммоль) у ДМСО (1,5 мл) у щільно закритій посудині перемішували при 100 °С впродовж 20 годин у атмосфері аргону. Реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (30 мл), обробляли насиченим водним розчином  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (20 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти промивали водою (20 мл) та насиченим сольовим розчином (20 мл), сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем, 12 г, н-гексан/EtOAc від 95:5 до 6:4) з одержанням зазначеного у заголовку продукту у вигляді білої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=7,20$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,12$  хвил.,  $m/z=400,1$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

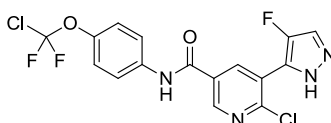
Приклад 25

(R)-N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-5-(4-фтор-1Н-піразол-5-іл)-6-(3-гідроксипіролідин-1-іл)нікотинамід



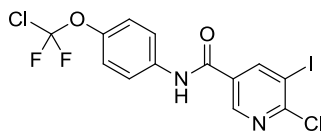
Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано у прикладі 5, з використанням 6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-5-(4-фтор-1Н-піразол-5-іл)нікотинаміду (Стадія 25.1) та (R)-піролідин-3-олу з одержанням білого порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=4,89$  хвил., хірально ВЕРХ (CHIRALCEL® OD-H, 250×4,6 мм, елюент: н-гептан/EtOH/MeOH (85:10:5), 1 мл/хвил., УФ 210 нм)  $t_R=9,34$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,96$  хвил.,  $m/z=468,1$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,67-1,92 (м, 2 Н), 3,00 (д,  $J=11,73$  Гц, 1 Н), 3,19-3,33 (м, 2 Н), 3,43 (м,  $J=7,00$  Гц, 1 Н), 4,22 (уш. с., 1 Н), 4,87 (уш. с., 1 Н), 7,31 (д,  $J=8,60$  Гц, 2 Н), 7,85 (д,  $J=8,99$  Гц, 2 Н), 7,90-8,10 (м, 2 Н), 8,77 (уш. с., 1 Н), 10,18 (с, 1 Н), 12,83-13,19 (м, 1 Н).

Стадія 25.1: 6-Хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-5-(4-фтор-1Н-піразол-5-іл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 13.1, з використанням 6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-5-йод-нікотинаміду (Стадія 25.2) та 4-фтор-5-(трибутилстаніл)-1H-піразолу з одержанням не зовсім білого порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=5,69$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,09$  хвил.,  $m/z=415$  [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ млн.ч.

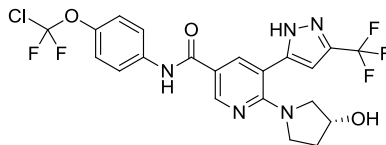
Стадія 25.2: 6-Хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-5-йоднікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 11.2, з використанням 6-хлор-5-йоднікотинової кислоти та 4-(хлордифторметокси)аніліну з одержанням не зовсім білого порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,47$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,26$  хвил.,  $m/z=456,8$  [M-H]<sup>-</sup>.

Приклад 26

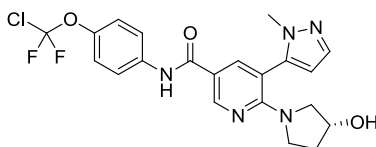
(R)-N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(3-(трифторметил)-1H-піразол-5-іл)нікотинамід



K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (135 мг, 0,635 ммоль), 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-3-(трифторметил)-1H-піразол-5-ілборонову кислоту (112 мг, 0,424 ммоль) та Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (12,24 мг, 10,59 мкмоль) додавали до розчину (R)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинаміду (Стадія 9.2, 100 мг, 0,212 ммоль) у толуолі (2 мл) та реакційну суміш перемішували при 110 °C впродовж 2 годин у атмосфері аргону. Реакційну суміш фільтрували через Hyflo®, промивали водою та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем, 12 г, DCM/EtOH від 99:1 до 94:6). Отриману проміжну сполуку розчиняли у DCM (2 мл), обробляли за допомогою TFA (0,462 мл, 5,99 ммоль) та перемішували впродовж 1 години при кімнатній температурі. Реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (20 мл), обробляли насиченим водним розчином Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти промивали насиченим сольовим розчином (20 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем, 4 г, DCM/EtOH від 99:1 до 9:1). Фракції, що містять чистий продукт, об'єднували та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який розтирали у суміші DCM/н-гексан, фільтрували та сушили з одержанням зазначеного у заголовку продукту у вигляді білої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=6,545$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,10$  хвил.,  $m/z=518,1$  [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ млн.ч. 1,71-1,95 (м, 2 H), 2,94 (д, J=11,34 Гц, 1 H), 3,24 (м, 2 H), 3,44 (м, 1 H), 4,17-4,32 (м, 1 H), 4,91 (уш. с., 1 H), 6,88 (с, 1 H), 7,34 (д, J=8,21 Гц, 2 H), 7,86 (д, J=9,38 Гц, 2 H), 8,12 (с, 1 H), 8,81 (с, 1 H), 10,17 (с, 1 H), 13,94 (с, 1 H).

Приклад 27

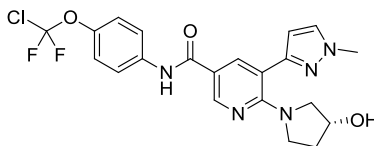
(R)-N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1-метил-1H-піразол-5-іл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 2.1, з використанням (R)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамід (Стадія 9.2) та 1-метил-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразолу з одержанням білого порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=5,25$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,98$  хвил.,  $m/z=464,1$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,65-1,89 (м, 2 Н), 2,87-3,00 (м, 1 Н), 3,09-3,29 (м, 3 Н), 3,59 (с, 3 Н), 4,19 (уш. с., 1 Н), 4,87 (д,  $J=3,13$  Гц, 1 Н), 6,39 (с, 1 Н), 7,27-7,36 (м, 2 Н), 7,50 (дд,  $J=1,76, 0,98$  Гц, 1 Н), 7,78-7,88 (м, 2 Н), 8,00 (д,  $J=2,35$  Гц, 1 Н), 8,78 (дд,  $J=2,35, 1,17$  Гц, 1 Н), 10,15 (с, 1 Н).

Приклад 28

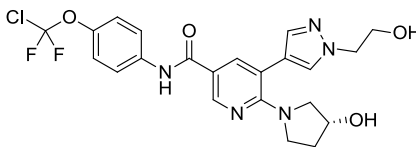
(R)-N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1-метил-1Н-піразол-3-іл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 2.1, з використанням (R)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамід (Стадія 9.2) та 1-метил-3-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразолу з одержанням білого порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=5,16$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,98$  хвил.,  $m/z=464$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,64-1,90 (м, 2 Н), 2,85-3,00 (м, 1 Н), 3,06-3,26 (м, 3 Н), 3,59 (с, 3 Н), 4,19 (уш. с., 1 Н), 4,87 (д,  $J=2,74$  Гц, 1 Н), 6,39 (с, 1 Н), 7,31 (д,  $J=8,60$  Гц, 2 Н), 7,50 (дд,  $J=1,76, 0,98$  Гц, 1 Н), 7,84 (д,  $J=8,60$  Гц, 2 Н), 8,01 (д,  $J=2,74$  Гц, 1 Н), 8,78 (дд,  $J=2,54, 0,98$  Гц, 1 Н), 10,15 (с, 1 Н).

Приклад 29

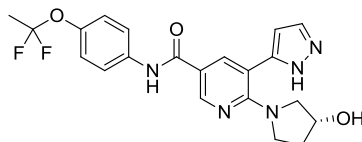
(R)-N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-5-(1-(2-гідроксиетил)-1Н-піразол-4-іл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамід



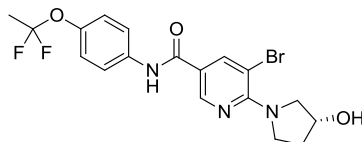
2М розчин  $Na_2CO_3$  (0,375 мл, 0,75 ммоль) додавали у розчин (R)-5-бром-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамід (Стадія 9.2, 116 мг, 0,25 ммоль) та 1-(2-(тетрагідро-2Н-піран-2-ілокси)етил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1Н-піразолу (161 мг, 0,5 ммоль) у DME (1,0 мл) у атмосфері аргону. Потім додавали  $PdCl_2(dppf)$  (9,15 мг, 0,013 ммоль) та реакційну суміш перемішували при 100 °С впродовж 2 годин. Після охолодження при кімнатній температурі реакційну суміш розчиняли у EtOAc та промивали насиченим сольовим розчином, сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску. Неочищений продукт розчиняли у DCM (1,4 мл), охолоджували до 0 °С, потім обробляли за допомогою TFA (0,77 мл, 10 ммоль) та перемішували при кімнатній температурі впродовж 3 годин. Реакційну суміш виливали у водний 10 % розчин  $Na_2CO_3$  (15 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, DCM/MeOH, від 2 % до 10 % MeOH) з одержанням не зовсім білого порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=4,33$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,88$  хвил.,  $m/z=494$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,67-1,88 (м, 2 Н), 2,96 (д,  $J=11,73$  Гц, 0 Н), 3,24-3,37 (м, 2 Н), 3,41-3,53 (м, 1 Н), 3,75 (кв.,  $J=5,73$  Гц, 2 Н), 4,04-4,25 (м, 4 Н), 4,81 (д,  $J=3,52$  Гц, 1 Н), 4,86-4,94 (м, 1 Н), 7,31 (д,  $J=8,21$  Гц, 2 Н), 7,53-7,59 (м, 1 Н), 7,79-7,89 (м, 3 Н), 7,93 (д,  $J=2,35$  Гц, 1 Н), 8,65 (дд,  $J=2,35, 0,78$  Гц, 1 Н), 10,15 (с, 1 Н).

Приклад 30

(R)-N-(4-(1,1-Дифторетокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1Н-піразол-5-іл)нікотинамід

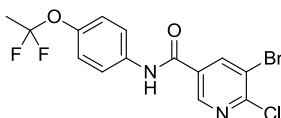


$K_3PO_4$  (113 мг, 0,532 ммоль), 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразол (99 мг, 0,355 ммоль) та  $Pd(PPh_3)_4$  (10,24 мг, 8,86 мкмоль) додавали до розчину (R)-5-бром-N-(4-(1,1-дифторетокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамід (Стадія 30.1, 80 мг, 0,177 ммоль) у толуолі (1,5 мл) у атмосфері аргону та реакційну суміш перемішували при 110 °C впродовж 1 години. Реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (20 мл), обробляли насиченим розчином  $NaHCO_3$  (20 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти промивали насиченим сольовим розчином (20 мл), сушили за допомогою  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем, 12 г, DCM/EtOH від 97:3 до 95:5) з одержанням N-(4-(1,1-дифторетокси)феніл)-6-((R)-3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)нікотинамід (66 мг, 0,129 ммоль), який розчиняли у DCM (1,5 мл) та обробляли за допомогою TFA (0,546 мл, 7,09 ммоль) та перемішували впродовж 2 годин при кімнатній температурі. Реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (20 мл), обробляли насиченим розчином  $NaHCO_3$  (25 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc (20 мл). Об'єднані екстракти промивали насиченим сольовим розчином (20 мл), сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою препаративної ВЕРХ (Умова 10). Фракції, що містять чистий продукт, об'єднували, обробляли за допомогою 0,5 г  $NaHCO_3$  та MeCN випарювали при зниженому тиску. Водний залишок екстрагували за допомогою DCM з одержанням зазначеного у заголовку продукту у вигляді білої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=5,42$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,82$  хвил.,  $m/z=430,1$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $CDCl_3$ ) δ м.ч. 1,68-1,87 (м, 2 H), 1,93 (т,  $J=13,67$  Гц, 3 H), 2,94 (д,  $J=11,71$  Гц, 1 H), 3,15-3,33 (м, 2 H), 3,38-3,48 (м, 1 H), 4,19 (уш. с., 1 H), 6,37 (с, 1 H), 7,15 (д,  $J=9,37$  Гц, 2 H), 7,65-7,83 (м,  $J=9,37$  Гц, 3 H), 8,03 (д,  $J=2,34$  Гц, 1 H), 8,73 (д,  $J=2,34$  Гц, 1 H).  
 Стадія 30.1: (R)-5-Бром-N-(4-(1,1-дифторетокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамід



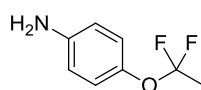
30

Суміш 5-бром-6-хлор-N-(4-(1,1-дифторетокси)феніл)нікотинамід (Стадія 30.2, 700 мг, 1,752 ммоль), (R)-піролідін-3-олу (0,170 мл, 2,102 ммоль) та DIPEA (0,673 мл, 3,85 ммоль) та iPrOH (2 мл) у щільно закритій посудині нагрівали до 120 °C впродовж 1 години. Реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (80 мл), обробляли 10 % лимонною кислотою (40 мл; pH~4) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти промивали насиченим сольовим розчином (2×40 мл), сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який промивали за допомогою  $Et_2O$  та н-гексану, та кристали сушили з одержанням зазначеного у заголовку продукту у вигляді бежевої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=6,4$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,02$  хвил.,  $m/z=442,1/444,0$   $[M+H]^+$ .  
 Стадія 30.2: 5-Бром-6-хлор-N-(4-(1,1-дифторетокси)феніл)нікотинамід



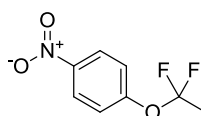
Оксалілхлорид (653 мкл, 7,46 ммоль) додавали до суміші 5-бром-6-хлорнікотинової кислоти (1,2 г, 4,97 ммоль) та DMF (20 мкл, 0,258 ммоль) у DCM (40 мл) у атмосфері азоту та реакційну суміш перемішували впродовж 2 годин при кімнатній температурі. Розчинник випарювали, залишок розчиняли у DCM (10 мл) та знову випарювали досуха. Залишок розчиняли у THF (30 мл), додавали DIPEA (1,737 мл, 9,95 ммоль) та реакційну суміш охолоджували до -15 °С. Додавали по краплям 4-(1,1-дифторетокси)анілін (Стадія 30.3, 0,932 г, 5,22 ммоль) у THF (10 мл) впродовж 15 хвилин та реакційну суміш перемішували впродовж 1 години при кімнатній температурі. Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок розводили за допомогою EtOAc (100 мл), обробляли 10 % лимонною кислотою (60 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти промивали насиченим водним розчином Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (50 мл) та насиченим сольовим розчином (2×50 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який суспендували у н-гексані, фільтрували та сушили з одержанням зазначеного у заголовку продукту у вигляді бежевої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 5) t<sub>R</sub>=7,3 хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3) t<sub>R</sub>=1,16 хвил., m/z=391/393 [M+H]<sup>+</sup>.

Стадія 30.3: 4-(1,1-Дифторетокси)анілін



Розчин 1-(1,1-дифторетокси)-4-нітробензолу (Стадія 30.4, 2,95 г, 13,94 ммоль) у EtOH (100 мл) гідрували (Ni Ренея 1,0 г; 26,5 годин при кімнатній температурі). Реакційну суміш фільтрували через Hyflo® та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного зазначеного у заголовку продукту у вигляді коричневого масла. ВЕРХ (Умова 5) t<sub>R</sub>=4,5 хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3) t<sub>R</sub>=0,74 хвил., m/z=174,1 [M+H]<sup>+</sup>.

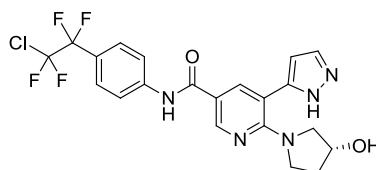
Стадія 30.4: 1-(1,1-Дифторетокси)-4-нітробензол



4-Нітроацетофенон (2,45 г, 14,54 ммоль) та HF-піридин (10,11 мл, 116 ммоль) додавали до суміші XeF<sub>2</sub> (4,92 г, 29,1 ммоль) та DCM (50 мл) у пластиковій посудині та реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі впродовж 20 годин. Реакційну суміш додавали обережно до перемішуваної суміші EtOAc (150 мл) та насиченого розчину NaHCO<sub>3</sub> (250 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти промивали насиченим сольовим розчином (2×100 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем, 40 г, н-гексан/EtOAc (95:5)) з одержанням зазначеного у заголовку продукту у вигляді жовтого масла. ВЕРХ (Умова 5) t<sub>R</sub>=6,9 хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3) t<sub>R</sub>=1,05 хвил.

Приклад 31

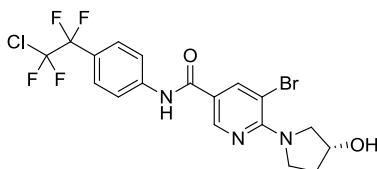
(R)-N-(4-(2-Хлор-1,1,2,2-тетрафторетил)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1Н-піразол-5-іл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано у прикладі 8, з використанням (R)-5-бром-N-(4-(2-хлор-1,1,2,2-тетрафторетил)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамиду (Стадія 31.1) та 1-(тетрагідро-2Н-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-

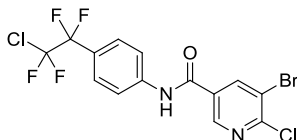
діоксиборолан-2-іл)-1H-піразолу з одержанням білого порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=4,89$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,98$  хвил.,  $m/z=484,1$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,65-1,89 (м, 2 H), 2,83-2,98 (м, 1 H), 3,18-3,33 (м, 2 H), 3,36-3,49 (м, 1 H), 4,13-4,24 (м, 1 H), 4,77-4,93 (м, 1 H), 6,31-6,43 (м, 1 H), 7,62 (д,  $J=8,59$  Гц, 2 H), 7,77-7,84 (м, 1 H), 7,91-8,09 (м, 3 H), 8,64-8,81 (м, 1 H), 10,31 (с, 1 H), 12,83-12,96 (м, 1 H).

Стадія 31.1: (R)-5-Бром-N-(4-(2-хлор-1,1,2,2-тетрафторетил)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамід



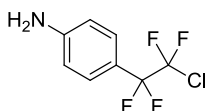
Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 8.1, з використанням 5-бром-6-хлор-N-(4-(2-хлор-1,1,2,2-тетрафторетил)феніл)-нікотинамід (Стадія 31.2) та (R)-піролідін-3-олу з одержанням білого порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,05$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,18$  хвил.,  $m/z=498$   $[M+H]^+$ .

Стадія 31.2: 5-Бром-6-хлор-N-(4-(2-хлор-1,1,2,2-тетрафторетил)феніл)-нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 9.3, з використанням 5-бром-6-хлорнікотинової кислоти та 4-(2-хлор-1,1,2,2-тетрафторетил)аніліну (Стадія 31.3) з одержанням бежевого кристалічного порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,77$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,31$  хвил.,  $m/z=444,8$   $[M+H]^+$ .

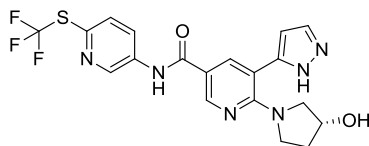
Стадія 31.3: 4-(2-Хлор-1,1,2,2-тетрафторетил)анілін



$Ni(PPh_3)_4$  (222 мг, 0,2 ммоль) додавали до суміші аніліну (745 мг, 8 ммоль) та 1-хлор-1,1,2,2-тетрафтор-2-йодетану (1049 мг, 4 ммоль) у DMF (10 мл) у мікрохвильовій посудині у атмосфері аргону. Посудину щільно закривали та реакційну суміш перемішували впродовж двох днів при 80 °C. Після охолодження при кімнатній температурі реакційну суміш розчиняли у  $Et_2O$ , промивали 10 % розчином  $NaHCO_3$  та насиченим сольовим розчином, сушили над  $MgSO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, н-гептан/ $EtOAc$ , від 0 до 25 %  $EtOAc$ ) та далі за допомогою хроматографії з оберненою фазою (MPLC, Lichroprep® 15-25 мкм колонка, елюенти: вода + 0,1 % мурашиної кислоти/ $MeCN$ +0,1 % мурашиної кислоти, градієнт від 10 до 50 %  $MeCN$ +0,1 % мурашиної кислоти). Фракції, що містять чистий продукт, об'єднували та  $MeCN$  випарювали при зниженому тиску з одержанням водної фази, яку нейтралізували за допомогою  $NaHCO_3$  та екстрагували за допомогою  $Et_2O$ . Об'єднані екстракти сушили над  $MgSO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді червоного масла. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=5,48$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,04$  хвил.,  $m/z=269$   $[M+H]^+$ .

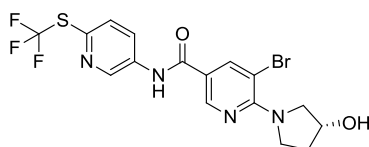
Приклад 32

(R)-6-(3-Гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)-N-(6-((трифторметил)тіо)піридин-3-іл)нікотинамід



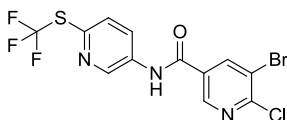
Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано у прикладі 8, з використанням (R)-5-бром-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-N-(6-((трифторметил)тіо)піридин-3-іл)нікотинамід (Стадія 32.1) та 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразолу з одержанням не зовсім білого порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=4,18$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,82$  хвил.,  $m/z=451,3$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,64-1,89 (м, 2 H), 2,94 (д,  $J=11,73$  Гц, 1 H), 3,18-3,33 (м, 2 H), 3,36-3,49 (м, 1 H), 4,18 (уш. с., 1 H), 4,81 (д,  $J=3,13$  Гц, 1 H), 6,38 (с, 1 H), 7,68-7,85 (м, 2 H), 8,02 (д,  $J=1,95$  Гц, 1 H), 8,32 (дд,  $J=8,60, 2,35$  Гц, 1 H), 8,73 (д,  $J=2,35$  Гц, 1 H), 8,98 (д,  $J=2,35$  Гц, 1 H), 10,42 (с, 1 H), 12,89-13,12 (м, 1 H).

Стадія 32.1: (R)-5-Бром-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-N-(6-((трифторметил)тіо)піридин-3-іл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 8.1, з використанням 5-бром-6-хлор-N-(6-((трифторметил)тіо)піридин-3-іл)нікотинамід (Стадія 32.2) та (R)-піролідін-3-олу з одержанням не зовсім білого порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=5,53$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,01$  хвил.,  $m/z=463,1$   $[M+H]^+$ .

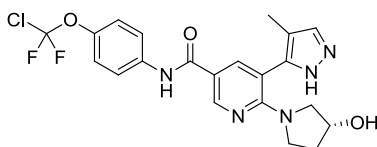
Стадія 32.2: 5-Бром-6-хлор-N-(6-((трифторметил)тіо)піридин-3-іл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 9.3, з використанням 5-бром-6-хлорнікотинової кислоти та 6-(трифторметилтіо)піридин-3-аміну з одержанням не зовсім білого порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=6,43$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,15$  хвил.,  $m/z=411,9$   $[M-H]^-$ .

Приклад 33

(R)-N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(4-метил-1H-піразол-5-іл)нікотинамід

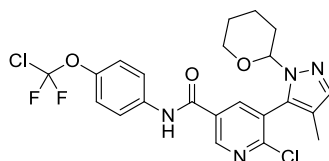


DIPEA (77 мкл, 0,44 ммоль) додавали у розчин 6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-5-(4-метил-1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)нікотинамід (Стадія 33.1, 99 мг, 0,2 ммоль) та (R)-піролідін-3-олу (20,9 мг, 0,24 ммоль) у iPrOH (200 мкл) у посудині, яку щільно закривали та реакційну суміш перемішували при 140 °C впродовж 1,5 годин. Після охолодження при кімнатній температурі реакційну суміш розчиняли у EtOAc, промивали насиченим сольовим розчином, сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску. Залишок



розчиняли у DCM (1,1 мл), охолоджували до 0 °С, обробляли за допомогою TFA (0,616 мл, 8 ммоль) та перемішували при кімнатній температурі впродовж 3 годин. Реакційну суміш виливали у 10 % водний розчин Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (10 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, DCM/MeOH від 2 % до 10 % MeOH) з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді бежевого порошку. ВЕРХ (Умова 4) t<sub>R</sub>=4,79 хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3) t<sub>R</sub>=0,95 хвил., m/z=464 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ млн.ч. 1,63-1,92 (м, 5 H), 2,81-2,96 (м, 1 H), 3,05-3,41 (м, 3 H), 4,17 (уш. с., 1 H), 4,81 (уш. с., 1 H), 7,30 (д, J=8,60 Гц, 2 H), 7,58 (с, 1 H), 7,79-8,02 (м, 3 H), 8,73 (с, 1 H), 10,15 (с, 1 H), 12,58-12,85 (с, 1 H).

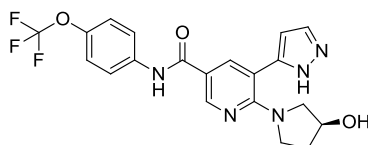
Стадія 33.1: 6-Хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-5-(4-метил-1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)нікотинамід



K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (191 мг, 0,9 ммоль) та Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (17,33 мг, 0,015 ммоль) додавали до розчину 6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-5-йоднікотинамід (Стадія 25.2, 138 мг, 0,3 ммоль) та 4-метил-1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразолу (131 мг, 0,45 ммоль) у толуолі (1,5 мл) у атмосфері аргону у посудині, яку щільно закривали та нагрівали при 110 °С впродовж 18 годин. Реакційну суміш виливали у 20 мл води та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, н-гептан/EtOAc, від 5 до 50 % EtOAc) та кристалізували з н-гептану з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді не зовсім білого порошку. ВЕРХ (Умова 4) t<sub>R</sub>=6,8 хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3) t<sub>R</sub>=1,26 хвил., m/z=495 [M-H]<sup>-</sup>.

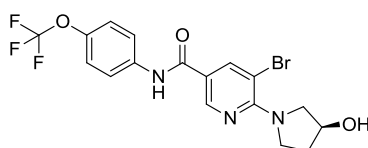
Приклад 34

(S)-6-(3-Гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано у прикладі 8, з використанням (S)-5-бром-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід (Стадія 34.1) та 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-5-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-діоксаборолан-2-іл)-1H-піразолу з одержанням не зовсім білого порошку. ВЕРХ (Умова 4) t<sub>R</sub>=4,42 хвил., хіральна ВЕРХ (CHIRALPAK® AD-H, 250×4,6 мм, елюент: EtOH/MeCN (98:2), 0,5 мл/хвил., УФ 210 нм) t<sub>R</sub>=28,27 хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3) t<sub>R</sub>=0,91 хвил., m/z=434,2 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ млн.ч. 1,63-1,88 (м, 2 H), 2,92 (д, J=11,73 Гц, 1 H), 3,19-3,29 (м, 2 H), 3,34-3,47 (м, 1 H), 4,18 (уш. с., 1 H), 4,80 (д, J=3,13 Гц, 1 H), 6,37 (с, 1 H), 7,31 (д, J=8,99 Гц, 2 H), 7,75-7,89 (м, 3 H), 8,00 (д, J=2,35 Гц, 1 H), 8,71 (д, J=2,35 Гц, 1 H), 10,16 (с, 1 H), 12,85-13,12 (м, 1 H).

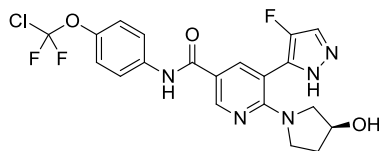
Стадія 34.1: (S)-5-Бром-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід



Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано на Стадії 8.1, з використанням 5-бром-6-хлор-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинаміду (Стадія 2.3) та (S)-піролідін-3-олу з одержанням не зовсім білого кристалічного порошку. ВЕРХ (Умова 4)  $t_R=5,83$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,06$  хвил.,  $m/z=446,1$   $[M+H]^+$ .

5 Приклад 35

(S)-N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-5-(4-фтор-1H-піразол-5-іл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)нікотинамід



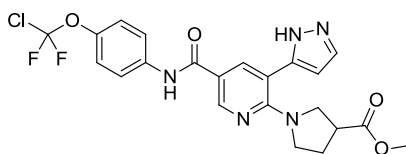
10

Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано у прикладі 5, з використанням 6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-5-(4-фтор-1H-піразол-5-іл)нікотинаміду (Стадія 25.1) та (S)-3-піролідінолу з одержанням твердої речовини білого кольору. ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=5,69$  хвил., хіральна ВЕРХ (CHIRALCEL® OD-H, 250×4,6 мм, елюент: н-гептан/EtOH/MeOH (85:10:5), 1 мл/хвил., УФ 210 нм)  $t_R=12,62$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 6)  $t_R=0,97$  хвил.,  $m/z=468,2$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,71-1,81 (м, 1 H), 1,81-1,92 (м, 1 H), 3,02 (д,  $J=11,34$  Гц, 1 H), 3,24-3,37 (м, 2 H), 3,40-3,49 (м, 1 H), 4,23 (уш. с., 1 H), 4,89 (уш. с., 1 H), 7,32 (д,  $J=9,4$  Гц, 2 H), 7,76-7,98 (м,  $J=9,00$  Гц, 3 H), 8,03 (д,  $J=2,35$  Гц, 1 H), 8,79 (д,  $J=2,35$  Гц, 1 H), 10,20 (уш. с., 1 H), 12,99 (уш. с., 1 H).

15

20 Приклад 36

Метил 1-(5-((4-(хлордифторметокси)феніл)карбамоїл)-3-(1H-піразол-5-іл)піридин-2-іл)піролідін-3-карбоксилат



25

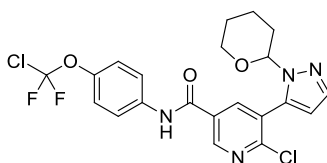
DIPEA (181 мкл, 1,035 ммоль) додавали у суміші 6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-5-(1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)нікотинаміду (Стадія 36.1, 100 мг, 0,207 ммоль), метил-3-піролідінкарбоксилатгідрохлориду (44,5 мг, 0,269 ммоль) та iPrOH (414 мкл) у мікрохвильовій посудині, який продували аргонном, щільно закривали та перемішували при 130 °C впродовж 24 годин. Реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc, обробляли насиченим сольовим розчином та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти сушили над  $Na_2SO_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем, н-гептан/EtOAc від 40 % до 100 % EtOAc) з наступним очищенням за допомогою препаративної TLC (силікагель, елюент EtOAc). Додаткова ліофілізація з 1,4-діоксану давала зазначену у заголовку сполуку у вигляді білої легкої твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 6)  $t_R=1,09$  хвил.,  $m/z=492,1$   $[M+H]^+$ ;  $^1H$ -ЯМР (400 МГц,  $DMCO-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,90-2,02 (м, 1 H), 2,02-2,14 (м, 1 H), 3,06-3,20 (м, 1 H), 3,23-3,48 (м, 4 H), 3,61 (с, 3 H), 6,35-6,48 (м, 1 H), 7,34 (д,  $J=8,78$  Гц, 2 H), 7,79-7,90 (м, 1 H), 7,89 (д,  $J=8,80$  Гц, 2 H), 8,03-8,13 (м, 1 H), 8,70-8,83 (м, 1 H), 10,26 (с, 1 H).

30

35

40

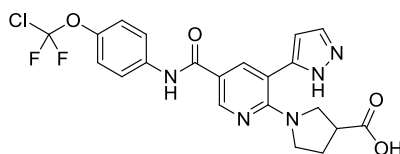
Стадія 36.1: 6-Хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-5-(1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)нікотинамід



Пінаколовий ефір 1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-боронової кислоти (9,45 г, 34,0 ммоль),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (39,2 мл, 78 ммоль) та  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$  (0,956 г, 1,307 ммоль) додавали до 6-хлор-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-5-йоднікотинаміду (Стадія 25.2, 12 г, 26,1 ммоль) у DME (160 мл). З суміші відкачували повітря/продували 3 рази аргонем та перемішували при 80 °C впродовж 22 годин. Реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (350 мл), промивали водою (4×150 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем, 850 г, EtOAc/н-гексан (1:2)) та кристалізували з  $i\text{Pr}_2\text{O}/\text{EtOAc}$  з одержанням зазначеного у заголовку продукту у вигляді білої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=7,52$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=1,22$  хвил.,  $m/z=483/485$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

Приклад 37

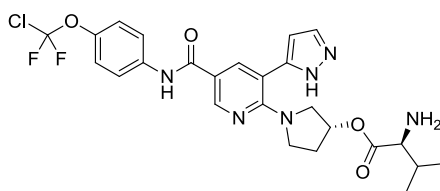
1-(5-((4-(Хлордифторметокси)феніл)карбамоіл)-3-(1H-піразол-5-іл)піридин-2-іл)піролідін-3-карбонова кислота



Водний 1 М розчин  $\text{LiOH}$  (0,199 мл, 0,199 ммоль) додавали у розчин метил 1-(5-((4-(хлордифторметокси)феніл)карбамоіл)-3-(1H-піразол-5-іл)піридин-2-іл)піролідін-3-карбоксилату (приклад 36, 24,5 мг, 0,05 ммоль) у MeOH (0,5 мл)/THF (1 мл) та реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі впродовж 1 години. Реакційну суміш обробляли 1 М розчином  $\text{HCl}$  (4 екв.) та органічні розчинники випарювали при зниженому тиску. Водну фазу екстрагували двічі за допомогою EtOAc та об'єднані екстракти промивали насиченим сольовим розчином, сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  та розчинник концентрували при зниженому тиску до об'єму 0,5 мл. Додавали н-гептан та продукт фільтрували, промивали н-гептаном та сушили з одержанням зазначеної у заголовку сполуки у вигляді бежевої твердої речовини. НВЕРХ-МС (Умова 6)  $t_R=0,96$  хвил.,  $m/z=478,3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,86-2,12 (м, 2 H), 2,90-3,09 (м, 1 H), 3,17-3,54 (м, 4 H), 6,41 (д,  $J=2,08$  Гц, 1 H), 7,34 (д,  $J=9,05$  Гц, 2 H), 7,66-7,83 (м, 1 H), 7,88 (д,  $J=9,17$  Гц, 2 H), 8,06 (д,  $J=2,44$  Гц, 1 H), 8,70-8,84 (м, 1 H), 10,23 (с, 1 H), 12,90 (уш. с., 1 H).

Приклад 38

2-Аміно-3-метилбутаноат (S)-(R)-1-(5-((4-(хлордифторметокси)феніл)карбамоіл)-3-(1H-піразол-5-іл)піридин-2-іл)піролідін-3-ілу

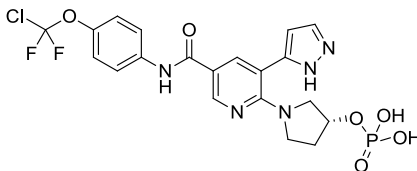


Вос-L-валін (726 мг, 3,34 ммоль) та DMAP (102 мг, 0,836 ммоль) додавали до суміші (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинаміду (приклад 9, 800 мг, 1,672 ммоль) у DCM (20 мл) та суспензію перемішували при кімнатній температурі впродовж 30 хвилин. Потім додавали N, N'-діізопропілкарбодіімід (0,521 мл, 3,34 ммоль) та отриманий розчин перемішували при кімнатній температурі впродовж 19 годин. Реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (150 мл), промивали водним насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  (50 мл) та насиченим сольовим розчином (2×50 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який суспендували у EtOAc (5 мл), перемішували при кімнатній температурі, фільтрували та промивали за допомогою 10 мл EtOAc. Фільтрат випарювали досуха при зниженому тиску та отриману проміжну сполуку розчиняли у DCM (15 мл), обробляли за допомогою TFA (4,09 мл, 53,0 ммоль) та перемішували при кімнатній температурі впродовж 92 годин. Розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок

розчиняли у EtOAc (150 мл), промивали водним насиченим розчином  $\text{NaHCO}_3$  (50 мл) та водою (2×50 мл), сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який розчиняли у MeOH (20 мл) та обробляли за допомогою Si-Thiol (Biotage 1,3 ммоль/г, 1 г). До суміші додавали силікагель (5 г), розчинник випарювали при зниженому тиску та залишок очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем RediSep®, 120 г, DCM/MeOH 95:5) з наступним очищенням за допомогою препаративної SFC (колонка DEAP; ізократична хроматографія 25 % впродовж 15 хвилин). Фракції, що містять чистий продукт, об'єднували та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який розчиняли у гарячому MeOH (4 мл) та фільтрували через PTFE 0,45 мкм фільтр. Фільтрат обробляли ультразвуком впродовж 5 хвилин та отриману суспензію білого кольору перемішували впродовж 2 годин при кімнатній температурі, фільтрували, промивали за допомогою MeOH (1 мл) та сушили з одержанням зазначеного у заголовку продукту у вигляді білої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=5,41$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3)  $t_R=0,86$  хвил.,  $m/z=549,2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 0,77 (д,  $J=6,65$  Гц, 3 Н), 0,81 (д,  $J=6,65$  Гц, 3 Н), 1,51-1,64 (м, 2 Н), 1,69-1,81 (м, 1 Н), 1,84-1,94 (м, 1 Н), 1,98-2,12 (м, 1 Н), 3,02 (д,  $J=5,08$  Гц, 1 Н), 3,15 (д,  $J=12,90$  Гц, 1 Н), 3,30-3,43 (м, 2 Н), 3,46-3,57 (м, 1 Н), 5,13-5,25 (м, 1 Н), 6,39 (уш. с., 1 Н), 7,31 (д,  $J=8,21$  Гц, 2 Н), 7,76-7,91 (м, 3 Н), 8,05 (с, 1 Н), 8,73 (уш. с., 1 Н), 10,21 (с, 1 Н), 12,94 (уш. с., 1 Н).

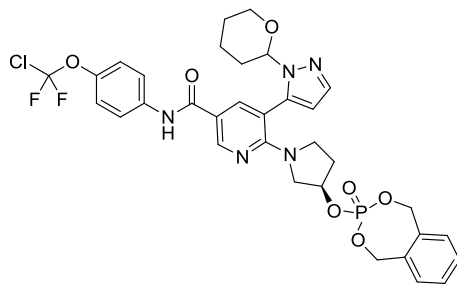
#### Приклад 39

(R)-1-(5-((4-(Хлордифторметокси)феніл)карбамоїл)-3-(1Н-піразол-5-іл)піридин-2-іл)піролідін-3-ілдігідрофосфат



TFA (1,227 мл, 15,93 ммоль) додавали у розчин N-(4-(хлордифтор-метокси)феніл)-6-((R)-3-((3-оксидо-1,5-дигідробензо[е][1,3,2]діоксафосфепін-3-іл)окси)піролідін-1-іл)-5-(1-(тетрагідро-2Н-піран-2-іл)-1Н-піразол-5-іл)нікотинамід (Стадія 39.1, 620 мг, 0,797 ммоль) у DCM (10 мл) та реакційну суміш перемішували впродовж 20 годин при кімнатній температурі. Додавали додаткову кількість TFA (500 мкл) та реакційну суміш перемішували ще 4 години при кімнатній температурі. Реакційну суміш розводили за допомогою EtOAc (100 мл), обробляли насиченим водним розчином  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (70 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc (50 мл). Об'єднані екстракти промивали насиченим сольовим розчином (50 мл), сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням залишку, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем, 12 г DCM/EtOH від 9:1 до 4:6). Проміжну сполуку розчиняли у MeOH/THF (10 мл суміші 1:1) та гідрували (60 мг Pd/C 5 %, 0,1 бар, 22-25 °C, 6,5 годин). Реакційну суміш фільтрували через Hyflo® та розчинник випарювали при зниженому тиску. Залишок розчиняли у суміші MeOH/THF та обробляли PL-Thiol MP SPE картриджем (StratoSpheres™). Смола відфільтровували та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням зазначеного у заголовку продукту. ВЕРХ (Умова 5)  $t_R=5,50$  хвил., НВЕРХ-МС (Умова 6)  $t_R=0,76$  хвил.,  $m/z=530,2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $^1\text{H}$ -ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  млн.ч. 1,88-2,08 (м, 2 Н), 3,12-3,48 (м, 4 Н), 4,73 (уш. с., 1 Н), 6,37-6,44 (м, 1 Н), 7,33 (д,  $J=8,99$  Гц, 2 Н), 7,76 (с, 1 Н), 7,87 (д,  $J=8,99$  Гц, 2 Н), 8,04-8,08 (м, 1 Н), 8,73-8,78 (м, 1 Н), 10,21 (с, 1 Н).

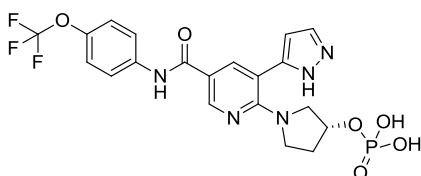
Стадія 39.1: N-(4-(Хлордифторметокси)феніл)-6-((R)-3-((3-оксидо-1,5-дигідробензо[е][1,3,2]діоксафосфепін-3-іл)окси)піролідін-1-іл)-5-(1-(тетрагідро-2Н-піран-2-іл)-1Н-піразол-5-іл)нікотинамід



N, N-діетил-1,5-дигідробензо[е][1,3,2]діоксафосфепін-3-амін (355 мг, 1,483 ммоль) додавали до суміші N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-((R)-3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1-(тетрагідро-2H-піран-2-іл)-1H-піразол-5-іл)нікотинамід (Стадія 9.1, 200 мг, 0,371 ммоль) та тетразолу у MeCN (8,240 мл, 3,71 ммоль) у посудині та реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі впродовж 3 годин. Реакційну суміш охолоджували до 5 °C, обробляли за допомогою TEA (0,775 мл, 5,56 ммоль) та водним розчином H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,379 мл, 3,71 ммоль) та перемішували при 0 °C впродовж 30 хвилин та ще 3 годин при кімнатній температурі. Реакційну суміш гасили 10 % розчином Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (20 мл) та екстрагували за допомогою EtOAc. Об'єднані екстракти промивали водою (20 мл) та насиченим сольовим розчином (15 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> та розчинник випарювали при зниженому тиску з одержанням неочищеного продукту, який очищали за допомогою флеш-хроматографії (колонка з силікагелем, 12 г DCM/MeOH від 98:2 до 9:1) з одержанням зазначеного у заголовку продукту у вигляді білої піни. ВЕРХ (Умова 5) t<sub>R</sub>=7,3 хвил., НВЕРХ-МС (Умова 3) t<sub>R</sub>=1,18 хвил., m/z=716,3 [M+H]<sup>+</sup>.

#### Приклад 40

(R)-1-(3-(1H-Піразол-5-іл)-5-((4-(трифторметокси)феніл)карбамоіл)піридин-2-іл)піролідін-3-ілу дигідрофосфат



20

Зазначену у заголовку сполуку отримували аналогічним чином, як описано у прикладі 39, з використанням (R)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-3-іл)-N-(4-(трифторметокси)феніл)нікотинамід (Стадія 2.1) та N, N-діетил-1,5-дигідробензо[е][1,3,2]діоксафосфепін-3-аміну з одержанням бежевої твердої речовини. ВЕРХ (Умова 5) t<sub>R</sub>=5,3 хвил., НВЕРХ-МС (Умова 6) t<sub>R</sub>=0,75 хвил., m/z=514,4 [M+H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>) δ мн.ч. 1,88-2,07 (м, 2 H), 3,21-3,49 (м, 4 H), 4,66-4,76 (м, 1 H), 6,41 (д, J=1,96 Гц, 1 H), 7,02-7,15 (м, 1 H), 7,34 (д, J=8,68 Гц, 2 H), 7,77 (с, 1 H), 7,87 (д, J=9,05 Гц, 2 H), 8,06 (д, J=2,32 Гц, 1 H), 8,75 (д, J=2,32 Гц, 1 H), 10,21 (с, 1 H).

#### Приклад 41

Фармацевтична композиція у вигляді твердої дисперсії

Фармацевтична композиція у вигляді твердої дисперсії може бути отримана для сполук відповідно до даного винаходу, де збільшення їх розчинності є ефективним для біодоступності та/або проникності.

Фармацевтичну композицію у вигляді твердої дисперсії отримували з використанням аморфної дисперсії (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід (приклад 9, см. фіг.1) з ексципієтами, вибраними з PVP VA64 та Pharmacoat 603. Спочатку розчин для розпорошувальної сушки отримували шляхом змішування (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід (приклад 9, 2,5 грамів) з PVP VA 64 (3,75 грамів) та Pharmacoat 603 (3,75 грамів). Додавали суміш 50/50 метиленхлорид/етанол, поки всі компоненти не розчинялись, як показував чистий розчин, вільний від частинок та мутності (~200 мл). Альтернативно, суміш 50/50 метиленхлорид/етанол можна замінити сумішшю ацетон/етанол/вода (5:4:1). Сушку розпорошуванням здійснювали на мінірозпорошувальній сушильці Buchi B290 з температурою на

вході 70°C, аспірація при 85 %, потік азоту при 50 мм рт.ст., накачування при 15 %, та голка для прочистки сопла була нульовою, з одержанням 5,5 грамів (55 %). Отримана у результаті сушіння розпорошуванням тверда дисперсія містила 23,6 % лікарського навантаження (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)-нікотинамід (приклад 9), 37,5 % PVP VA64 та 37,5 % Pharmacoat 603. Дисперсія була аморфною з температурою склування ( $T_g$ ) 117°C та містила приблизно 1,4 % води, як визначали за допомогою термогравіметричного аналізу (TGA). Розчинення цієї твердої дисперсії у pH 1 з наступним переключанням pH на 6,8 через 30 хвилин показало повне розчинення при кислотному рівні pH. Дисперсія залишалась повністю розчиненою після зміни pH до нейтрального рівня pH.

Дисперсію суспендували у фосфатно-буферному сольовому розчині (PBS) при концентрації 3 мг/мл (як лікарський засіб) впродовж 12 годин при кімнатній температурі. Не було відмічено кристалізації, розмір частинок D (0,9; діаметр частинки, де 90 % частинок нижче цього встановленого значення) становив 14,134 з дуже однорідним та вузьким розподілом частинок за розмірами. Лікарський засіб не кристалізувався із суспензії, та ніякої хімічної деградації не було відмічено (як оцінювали за допомогою НВЕРХ). Суспензія мала хімічну чистоту 99,4 %, яка відповідала T0 чистоті суспензії та самого лікарського засобу.

Удосконалені властивості фармацевтичної композиції у вигляді твердої дисперсії (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)-нікотинамід (Приклад 9) у собаки можуть бути продемонстровані за допомогою таблиці фармакокінетичних параметрів, представленої нижче.

Таблиця

Тип фармацевтичної композиції	Тверда дисперсія	Суспензія
Доза [мг/кг]	60	60
AUC [мМ*час] (SD)	671,9	102,9
$C_{Max}$ [нМ] (SD)	47127	7314
BAV* [%] (SD)	179,1	27,4
$T_{max}$ [час] (SD)	2,00	3,3
Об'єм введення [мл/кг]	5	5
Рангова експозиція/ $C_{Max}$	14,2	14,1

Фармацевтична композиція у вигляді твердої дисперсії (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)-нікотинамід (приклад 9) при дозі 60 мг/кг показала у 6,5 разів більшу експозицію, ніж кристалічна суспензія (671,9 мкМ проти 102,9 мкМ).

#### Аналізи

Застосовність сполук відповідно до даного винаходу, описаних у даній заявці, може бути підтверджена шляхом випробування у наступних аналізах. Сполуки відповідно до даного винаходу оцінювали на їх здатність інгібувати ABL1 активність у біохімічних аналізах та BCR-ABL1 у клітинних аналізах, описаних нижче. Сполуки відповідно до даного винаходу випробовували далі, та було показано, що вони є ефективними *in vivo* з використанням моделі ксенотрансплантату KCL-22.

#### Біохімічні аналізи

Експресія та очищення протеїнкінази - Експресію та очищення людського ABL здійснювали з використанням стандартних процедур експресії та очищення. ABL64-515 білок отримували та використовували для *in vitro* кіназних аналізів. Білок отримували з використанням вектору ко-експресії, що несе ДНК фрагменти для ABL1 (1a ізоформа, з N-кінцевою His6-міткою з наступним сайтом розщеплення протеази PreScission) та людську протеїнтирозинфосфатазу-1B (залишки 1-283, немічені), з використанням вектору подвійної експресії pCDF Duet-1 (Novagen). His-ABL експресували у E.coli BL21 (DE3) та ABL білки виділяли Ni-афінним методом на Ni-NTA колонці (Qiagen). His-мітку видаляли за допомогою PreScission протеази (GE Healthcare) та нефосфорильований ABL додатково очищали на Mono Q HR 10/10 (GE Healthcare, монофосфорильований ABL складає близько 10-20 % від загальної кількості ABL білку) та HiLoad 16/60 Superdex 200 витискуючій за розміром молекул колонці (GE Healthcare). Нефосфорильовані ABL64-515 білки аналізували за допомогою мас-спектроскопічного аналізу та швидко заморожували у аліквотах, та зберігали при -80 °C. SRC (амінокислоти 83-535 або Src83-535) експресували та очищали, як описано (S.W. Cowan-Jacob, G. Fendrich, P.W. Manley, W. Jahnke, D. Fabbro, J. Liebetanz, T. Meyer, c-Src crystal structure provides insights into c-Src activation. Structure 13 (2005) 861-871).

## Радіо ABL1 (64-515) аналіз

Для визначення ABL кіназної активності використовували радіометричний фільтр-зв'язуючий аналіз. Аналіз здійснювали шляхом змішування 10 мкл сполуки, попередньо розведеної за допомогою 10 мкл ATP (20 мкМ ATP з 0,1 мкКі  $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{-ATP}$ ) з фосфо-акцепторним пептидом полі[Ala6Glu2LysHBr5Tyr1] = поліAEKY) у 20 мМ Tris/HCl pH 7,5, 1 мМ DTT, 10 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 0,01 мМ  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ , 50 мМ NaCl. Додавали 10 мкл ферменту (у межах від 5 нМ до 20 нМ) для ініціювання реакції. Пре-інкубацію ферменту зі сполуками (коли зазначено) здійснювали, впливаючи на фермент сполуками до додавання суміші субстрату (ATP та/або пептидний субстрат). Через 15 хвилин при кімнатній температурі реакцію зупиняли шляхом додавання 50 мкл 125 мМ EDTA та пептид-зв'язаного  $^{32}\text{P}$ , відділеного на фільтрувальних планшетах (PVDF або MAIP; Millipore, Volketswil, Switzerland), отриманого відповідно до інструкцій виробника. Фільтрувальні планшети промивали 3× за допомогою 0,5 %  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , з наступним додаванням 30 мкл сцинтиляційного коктейлю (Microscint, Perkin Elmer) на лунку та потім аналізували у TopCount NXT сцинтиляційному лічильнику (Perkin Elmer). Результати виражали як значення  $\text{IC}_{50}$ .  $K_m$  значення для ATP визначали шляхом аналізу ABL кінази із зростаючими концентраціями ATP, та підтримуючи екзогенний акцепторний білковий субстрат (полі-AEKY) при постійній концентрації (при приблизно 2-разовому значенні його  $K_m$ ), та навпаки.  $K_m$  та  $V_{\max}$  розраховували у відповідності з Eadie-Hofstee, як описано (D. Fabbro, G. Fendrich, V. Guez, T. Meyer, P. Furet, J. Mestan, J.D. Griffin, P.W. Manley, S.W. Cowan-Jacob, Targeted therapy with imatinib: An exception or a rule? Handbook of Experimental Pharmacology 167, Inhibitors of Protein Kinases and Protein Phosphates (2005) 361-389). Дані використовували для побудови графіку  $V$  проти  $V/S$ , де  $V$  являє собою швидкість реакції при даній концентрації субстрату ( $S$ ), та будували пряму по точках з використанням аналізу лінійної регресії, де кут нахилу лінії відповідає  $-K_m$ , та  $Y$ -відрізок, що відсікають від координатної вісі, являє собою  $V_{\max}$ .

## Caliper ABL1 (64-515) аналіз

Всі аналізи здійснювали у 384-лункових мікротитрувальних планшетах. Кожен аналітичний планшет містив 8-точкові серійні розведення для 40 випробовуваних сполук, а також чотири 8-точкові серійні розведення стауроспорину як посиляльну сполуку, плюс 16 верхніх та 16 нижніх контролів. Маніпуляції з рідинами та стадії інкубації здійснювали на робочій станції Thermo CatX, оснащений Innovadyne Nanodrop Express. Між стадіями піпетування кінчики піпеток очищали з використанням промивних циклів за допомогою промивного буферу.

Аналітичні планшети готували шляхом додавання 50 нл на лунку розчину сполуки у 90 % ДМСО. Кіназні реакції починали шляхом постадійного додавання 4,5 мкл на лунку пептид/ATP-розчину (50 мМ HEPES, pH 7,5, 1 мМ DTT, 0,02 % BSA, 0,6 % ДМСО, 10 мМ бета-гліцерофосфату та 10 мМ ортованадату натрію, 20 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 2 мМ  $\text{MnCl}_2$ , 4 мкМ ATP, 4 мкМ пептиду (FITC-Ahx-EAIYAAPFAKKK-NH<sub>2</sub>)) та 4,5 мкл на лунку розчину ферменту (50 мМ HEPES, pH 7,5, 1 мМ DTT, 0,02 % BSA, 0,6 % ДМСО, 10 мМ бета-гліцерофосфату та 10 мкМ ортованадату натрію, 20 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 2 мМ  $\text{MnCl}_2$ , 3,5 нМ ABL (ABL(64-515), отриманого на місці з *E. coli*)). Кіназні реакції інкубували при 30 °C впродовж 60 хвилин та потім зупиняли шляхом додавання 16 мкл на лунку стоп-розчину (100 мМ HEPES pH 7,5, 5 % ДМСО, 0,1 % Caliper реагенту покриття, 10 мМ EDTA та 0,015 % Brij35). Планшети із зупиненими кіназними реакціями переносили на Caliper LC3000 робочі станції для зчитування. Фосфорильовані та нефосфорильовані пептиди розділяли з використанням Caliper мікрофлюїдизованого методу зсуву рухливості. Коротко, зразки із зупинених кіназних реакцій наносили на чип. Транспорт аналітів через чип здійснювали за допомогою постійного буферного потоку та міграцію пептидного субстрату відслідковували за сигналом флуоресценції його мітки. Фосфорильований пептид (продукт) та нефосфорильований пептид (субстрат) розділяли у електричному полі на основі їх відношення заряд/маса. Кіназні активності розраховували з кількостей утвореного фосфопептиду. Значення  $\text{IC}_{50}$  визначали з відсотків інгібування при різних концентраціях сполуки з використанням аналізу нелінійної регресії.

Одержання розведень сполук: випробовувані сполуки розчиняли у ДМСО (10 мМ) та переносили у 1,4-мл плоскодонні або V-подібні Matrix пробірки, що містять унікальну 2D матрицю. Вихідні розчини зберігали при +2 °C, якщо не використовували безпосередньо відразу. Для процедури випробування посудини розморожували та ідентифікували за допомогою сканеру, отримуючи, таким чином, робочий лист, який спрямовував наступні робочі стадії.

Розведення сполук отримували у 96-лункових планшетах. Цей формат дозволяв здійснити аналіз максимально 40 окремих випробовуваних сполук при 8 концентраціях (окремі точки), включаючи 4 посиляльні сполуки. Протокол розведення включав одержання "планшетів передрозведення", "еталонних планшетів" та "аналітичних планшетів".

Планшети передрозведення: поліпропіленові 96-лункові планшети використовували як планшети передрозведення. Всього було отримано 4 планшети передрозведення, що включають 10 випробовуваних сполук, кожна у положеннях планшету A1-A10, одна стандартна сполука у положенні A11 та один ДМСО контроль у положенні A12. Всі стадії розведення здійснювали на робототехнічному пристрої HamiltonSTAR.

Еталонні планшети: 30 мкл індивідуальних розведень сполук, включаючи стандартну сполуку та контроль з 4 "планшетів передрозведення", переносили у 384-лунковий "еталонний планшет", включаючи наступні концентрації 1'810, 362, 72,5, 54,6, 14,5, 2,9, 0,58 та 0,12 мкМ, відповідно, у 90 % ДМСО.

Аналітичні планшети: потім отримували ідентичні "аналітичні планшети" шляхом додавання через піпетку 50 нл кожного з розведень сполук з "еталонних планшетів" у 384-лункові "аналітичні планшети" з використанням 384-канального дозуючого пристрою HummingBird. Ці планшети використовували безпосередньо для аналізу, який здійснювали у загальному об'ємі 9,05 мкл. Це приводило до кінцевої концентрації сполуки 10, 2,0, 0,4, 0,08, 0,016, 0,0032, 0,00064 та 0,000128 мкМ та кінцевої ДМСО концентрації 0,5 % у аналізі.

#### Клітинні аналізи

Для оцінки здатності сполук відповідно до даного винаходу інгібувати BCR-ABL1 активність у клітинних аналізах сполуки оцінювали на їх здатність селективно інгібувати проліферацію клітин, що залежать від BCR-ABL1 експресії, у порівнянні з клітинами, які не залежать від BCR-ABL1 експресії.

Клітинну лінію Ba/F3, що походить з кісткового мозку миші, використовували для одержання підходящих моделей клітинної лінії. Ba/F3 клітини отримували від German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ, Braunschweig and DSMZ No. ACC 300). Батьківські Ba/F3 клітини залежать від IL3 для росту та виживання, та їх використовували як контрольну клітинну лінію, яка не залежить від BCR-ABL1 активності для росту та виживання. Ці клітини зазначені як Ba/F3-WT.

Для одержання Ba/F3 клітин, які залежать від BCR-ABL1 експресії для росту та виживання, біотехнологічними методами були отримані Ba/F3 клітини для експресії BCR-ABL1 з використанням ретровірусної трансдукції з ретровірусним вектором на основі MSCV, що містить p210 BCR-ABL1 експресуючу касету. При рості за відсутності IL-3 проліферація клітин залежить від експресії BCR-ABL1 (Daley, G.Q. and Baltimore, D. Transformation of an interleukin 3-dependent hematopoietic cell line by the chronic myeloid leukemia-specific p210 BCR-ABL1 protein. PNAS 1988; 85:9312-9316). Ці клітини вказані як Ba/F3-BCR-ABL-WT. Подібний підхід використовували для одержання Ba/F3 клітин, які залежать від BCR-ABL1 варіанту, у якому треонін 315 замінений ізольейцином. Ці клітини вказані як Ba/F3-BCR-ABL-T315I.

Ba/F3-WT клітини підтримували у RPMI1640 середовищі з L-глутаміном, HEPES (Lonza), 10 % FBS (Gibco) та 5 нг/мл IL-3 (Calbiochem). Ba/F3-BCR-ABL1-WT клітини та Ba/F3-BCR-ABL1-T315I клітини підтримували у RPMI1640 середовищі з L-глутаміном, HEPES (Lonza) та 10 % FBS (Gibco).

#### Аналіз проліферації

Для кожної клітинної лінії щільність клітин доводили до 50 000 клітин/мл та 50 мкл (2500 клітин) додавали у кожну лунку 384-лункового аналітичного планшету.

Випробовувані сполуки ресуспендували у ДМСО при концентрації 10 мМ. Серійне триразове розведення кожної сполуки за допомогою ДМСО здійснювали у 384-лункових планшетах з використанням Janus Liquid Dispenser (Perkin Elmer). Сполуку розподіляли у аналітичні планшети, що містять 2500 клітин у 50 мкл об'ємі, через акустичну доставку з ATS-100 (EDC). Для Ba/F3-BCR-ABL1-WT клітинних аналізів 2 нл кожного розведення сполуки переносили у аналітичний планшет з одержанням кінцевих аналізованих концентрацій 0,4 мкМ, 0,13 мкМ, 0,044 мкМ, 0,015 мкМ, 0,005 мкМ, 0,001 мкМ, 0,00033 мкМ, 0,00011 мкМ, 0,000037 мкМ, 0,000012 мкМ. Для Ba/F3-WT та Ba/F3-BCR-ABL1-T315I клітинних аналізів 50 нл кожного розведення сполуки переносили у аналітичний планшет з одержанням кінцевих аналізованих концентрацій 10 мкМ, 3,33 мкМ, 1,11 мкМ, 0,37 мкМ, 0,12 мкМ, 0,041 мкМ, 0,014 мкМ, 0,0046 мкМ, 0,0015 мкМ, 0,00051 мкМ.

Клітини інкубували при 37 °C у зволоженій атмосфері 5 % діоксиду вуглецю впродовж 48 годин. Britelite плюс розчин (Perkin Elmer) отримували відповідно до інструкцій виробника та 25 мкл додавали у кожну лунку аналітичного планшету. Планшети інкубували впродовж 3-5 хвилин та люмінесценцію визначали на EnVision Multimode планшет-рідери (Perkin Elmer). Ступінь люмінесценції корелює з кількістю клітин у кожній лунці. Тому можна розрахувати ефект кожної концентрації інгібітору та отримати значення IC<sub>50</sub>.



- 5 Сполуки відповідно до даного винаходу демонструють значення  $IC_{50}$  у межах від 0,1 нМ до 12 нМ для інгібування ABL кіназної активності у радіометричному аналізі фільтр- зв'язування (Radio). Для мікрофлюїдизованих аналізів зсуву рухливості (Caliper) значення  $IC_{50}$  знаходяться у межах від 0,1 нМ до 10 нМ. Для аналізів Ba/F3-BCR-ABL-WT та T315I клітинної проліферації  $GI_{50}$  значення знаходяться у межах від 0,8 нМ до 110 нМ та від 13 нМ до 4,2 мкМ, відповідно.

Таблиця

## Біохімічні дані

Приклад	Radio ABL1 (64-515) $IC_{50}$ [мкМ]	Caliper ABL1 (64-515) $IC_{50}$ [мкМ]	Приклад	Radio ABL1 (64-515) $IC_{50}$ [мкМ]	Caliper ABL1 (64-515) $IC_{50}$ [мкМ]
1	< 0,003	0,0022	21	0,001	0,0013
2	0,004	0,001	22	0,006	< 0,00064
3	0,004	0,0007	23	0,007	0,0005
4	0,0034	0,0013	24	0,005	0,0004
5	0,007	0,0012	25	0,001	0,0007
6	0,003	0,0032	26	0,012	0,0104
7	< 0,003	0,0004	27	0,002	0,0011
8	0,0019	0,0004	28	0,0028	0,0019
9	0,0024	0,0003	29	0,009	0,0009
10	< 0,00013	0,0003	30	0,0004	0,0043
11	< 0,003	< 0,00013	31	0,001	0,0025
12	0,006	0,0005	32	0,003	0,013
13	0,01	0,0006	33	0,0060	0,0006
14	0,01	0,0009	34	0,0020	0,0041
15	0,011	0,0003	35		0,0004
16	0,012	< 0,00013	36		0,0021
17	0,003	0,0024	37		0,0005
18	0,002	0,0002	38	0,0040	0,0025
19	0,005	0,0018	39	0,0030	0,0013
20	0,0013	0,0004	40		0,0021

Таблиця

## Дані клітинної проліферації Ba/F3-BCR-ABL-WT та T315I

Приклад	Ba/F3-BCR-ABL1-WT $IC_{50}$ [мкМ]	Ba/F3-BCR-ABL1-T315I $IC_{50}$ [мкМ]	Приклад	Ba/F3-BCR-ABL1-WT $IC_{50}$ [мкМ]	Ba/F3-BCR-ABL1-T315I $IC_{50}$ [мкМ]
2	0,0048	0,135	18	0,0015	0,032
3	0,0075	0,133	19	0,0135	0,236
4	0,0117	0,327	21	0,004	0,149
5	0,0081	0,134	23	0,0017	0,042
7	0,0060	0,132	24	0,0011	0,022
8	0,0022	0,065	25	0,0011	0,023
9	0,0015	0,035	26	0,0090	0,227
10	0,0019	0,044	28	0,0075	0,150
11	0,001	0,038	30	0,0318	0,715
12	0,0019	0,038	31	0,0041	0,133
13	0,0096	0,150	33	0,0015	0,032
14	0,0189	0,218	34	0,0150	0,212
15	0,0019	0,031	35	0,0008	0,013
16	0,0041	0,092	36	0,0019	0,071
17	0,0155	0,199			

Ефективність in vivo у моделі ксенотрансплантату KCL-22 - лікування одним засобом

Сполуки відповідно до даного винаходу вводили перорально мишачій моделі ксенотрансплантату KCL-22 впродовж 7 днів. 6-8-тижневим самкам безтимусних мишей, придбаним у Harlan (Indianapolis IN), імплантували підшкірно  $5 \times 10^6$  KCL-22 клітин 50 % у матригелі (BD Biosciences, #354234) у праву дорсальну підпахвову область. Медикаментозне лікування починали, коли об'єм пухлини досягав у середньому  $238 \text{ мм}^3$  (10 днів після імплантації пухлини). Сполуки відповідно до даного винаходу у фосфатному буферному сольовому розчині отримували раз на тиждень та дозували через шлунковий зонд при дозі 3-30 мг/кг двічі на день ( $n=6$  мишей на рівень дози). Об'єм пухлини визначали двічі на тиждень цифровим вимірювачем діаметру та розраховували як  $\text{Довжина} \times \text{Ширина}^2/2$ .

Сполуки відповідно до даного винаходу показали статистично значимі регресії. Наприклад, доза 3 мг/кг два рази на день (R)-N-(4-(хлордиформетокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід (приклад 9) привела до інгібування росту пухлини на 45 % у порівнянні з мишами, обробленими розчинником, у той час як спостерігали регресії 56 %, 88 % та 92 % при дозах 7,5, 15 та 30 мг/кг при дозуванні два рази на день, відповідно. Як позитивний контроль нілотиніб вводили при дозі 75 мг/кг два рази на день, що приводило до регресії пухлини 82 % (фіг.2).

Ефективність *in vivo* у моделі ксенотрансплантату KCL-22 - лікування двома засобами 6-8-тижневим самкам безтимусних мишей, придбаним у Harlan (Indianapolis IN), імплантували підшкірно  $2 \times 10^6$  KCL-22 клітин у 50 % матригелі (BD Biosciences, #354234) у праву дорсальну підпахвову область. Медикаментозне лікування починали, коли об'єм пухлини досягав у середньому  $189 \text{ мм}^3$  (9 днів після імплантації пухлини). Сполуки відповідно до даного винаходу у фосфатному буферному сольовому розчині отримували раз на тиждень та дозували через шлунковий зонд при дозі 30 мг/кг двічі на день та розчин нілотинібу вводили при 75 мг/кг два рази на день. Тварини отримували або тільки один засіб, або комбінацію обох засобів одночасно. Об'єм пухлини визначали двічі на тиждень цифровим вимірювачем діаметру та розраховували як  $\text{Довжина} \times \text{Ширина}^2/2$ .

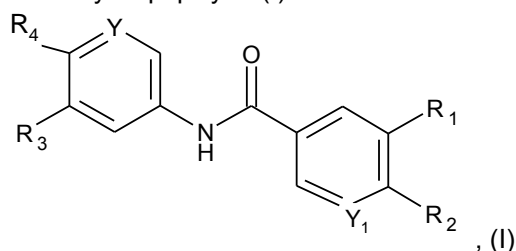
Тварини, яких лікували тільки нілотинібом, досягали >84 % регресії пухлини після 4-тижневого щоденного лікування, але у більшості випадків після цього знову виникали пухлини > $500 \text{ мм}^3$ . Тварини з нілотинібрезистентними пухлинами потім отримували щоденне лікування сполукою прикладу 9, та продовжувався моніторинг відповіді пухлини (фіг.3).

Тварини, яких лікували нілотинібом та сполукою прикладу 9 одночасно, демонстрували повну регресію пухлини у всіх тварин до кінця дослідження (фіг.4).

Має бути зрозуміло, що приклади та варіанти втілення, описані у даній заявці, призначені тільки для ілюстративних цілей та що різні модифікації або зміни у світлі цих прикладів та варіантів втілення будуть зрозумілі спеціалістам у даній галузі та включені, по суті, у обсяг даної заявки та обсяг формули винаходу, що додається.

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Сполука формули (I):



де:

R<sub>1</sub> являє собою піразоліл; де зазначений піразоліл є незаміщеним або заміщений 1-2 групами R<sub>6</sub>;

R<sub>2</sub> являє собою піролідиніл; де зазначений піролідиніл заміщений однією групою R<sub>7</sub>;

R<sub>3</sub> вибирають з водню та галогену;

R<sub>4</sub> вибирають з -SF<sub>5</sub> та -Y<sub>2</sub>-CF<sub>2</sub>-Y<sub>3</sub>;

R<sub>6</sub> у кожному випадку незалежно вибирають з водню, гідроксигрупи, метилу, метоксигрупи, ціаногрупи, трифторметилу, гідроксиметилу, галогену, аміногрупи, фторетилу, етилу та циклопропілу;

R<sub>7</sub> вибирають з гідроксигрупи, метилу, галогену, метоксигрупи, гідроксиметилу, аміногрупи, метиламіногрупи, амінометилу, трифторметилу, 2-гідроксипропан-2-ілу, метилкарбоніламіногрупи, диметиламіногрупи, 2-аміно-3-метилбутаноїлоксигрупи, карбоксигрупи, метоксикарбонілу, фосфонооксигрупи, ціаногрупи та амінокарбонілу;

Y вибирають з CH та N;

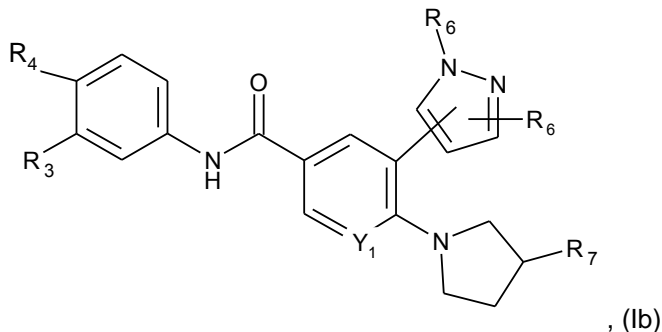
Y<sub>1</sub> вибирають з CH та N;

Y<sub>2</sub> вибирають з CF<sub>2</sub>, O та S(O)<sub>0-2</sub>; та

Y<sub>3</sub> вибирають з водню, хлору, фтору, метилу, дифторметилу та трифторметилу;

5 або її фармацевтично прийнятні солі.

2. Сполука за п. 1 формули (Ib):



де:

R<sub>3</sub> вибирають з водню та галогену;

10 R<sub>4</sub> вибирають з -SF<sub>5</sub> та -Y<sub>2</sub>-CF<sub>2</sub>-Y<sub>3</sub>;

R<sub>6</sub>, коли зв'язаний з азотом піразолільного кільця, вибирають з водню, метилу, гідроксietилу, фторетилу, етилу та циклопропілу; та R<sub>6</sub>, коли зв'язаний з атомом вуглецю піразолільного кільця, вибирають з водню, гідроксигрупи, метилу, метоксигрупи, ціаногрупи, трифторметилу, гідроксиметилу, галогену, аміногрупи, фторетилу, етилу та циклопропілу;

15 R<sub>7</sub> вибирають з гідроксигрупи, метилу, галогену, метоксигрупи, гідроксиметилу, аміногрупи, метиламіногрупи, амінометилу, трифторметилу, 2-гідроксипропан-2-ілу, метилкарбоніламіногрупи, диметиламіногрупи, 2-аміно-3-метилбутаноїлоксигрупи, карбоксигрупи, метоксикарбонілу, фосфонооксигрупи, ціаногрупи та амінокарбонілу;

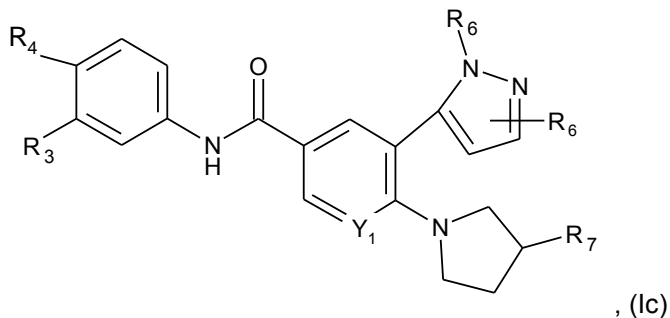
Y<sub>1</sub> вибирають з CH та N;

20 Y<sub>2</sub> вибирають з CF<sub>2</sub>, O та S(O)<sub>0-2</sub>;

Y<sub>3</sub> вибирають з водню, фтору, хлору, метилу, дифторметилу та трифторметилу;

або її фармацевтично прийнятні солі.

3. Сполука за п. 2 формули (Ic):



25 де:

R<sub>3</sub> вибирають з водню та галогену;

R<sub>4</sub> вибирають з -SF<sub>5</sub> та -Y<sub>2</sub>-CF<sub>2</sub>-Y<sub>3</sub>;

R<sub>6</sub>, коли зв'язаний з азотом піразолільного кільця, вибирають з водню, метилу, гідроксietилу, фторетилу, етилу та циклопропілу; та R<sub>6</sub>, коли зв'язаний з атомом вуглецю піразолільного кільця, вибирають з водню, гідроксигрупи, метилу, метоксигрупи, ціаногрупи, трифторметилу, гідроксиметилу, галогену, аміногрупи, фторетилу, етилу та циклопропілу;

30 R<sub>7</sub> вибирають з гідроксигрупи, метилу, галогену, метоксигрупи, гідроксиметилу, аміногрупи, метиламіногрупи, амінометилу, трифторметилу, 2-гідроксипропан-2-ілу, метилкарбоніламіногрупи, диметиламіногрупи, 2-аміно-3-метилбутаноїлоксигрупи, карбоксигрупи, метоксикарбонілу, фосфонооксигрупи, ціаногрупи та амінокарбонілу;

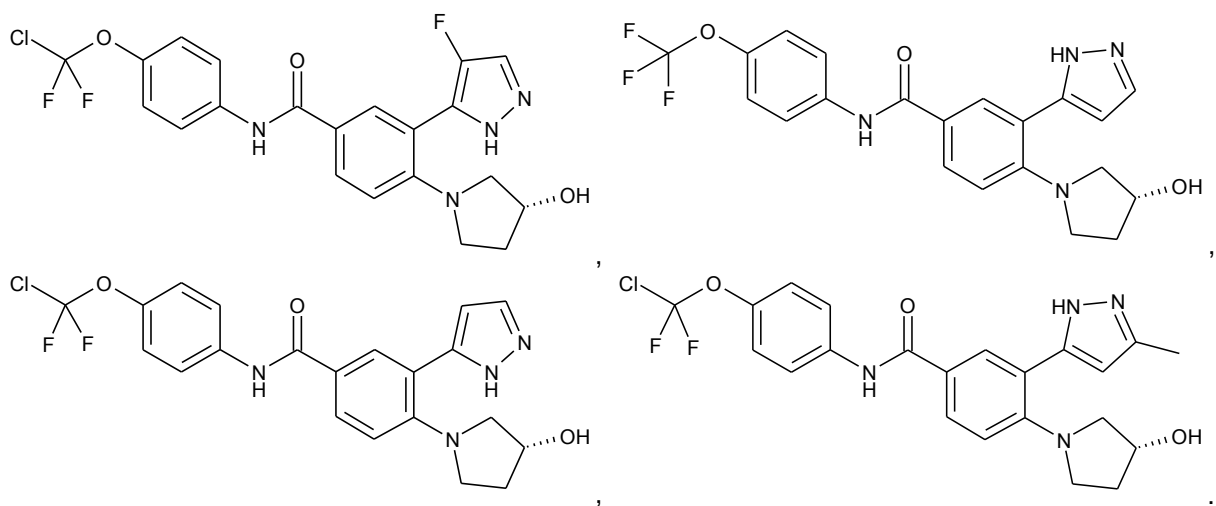
Y<sub>1</sub> вибирають з CH та N;

Y<sub>2</sub> вибирають з CF<sub>2</sub>, O та S(O)<sub>0-2</sub>;

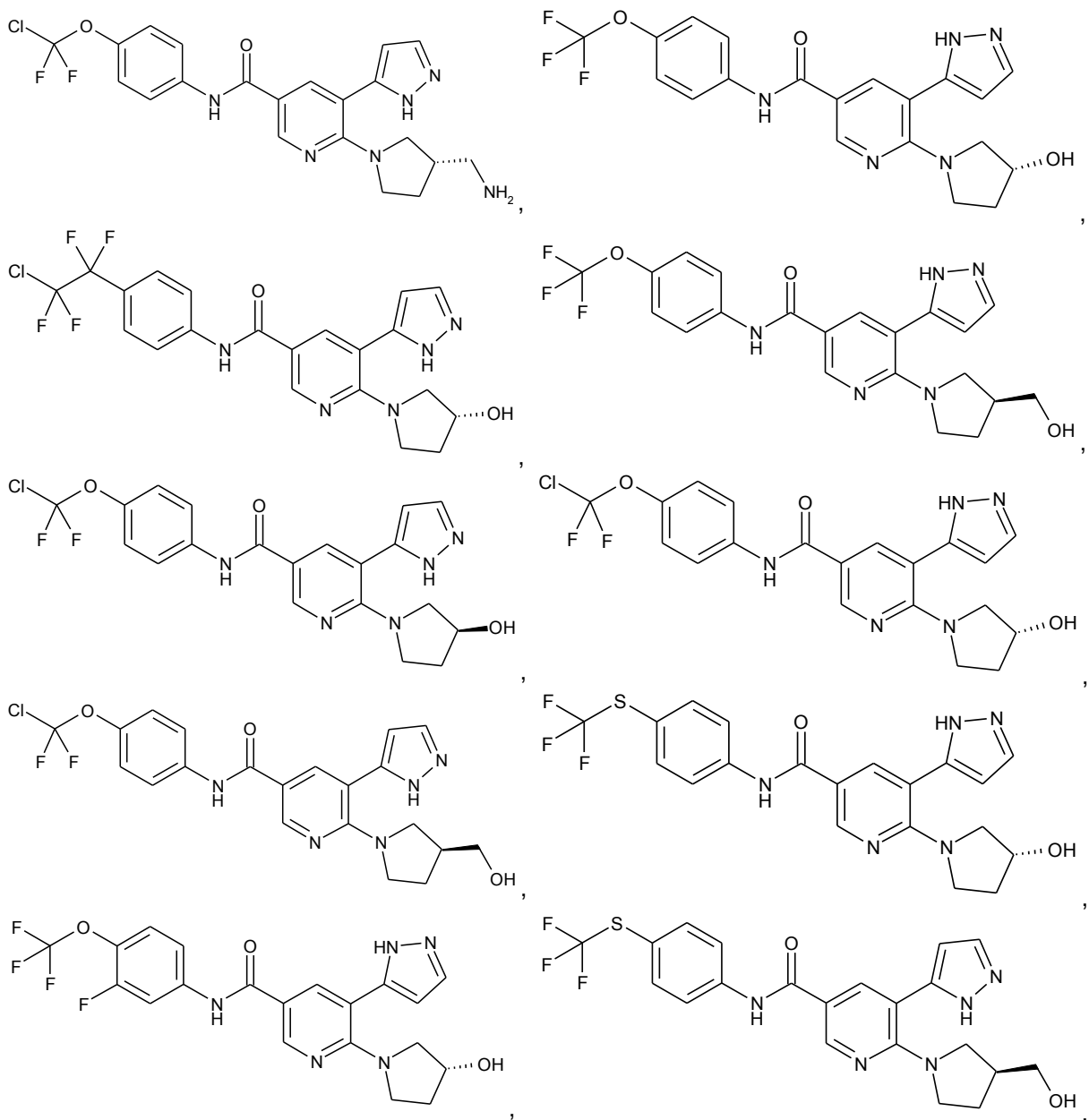
Y<sub>3</sub> вибирають з водню, фтору, хлору, метилу, дифторметилу та трифторметилу;

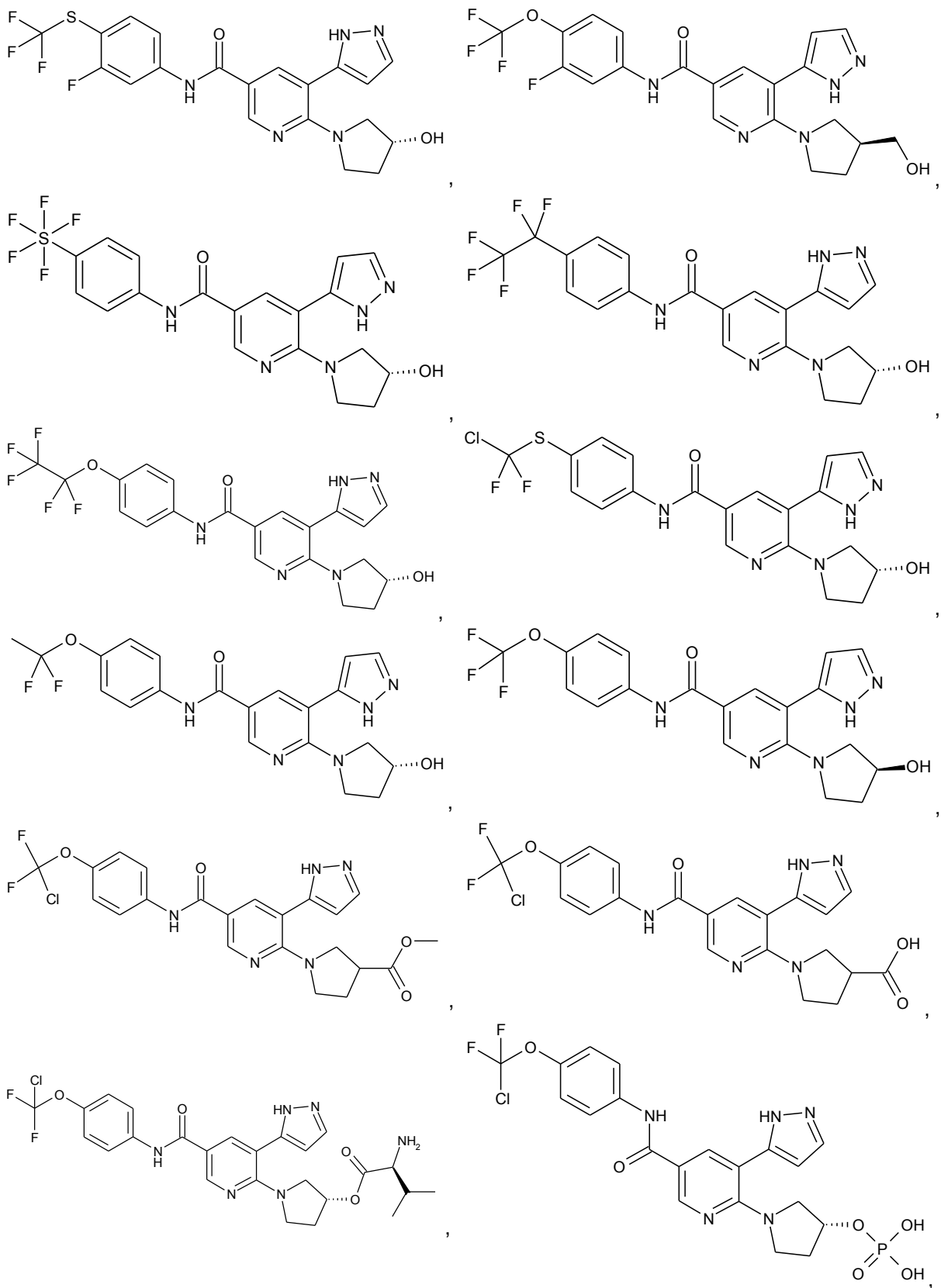
або її фармацевтично прийнятні солі.

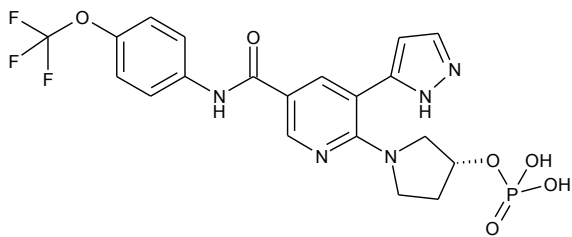
40 4. Сполука за п. 3 або її фармацевтично прийнятна сіль, вибрана з:



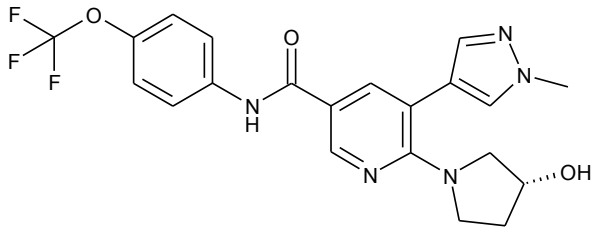
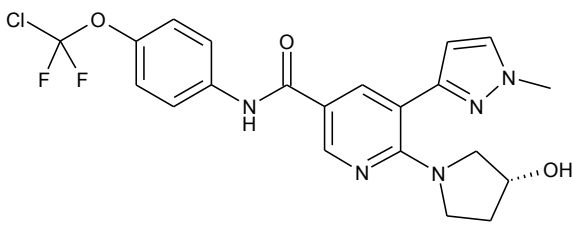
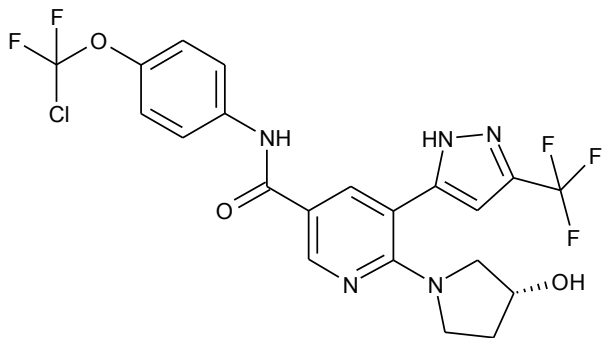
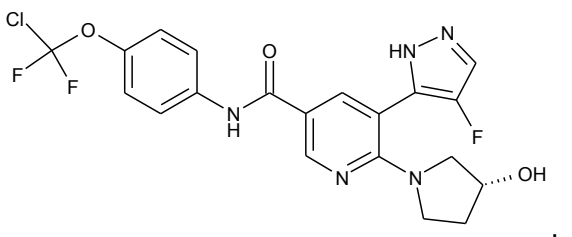
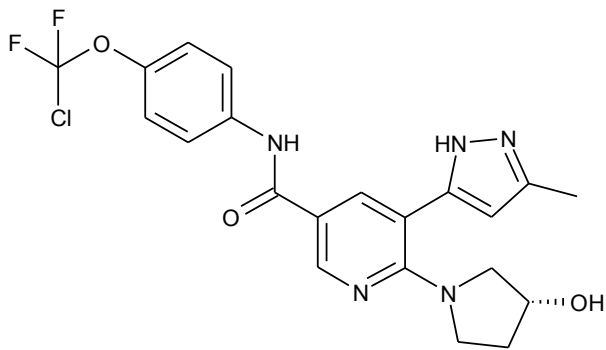
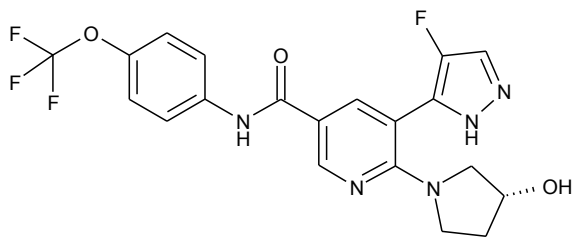
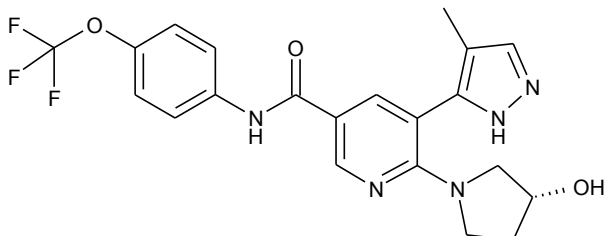
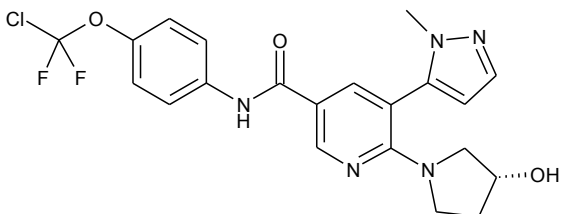
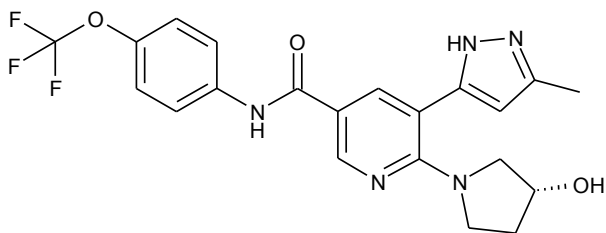
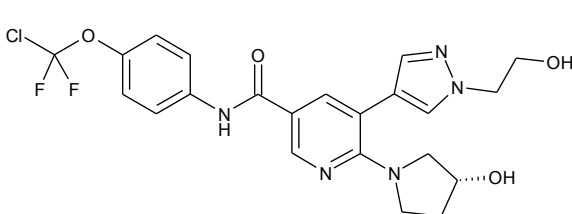
5. Сполука за п. 3 або її фармацевтично прийнятна сіль, вибрана з:

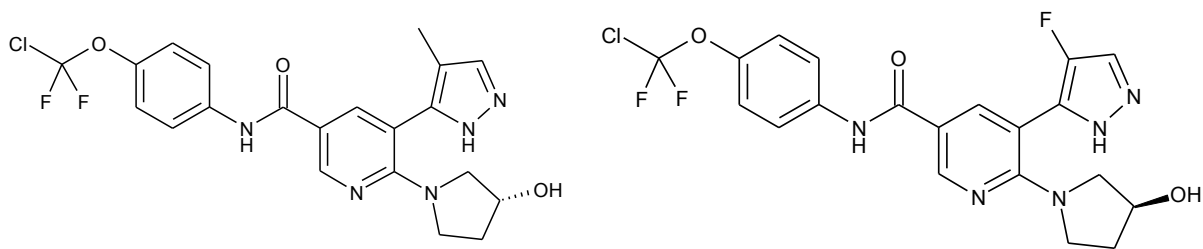




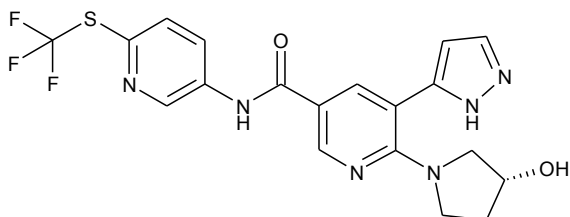


6. Сполука за п. 3 або її фармацевтично прийнятна сіль, вибрана з:

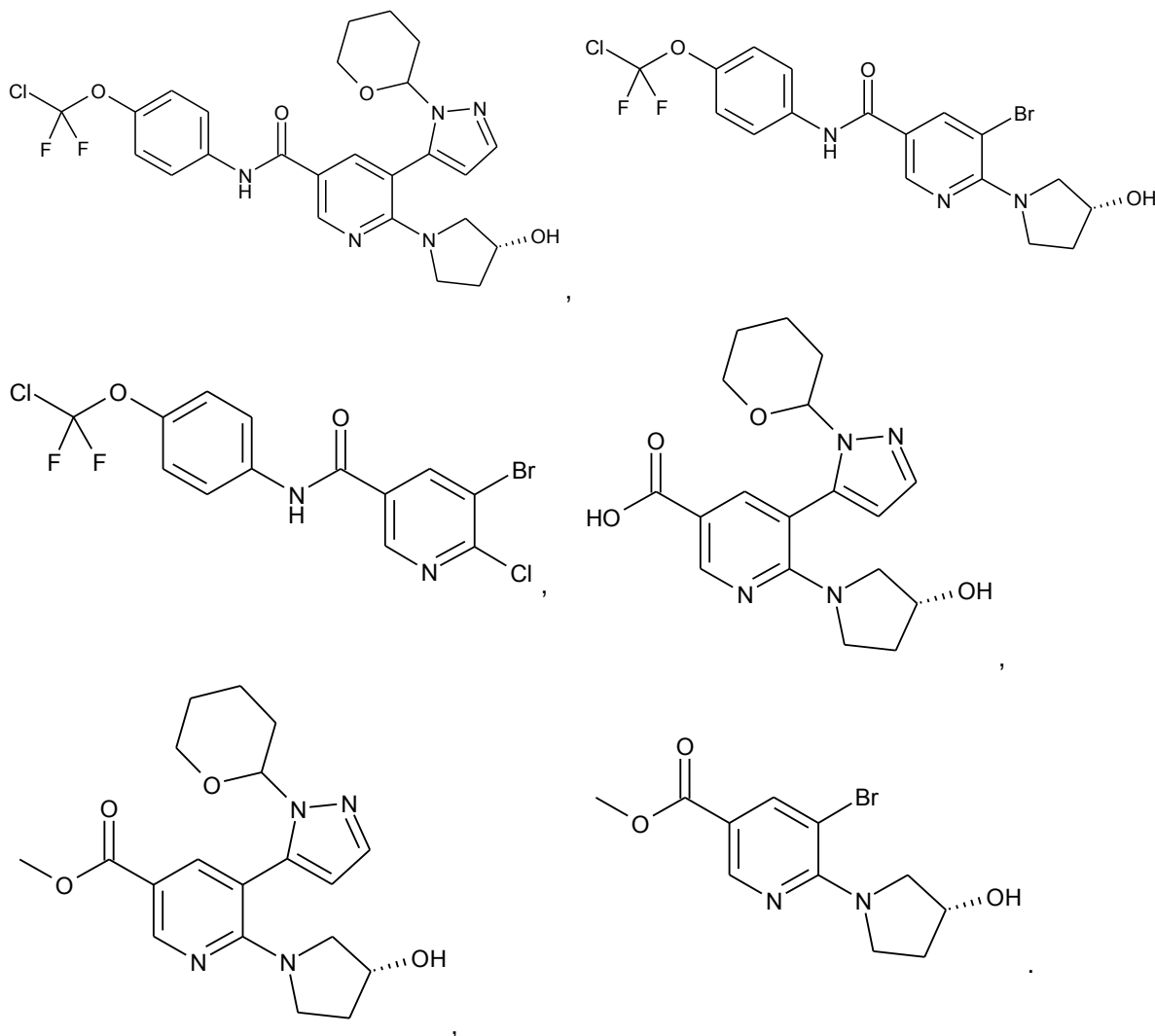




7. Сполука за п. 1 або її фармацевтично прийнятна сіль, яка являє собою:



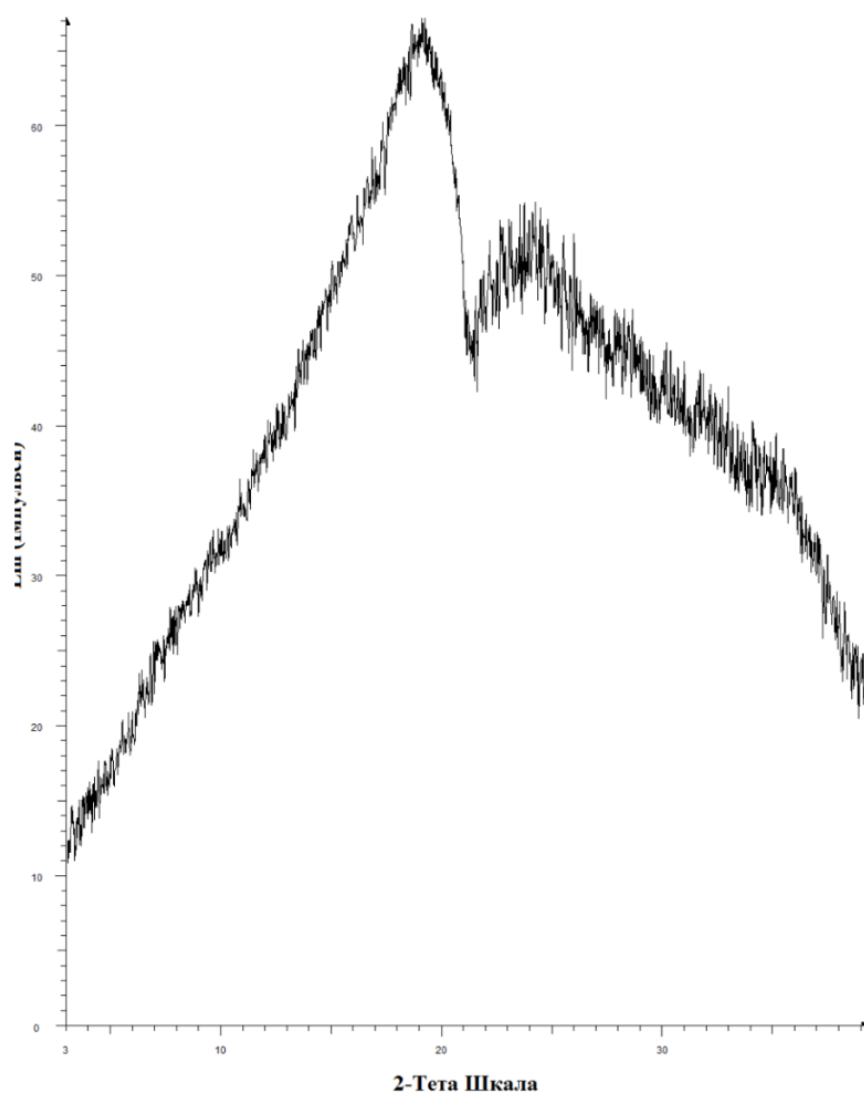
5 8. Сполука, вибрана з:



9. Сполука за п. 1, яка являє собою (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід або його фармацевтично прийнятну сіль.

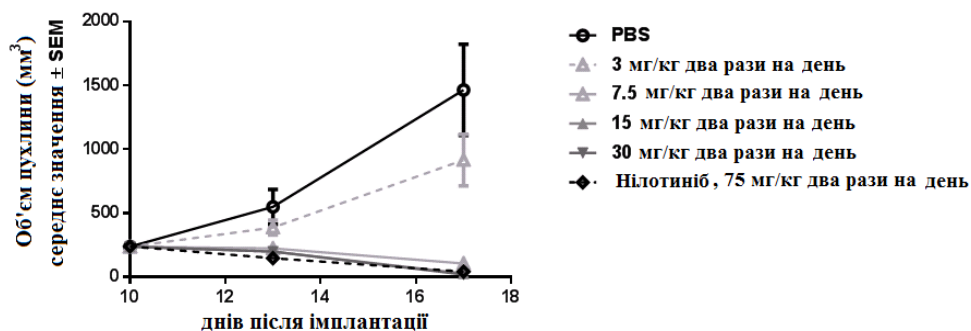
10. Фармацевтична композиція, що містить аморфну дисперсію (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід та 1-2 ексципієнти, вибрані з PVP VA64 та Pharmacoat 603.
- 5 11. Композиція за п. 10, де відсотковий вміст Pharmacoat 603 знаходиться у діапазоні від 30 до 45 %, відсотковий вміст PVP VA64 знаходиться у діапазоні від 30 до 45 %, та відсотковий вміст (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід знаходиться у діапазоні від 20 до 30 %.
- 10 12. Композиція за п. 11, де відсотковий вміст Pharmacoat 603 становить 37,5 %, відсотковий вміст PVP VA64 становить 37,5 %, та відсотковий вміст (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід становить 25 %.
- 15 13. Спосіб лікування пацієнта, що має лейкоз, вибраний з хронічного мієлоїдного лейкозу (CML) та гострого лімфобластного лейкозу (ALL), що включає введення зазначеному пацієнту терапевтично ефективної кількості (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід або його фармацевтично прийнятної солі та необов'язково послідовне або одночасне введення терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з іматинібу, нілотинібу, дазатинібу, босутинібу, понатинібу та бафетинібу.
- 20 14. Спосіб за п. 13, що включає введення зазначеному пацієнту терапевтично ефективної кількості (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід або його фармацевтично прийнятної солі.
- 25 15. Спосіб за п. 13, що включає послідовне введення терапевтично ефективної кількості сполуки (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід або його фармацевтично прийнятної солі та послідовне введення терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з іматинібу, нілотинібу, дазатинібу, босутинібу, понатинібу та бафетинібу.
- 30 16. Спосіб за п. 13, що включає введення зазначеному пацієнту терапевтично ефективної кількості (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід або його фармацевтично прийнятної солі та одночасне введення терапевтично ефективної кількості сполуки, вибраної з іматинібу, нілотинібу, дазатинібу, босутинібу, понатинібу та бафетинібу.
- 35 17. Спосіб за п. 16, де (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід вводять при дозі у межах 90-130 мг/кг.
18. Спосіб за п. 17, де нілотиніб вводять у дозі 10-50 мг/кг.
19. Спосіб за п. 18, де іматиніб вводять у дозі 50-200 мг/кг.
20. Застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі за будь-яким з пп. 1-9 для лікування раку.
- 40 21. Застосування за п. 20, де рак являє собою лейкоз, вибраний з хронічного мієлоїдного лейкозу та гострого лімфобластного лейкозу.
22. Застосування за п. 20 або 21 разом з додатковою сполукою, вибраною з іматинібу, нілотинібу, дазатинібу, босутинібу, понатинібу та бафетинібу.
- 45 23. Застосування за п. 22 для послідовного або одночасного введення із зазначеною додатковою сполукою, де зазначена додаткова сполука являє собою нілотиніб.
24. Застосування за будь-яким з пп. 20-23, де сполука являє собою (R)-N-(4-(хлордифторметокси)феніл)-6-(3-гідроксипіролідін-1-іл)-5-(1H-піразол-5-іл)нікотинамід або його фармацевтично прийнятну сіль.
25. Застосування сполуки формули (I) або її фармацевтично прийнятної солі у одержанні лікарського засобу для лікування раку.
26. Застосування за п. 25, де рак являє собою лейкоз, вибраний з хронічного мієлоїдного лейкозу та гострого лімфобластного лейкозу.





Фіг. 1

XRPD дані для Прикладу 9 амфорна тверда дисперсія



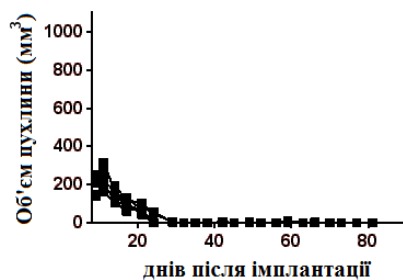
Фіг. 2

Тварини з підшкірними KCL-22 ксенотрансплантами отримували щоденне лікування сполукою Прикладу 9. Продемонстрована дозозалежна протипухлинна активність.



Фіг. 3

KCL-22 клітини вирощували як підшкірні ксенотрансплантати, та чотири тварини отримували дозу 75 мг/кг Нілотинібу BID (два рази на день). Коли у пухлин розвивалась резистентність до лікування Нілотинібом, дозування змінювали до 30 мг/кг сполуки прикладу 9 два рази на день. Лікування нілотиніб-резистентних пухлин сполукою прикладу 9 привело до регресії пухлин. Кожна лінія представляє окрему тварину.



Фіг. 4

Тваринам з підшкірними KCL-22 ксенотрансплантатами вводили дозу у комбінації 30 мг/кг сполуки прикладу 9 два рази на день та 75 мг/кг Нілотинібу два рази на день. Кожна лінія представляє окрему тварину. Повну регресію пухлини спостерігали у всіх тварин та підтримували до кінця дослідження

---

Комп'ютерна верстка Т. Вахричева

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601