

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **018573**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2013.09.30

(51) Int. Cl. *A01N 43/90* (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)

(21) Номер заявки
200900351

(22) Дата подачи заявки
2006.12.28

(54) **ИНГИБИТОРЫ ТИРОЗИНКИНАЗЫ БРУТОНА**

(31) **60/826,720; 60/828,590**

(32) **2006.09.22; 2006.10.06**

(33) **US**

(43) **2009.10.30**

(86) **PCT/US2006/049626**

(87) **WO 2008/039218 2008.04.03**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ФАРМАСАЙКЛИКС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Хонигберг Ли, Вернер Эрик, Пан
Женгьинг (US)**

(74) Представитель:
Поликарпов А.В., Борисова Е.Н. (RU)

(56) **US-A1-20040006083
US-A1-20060079494
RU-A-95113966**

(57) В изобретении приведены описания соединений, образующих ковалентные связи с тирозинкиназой Брутона (Btk). Кроме того, описаны необратимые ингибиторы Btk, а также способы получения таких соединений. Также описаны фармацевтические композиции, содержащие такие соединения, а также способы применения ингибиторов Btk отдельно или в комбинации с другими терапевтическими агентами для лечения аутоиммунных заболеваний или состояний, гетероиммунных заболеваний или состояний, рака, включая лимфому, и воспалительных заболеваний или состояний.

B1

018573

018573

B1

Родственные заявки

Заявка на данное изобретение испрашивает приоритет согласно предварительной заявке на патент США № 60/826720 "Inhibitors of bruton's tyrosine kinase", поданной 22 сентября 2006 г., и предварительной заявке на патент США № 60/828590 "Inhibitors of bruton's tyrosine kinase", поданной 6 октября 2006 г., содержание которых включено в данное описание в полном объеме посредством ссылки.

Область техники

В настоящем изобретении описаны соединения, способы получения таких соединений, фармацевтические композиции и лекарственные средства, содержащие такие соединения, и способы применения таких соединений и композиций для ингибирования активности тирозинкиназ.

Уровень техники

Тирозинкиназа Брутона (Btk), представитель семейства нерецепторных тирозинкиназ Tec, представляет собой ключевой фермент сигнальных каскадов, экспрессирующийся во всех типах гематopoэтических клеток, кроме Т-лимфоцитов и клеток - натуральных киллеров. Btk играет важную роль в сигнальных каскадах В-клеток, связывая стимуляцию рецептора В-клеток (BCR) с последующими внутриклеточными реакциями.

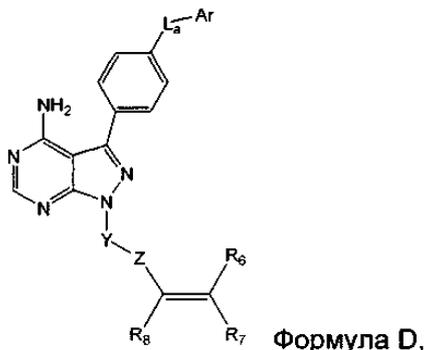
Btk является ключевым регулятором развития, активации, передачи сигналов и выживания В-клеток (Kurosaki, Curr. Op. Imm., 2000, 276-281; Schaeffer и Schwartzberg, Curr. Op. Imm. 2000, 282-288). Кроме того, Btk играет важную роль в ряде других сигнальных каскадах гематopoэтических клеток, например образование ФНО- α в макрофагах, опосредуемое toll-подобными рецепторами (TLR) и рецепторами цитокинов; сигнальный каскад IgE рецептора (Fc-эпсилон-RI) тучных клеток; ингибирование сигнала апоптоза с Fas/APO-1 у лимфоидных В-клеток и агрегация тромбоцитов, инициируемая коллагеном. См., например, С.А. Jeffries, et al. (2003), Journal of Biological Chemistry, 278:26258-26264; N.J. Horwood, et al. (2003), The Journal of Experimental Medicine, 197:1603-1611; Iwaki et al. (2005), Journal of Biological Chemistry, 280(48):40261-40270; Vassilev et al. (1999), Journal of Biological Chemistry, 274(3):1646-1656 and Quek et al. (1998), Current Biology, 8(20):1137-1140.

Краткое изложение сущности изобретения

В настоящем изобретении описаны ингибиторы тирозинкиназы Брутона (Btk). Также описаны необратимые ингибиторы Btk. Кроме того, описаны необратимые ингибиторы Btk, которые образуют ковалентные связи с цистеиновым остатком на Btk. Кроме того, описаны необратимые ингибиторы других тирозинкиназ, а именно тирозинкиназ, гомологичных Btk по наличию остатка цистеина (в том числе Cys 481), который способен образовывать ковалентную связь с этими необратимыми ингибиторами (такие тирозинкиназы в настоящем описании обозначаются как "цистеиновые гомологи Btk тирозинкиназы"). Также описаны способы синтеза таких необратимых ингибиторов, способы использования таких необратимых ингибиторов для лечения заболеваний (в том числе заболеваний, в которых необратимое ингибирование Btk приносит терапевтическую пользу пациенту, страдающему таким заболеванием). Кроме того, описаны фармацевтические композиции, содержащие необратимые ингибиторы Btk.

Описанные в настоящем патенте соединения включают соединения, имеющие структуру, соответствующую формуле D, и их фармацевтически приемлемые соли. Некоторые варианты осуществления также обеспечивают химически защищенные формы соединений, имеющих структуру, соответствующую формуле D.

Согласно одному из аспектов в настоящем изобретении предложено соединение формулы D, имеющее структуру



где La представляет собой O;

Ar представляет собой фенил;

Y представляет собой незамещенный пиперидинил, незамещенный пирролидинил или незамещенный циклогексил;

Z представляет собой C(=O), NHC(=O) или S(=O)₂;

R₇ и R₈ представляют собой H или вместе образуют связь;

R₆ представляет собой H,

или его фармацевтически приемлемая соль.

Предпочтительными являются соединения по изобретению, в которых Y представляет собой циклогексил.

Также предпочтительными являются соединения по изобретению, в которых Y представляет собой пиперидиновое кольцо или пирролидиновое кольцо.

Наиболее предпочтительным является соединение согласно изобретению, выбранное из

1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ин-1-она;

1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-она;

1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)сульфонилэтена;

N-((1s,4s)-4-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)циклогексил)акриламида;

1-((R)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-она;

1-((S)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-она;

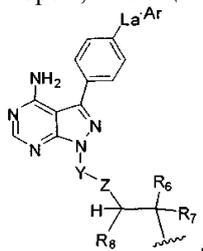
1-((R)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-она;

1-((S)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-она и

1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-она.

Согласно изобретению также предложена фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по изобретению, как оно определено выше, представляющего собой ингибитор тирозинкиназы Брутона, и фармацевтически приемлемый эксципиент.

Еще один аспект настоящего изобретения составляет ингибированная тирозинкиназа, включающая тирозинкиназу Брутона, связанную с ингибитором, имеющим структуру



где L_a представляет собой O;

Ar представляет собой фенил;

Y представляет собой незамещенный пиперидинил, незамещенный пирролидинил или незамещенный циклогексил;

Z представляет собой $C(=O)$, $NHC(=O)$ или $S(=O)_2$;

R_7 и R_8 представляют собой H или

R_7 и R_8 вместе образуют связь;

R_6 представляет собой H и

~~~~~ указывает точку соединения между ингибитором и тирозинкиназой.

В одном воплощении ингибированная тирозинкиназа отличается тем, что ингибитор ковалентно связан с цистеиновым остатком на тирозинкиназе.

Еще один аспект изобретения составляет композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по изобретению, как оно определено выше, образующего ковалентную связь с цистеиновой боковой цепью тирозинкиназы Брутона, для использования в лечении рака.

В предпочтительном воплощении композиция отличается тем, что в соединении формулы D

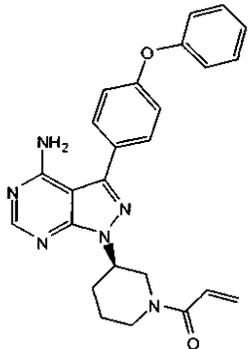
Y представляет собой незамещенный пиперидинил или незамещенный пирролидинил;

Z представляет собой  $C(=O)$ ,  $NHC(=O)$  или  $S(=O)_2$ ;

$R_7$  и  $R_8$  представляют собой H или вместе образуют связь;

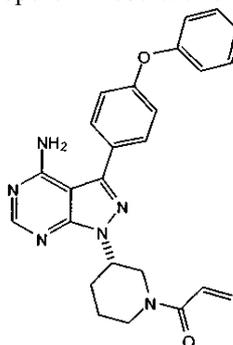
$R_6$  представляет собой H.

Предпочтительный аспект изобретения составляет соединение, имеющее структуру



или его фармацевтически приемлемая соль.

Также предпочтительный аспект изобретения составляет соединение, имеющее структуру



или его фармацевтически приемлемая соль.

Еще один аспект изобретения составляет фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество вышеуказанного соединения, представляющего собой ингибитор тирозинкиназы Брутона, и фармацевтически приемлемый эксципиент.

Еще один аспект изобретения составляет фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество вышеуказанного соединения, для использования в лечении рака.

Согласно еще одному аспекту изобретения предложено применение вышеуказанного соединения в изготовлении лекарственного средства для лечения В-клеточного пролиферативного нарушения.

Предпочтительно указанное В-клеточное пролиферативное нарушение выбрано из лимфомы, миеломы или лейкемии.

### Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение предусматривает все возможные комбинации описанных выше групп в различных вариантах. Следует заметить, что заместители и принципы, по которым осуществлены замещения в представленных в настоящем описании соединениях, средний специалист в данной области сможет выбрать таким образом, чтобы выбранные соединения являлись химически стабильными и могли быть синтезированы способами, известными из уровня техники, а также описанными ниже способами.

Настоящее изобретение обеспечивает фармацевтические композиции, составленные для введения приемлемыми способами и средствами, содержащие эффективные концентрации одного или более представленных в настоящем описании соединений, которые обеспечивают доставку указанных соединений в количестве, эффективном для лечения, предотвращения или снижения выраженности одного или более симптомов заболеваний, расстройств или состояний, которые регулируются или прямо зависят от активности тирозинкиназы или которые связаны с активностью тирозинкиназы. Представлены эффективные количества и концентрации, которые эффективны для уменьшения интенсивности симптомов заболеваний, расстройств и состояний.

В некоторых воплощениях настоящее изобретение обеспечивает фармацевтические композиции, содержащие:

- 1) физиологически приемлемый носитель, разбавитель и/или эксципиент;
- 2) одно или более представленных в настоящем описании соединений.

Согласно одному из аспектов в настоящем изобретении раскрыты способы лечения пациента путем введения соединений согласно настоящему изобретению. В некоторых аспектах настоящего изобретения раскрыт способ ингибирования активности тирозинкиназ(ы), такой как Btk, или способ лечения заболеваний, расстройств или состояний, при которых ингибирование тирозинкиназ(ы), такой как Btk, может принести пользу пациенту, который включает в себя введение пациенту терапевтически эффективного количества по меньшей мере одного из представленных в настоящем описании соединений или фармацевтически приемлемых солей.

Согласно другому аспекту в настоящем изобретении раскрыто применение соединений согласно настоящему изобретению для ингибирования активности тирозинкиназы Брутона (Btk) или для лечения заболеваний, расстройств или состояний, при которых ингибирование тирозинкиназы Брутона (Btk) может принести пользу.

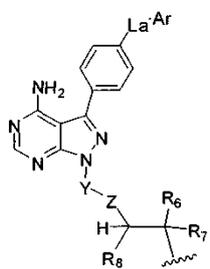
В некоторых воплощениях соединения согласно настоящему изобретению используют для введения людям.

В некоторых воплощениях соединения согласно настоящему изобретению вводят перорально.

В других воплощениях соединения согласно настоящему изобретению используют для получения лекарственных средств для ингибирования активности тирозинкиназ. В некоторых других воплощениях соединения согласно настоящему изобретению используют для изготовления лекарственных средств для ингибирования активности тирозинкиназы Брутона (Btk).

Настоящее изобретение обеспечивает продукты, содержащие упаковочный материал, соединения или композиции таких соединений, находящиеся в упаковочном материале, которые эффективно ингибируют активность тирозинкиназ(ы), такой как Btk, и этикетку, указывающую на то, что соединение или композиция или их фармацевтически приемлемая соль используются для ингибирования активности тирозинкиназ(ы), такой как Btk.

Согласно другому аспекту ингибируют тирозинкиназы, включающие тирозинкиназу Брутона, гомологи тирозинкиназы Брутона или цистеиновые гомологи тирозинкиназы Btk, ковалентно связанные с ингибитором, имеющим структуру



где  обозначает точку соединения между ингибитором и тирозинкиназой.

В частном воплощении ингибитор ковалентно связывается с цистеиновым остатком тирозинкиназы.

В следующих аспектах настоящего изобретения раскрыт способ ингибирования тирозинкиназы Брутона у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту композиции, содержащей терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения, соответствующего формуле D. В некоторых воплощениях субъект, нуждающийся в лечении, страдает от аутоиммунного заболевания, такого как, например, воспалительная болезнь кишечника, артрит, волчанка, ревматоидный артрит, псориаз, псориатический артрит, остеоартрит, болезнь Стилла-Шоффара, юношеский артрит, диабет, злокачественная миастения, тиреозит Хашимото, тиреозит Орда, базедова болезнь, синдром Шегрена (Сьергена), рассеянный склероз, синдром Гийена-Барре, острый рассеянный энцефаломиелит, болезнь Аддисона, синдром опсоклонуса-миоклонуса, анкилозный спондилит, антифосфолипидный синдром, апластическая анемия, аутоиммунный гепатит, целиакия, синдром Гудпасчера, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, ретробульбарный неврит, склеродермия, первичный желчный цирроз, синдром Рейтера, синдром Такаюсу, темпоральный артериит, аутоиммунная гемолитическая анемия, гранулематоз Вегенера, псориаз, универсальная алопеция, болезнь Бехчета, хроническая усталость, вегетативная дистония, эндометриоз, интерстициальный цистит, нейромиотония, склеродермия или вульводиния.

В других воплощениях субъект, нуждающийся в лечении, страдает от гетероиммунного заболевания или состояния, такого как, например, реакции трансплантат против хозяина, трансплантация, трансфузия, анафилаксия, аллергия, гиперчувствительность I типа, аллергический конъюнктивит, аллергический ринит или атипичный дерматит.

В других воплощениях субъект, нуждающийся в лечении, страдает от воспалительного заболевания, такого как, например, астма, аппендицит, блефарит, бронхолит, бронхит, бурсит, цервицит, холангит, холецистит, колит, конъюнктивит, цистит, дакриoadенит, дерматит, дерматомиозит, энцефалит, эндокардит, эндометрит, энтерит, энтероколит, эпикондилит, эпидидимит, фасцит, фиброзит, гастрит, гастроэнтерит, гепатит, гнойный гидраденит, ларингит, мастит, менингит, миелит, миокардит, миозит, нефрит, оффорит, орхит, остит, отит, панкреатит, паротит, перикардит, перитонит, фарингит, плеврит, флегбит, пневмонит, пневмония, проктит, простатит, пиелонефрит, ринит, сальпингит, синусит, стоматит, синовит, тендинит, тонзиллит, увеит, вагинит, васкулит или вульвит.

В других воплощениях субъект, нуждающийся в лечении, страдает от рака. В одном из вариантов реализации рак представляет собой нарушение пролиферации В-клеток, такое как, например, диффузная В-крупноклеточная лимфома, фолликулярная лимфома, хроническая лимфоцитарная лимфома, хроническая лимфоцитарная лейкемия, В-клеточная пролимфоцитарная лейкемия, лимфоплазмоцитарная лимфома (макроглобулинемия Вальденстрема), лимфома маргинальной зоны селезенки, множественная миелома, плазмоцитома, экстранодальная В-клеточная лимфома маргинальной зоны, нодальная

В-клеточная лимфома маргинальной зоны, лимфома из клеток мантийной зоны, медиастинальная (тимическая) В-крупноклеточная лимфома, интраваскулярная В-крупноклеточная лимфома, лимфома с первичным поражением серозных оболочек, лимфома/лейкемия Беркитта или лимфоматозный гранулематоз. В некоторых воплощениях противораковый агент представляет собой ингибитор сигнального каскада митоген-активируемой протеинкиназы, такой как, например, U0126, PD98059, PD184352, PD0325901, ARRY-142886, SB239063, SP600125, BAY 43-9006, вортманин или LY294002.

В других воплощениях субъект, нуждающийся в лечении, страдает от тромбозмимических расстройств, таких как, например, инфаркт миокарда, стенокардия, реокклюзия после ангиопластики, рестеноз после ангиопластики, реокклюзия после аортокоронарного шунтирования, рестеноз после аортокоронарного шунтирования, инсульт, транзиторная ишемия, закупорки периферических артерий, эмболия легочной артерии или закупорка глубоких вен.

В других аспектах настоящего изобретения раскрыт способ лечения аутоиммунных заболеваний путем введения пациенту, нуждающемуся в лечении, композиции, содержащей терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения, соответствующего формуле D. В одном из воплощений аутоиммунное заболевание представляет собой артрит. В другом воплощении аутоиммунное заболевание представляет собой волчанку. В некоторых воплощениях аутоиммунное заболевание представляет собой воспалительную болезнь кишечника (в том числе болезнь Крона и язвенный колит), ревматоидный артрит, псориаз, псориатический артрит, остеоартрит, болезнь Стилла-Шоффара, юношеский артрит, волчанку, диабет, злокачественную миастению, тиреоидит Хашимото, тиреоидит Орда, базедову болезнь, синдром Шегрена, рассеянный склероз, синдром Гийена-Барре, острый рассеянный энцефаломиелит, болезнь Аддисона, опсоклонус-миоклонус синдром, анкилозный спондилит, антифосфолипидный синдром, апластическую анемию, аутоиммунный гепатит, целиакию, синдром Гудпасчера, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, ретробульбарный неврит, склеродермию, первичный желчный цирроз, синдром Рейтера, синдром Такаюсу, темпоральный артериит, аутоиммунную гемолитическую анемию, гранулематоз Вегенера, псориаз, универсальную алопецию, болезнь Бехчета, хроническую усталость, вегетативную дистонию, эндометриоз, интерстициальный цистит, нейромиотонию, склеродермию или вульводинию.

В других аспектах настоящего изобретения раскрыт способ лечения гетероиммунных заболеваний и состояний путем введения пациенту, нуждающемуся в лечении, композиции, содержащей терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения, соответствующего формуле D. В некоторых воплощениях гетероиммунное состояние и заболевание представляют собой реакции трансплантат против хозяина, трансплантацию, трансфузию, анафилаксию, аллергию, гиперчувствительность I типа, аллергический конъюнктивит, аллергический ринит или атипичный дерматит.

В других аспектах настоящего изобретения раскрыт способ лечения воспалительных заболеваний путем введения пациенту, нуждающемуся в лечении, композиции, содержащей терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения, соответствующего формуле D. В некоторых воплощениях воспалительное заболевание представляет собой астму, воспалительную болезнь кишечника (в том числе болезнь Крона и язвенный колит), аппендицит, блефарит, бронхолит, бронхит, бурсит, цервицит, холангит, холецистит, колит, конъюнктивит, цистит, дакриoadенит, дерматит, дерматомиозит, энцефалит, эндокардит, эндометрит, энтерит, энтероколит, эпикондилит, эпидидимит, фасцит, фиброзит, гастрит, гастроэнтерит, гепатит, гнойный гидраденит, ларингит, мастит, менингит, миелит, миокардит, миозит, нефрит, оффорит, орхит, остит, отит, панкреатит, паротит, перикардит, перитонит, фарингит, плеврит, флебит, пневмонит, пневмония, проктит, простатит, пиелонефрит, ринит, сальпингит, синусит, стоматит, синовит, тендинит, тонзиллит, увеит, вагинит, васкулит или вульвит.

Согласно другим аспектам в настоящем изобретении раскрыт способ лечения рака путем введения пациенту, нуждающемуся в лечении, композиции, содержащей терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного соединения, соответствующего формуле D. В некоторых воплощениях рак представляет собой заболевание, связанное с пролиферацией В-клеток, например диффузную В-крупноклеточную лимфому, фолликулярную лимфому, хроническую лимфоцитарную лимфому, хроническую лимфоцитарную лейкемию, В-клеточную пролимфоцитарную лейкемию, лимфоплазмоцитарную лимфому (макроглобулинемию Вальденстрема), лимфому маргинальной зоны селезенки, множественную миелому, плазмоцитому, экстранодальную В-клеточную лимфому маргинальной зоны, нодальную В-клеточную лимфому маргинальной зоны, лимфому из клеток мантийной зоны, медиастинальную (тимическую) В-крупноклеточную лимфому, интраваскулярную В-крупноклеточную лимфому, лимфому с первичным поражением серозных оболочек, лимфому/лейкемию Беркитта или лимфоматозный гранулематоз. В некоторых воплощениях, если пациент страдает от рака, пациенту совместно с вышеупомянутыми соединениями вводят противораковый агент. В некоторых воплощениях противораковый агент представляет собой ингибитор сигнального каскада митоген-активируемой протеинкиназы, такие как, например, U0126, PD98059, PD184352, PD0325901, ARRY-142886, SB239063, SP600125, BAY 43-9006, вортманин или LY294002.

Согласно другим аспектам в настоящем изобретении раскрыт способ лечения тромбозмимических расстройств путем введения пациенту, нуждающемуся в лечении, композиции, содержащей терапевтиче-



го соединения формулы D. В одном из воплощений данного аспекта респираторное заболевание представляет собой астму. В другом воплощении данного аспекта респираторные заболевания включают, но не ограничиваются перечисленными, синдром расстройств дыхания (дистресс-синдром) у взрослых и аллергическую (приобретенную) астму, неаллергическую (наследственную) астму, астматическое состояние, хроническую астму, клиническую астму, ночную астму, астму, вызванную аллергией, астму, вызванную чувствительностью к аспирину, астму, вызванную физическими нагрузками, гипервентиляции с изокапнией, астму, проявляющуюся в детстве, астму, проявляющуюся у взрослых, вариант астмы, сопровождающейся кашлем, профессиональную астму, астму с устойчивостью к стероидам, сезонную астму.

Другой аспект изобретения касается способов предотвращения ревматоидного артрита и остеоартрита, включающие введение млекопитающему по меньшей мере один раз эффективного количества по меньшей мере одного соединения формулы D.

Другой аспект изобретения касается способов лечения воспалительных реакций кожи, включающие в себя введение млекопитающему по меньшей мере один раз эффективного количества по меньшей мере одного соединения формулы D. К примерам таких воспалительных реакций кожи относятся дерматит, контактный дерматит, экзема, крапивница, розовые угри, розацеа, образование рубцов. Другой аспект изобретения составляют способы уменьшения псориазических поражений кожи, суставов или других тканей и органов, включающие введение млекопитающему эффективного количества первого соединения формулы D.

Другой аспект изобретения касается применения соединения формулы D в изготовлении лекарственного средства для лечения воспалительных заболеваний или состояний у животных, при которых активность Vtk или другой тирозинкиназы, а именно тирозинкиназы, гомологичной Vtk по присутствию остатка цистеина (в том числе Cys 481), который способен образовывать ковалентную связь по меньшей мере с одним необратимым ингибитором, описанным в настоящем изобретении, влияет на патологию и/или симптомы данных заболеваний или состояний. В одном из воплощений данного аспекта белок тирозинкиназы представляет собой Vtk. В другом воплощении данного аспекта воспалительное заболевание или состояние представляет собой респираторное, сердечно-сосудистое или пролиферативное заболевание.

В любом из вышеупомянутых аспектов предусмотрены другие воплощения, в которых введение лекарственного средства осуществляют энтеральным, парентеральным или обоими способами и эффективное количество соединения вводят млекопитающему (а) системно; (б) перорально; (в) внутривенно; (г) путем ингаляции; (д) назальным путем; (е) путем инъекции; (ж) местно (через кожу); (з) путем введения в глаз или (и) ректально.

В любом из вышеупомянутых аспектов предусмотрены другие воплощения, включающие однократное введение эффективного количества соединения, а также варианты реализации, в которых соединение вводят млекопитающему (1) один раз; (2) многократно в течение дня; (3) непрерывно или (4) постоянно.

В любом из вышеупомянутых аспектов предусмотрены другие воплощения, включающие многократное введение эффективного количества соединения, а также воплощения, в которых (1) соединение вводят одной дозой; (2) время между введениями составляет 6 ч; (3) соединение вводят млекопитающему каждые 8 ч. В других или альтернативных воплощениях способ включает перерывы в приеме лекарств, во время которых введение соединения временно приостанавливают или дозу вводимого соединения временно уменьшают; по завершении данного периода дозировку соединения возвращают до прежнего уровня. Длина перерыва в приеме лекарств может варьировать от 2 дней до 1 года.

В любом из вышеупомянутых аспектов, касающихся лечения пролиферативных заболеваний, в том числе рака, предусмотрены другие варианты реализации, включающие введение по меньшей мере одного дополнительного агента, выбранного из группы, включающей алемтузумаб, трехокись мышьяка, аспарагиназу (пегилированную или непегилированную), бевацизумаб, цетуксимаб, соединения на основе платины, такие как цисплатин, кладрибин, данорубицин/доксорубицин/идарубицин, иринотекан, флударабин, 5-фторурацил, гемтузумаб, метотрексат, паклитаксел (Paclitaxel™), таксол, тернозоламид, тиогуанин, или типы лекарств, к которым относятся гормоны (антиэстроген, антиандроген) или аналоги гонадотропин-высвобождающего гормона, интерфероны, такие как альфа-интерферон, азотистые иприты, такие как бусульфан, или мелфалан, или мехлоретамин, ретиноиды, такие как третиноин, ингибиторы топоизомераз, такие как иринотекан или топотекан, ингибиторы тирозинкиназ, такие как gefitinib или иматиниб, или агенты для лечения признаков и симптомов, возникающих при таком лечении, в том числе аллопуринол, филграстим, гранисетрон/одансетрон/палонсетрон, дронабинол.

Во всех вышеупомянутых аспектах, касающихся предотвращения или лечения Vtk-зависимых или опосредуемых тирозинкиназой состояний и заболеваний, предусмотрены другие варианты реализации, включающие выявление пациентов путем проведения скрининга на определение гаплотипа тирозинкиназных генов. В частных или альтернативных воплощениях гаплотип гена тирозинкиназы представляет собой ген тирозинкиназного пути, в то время как в других или альтернативных воплощениях гаплотип гена тирозинкиназы представляет собой гаплотип Vtk.

В других или альтернативных воплощениях соединения формулы D представляет собой необратимый ингибитор тирозинкиназы Брутона (Btk), а в некоторых других или альтернативных воплощениях данный необратимый ингибитор является селективным по отношению к Btk. В частных или альтернативных воплощениях данные ингибиторы характеризуются значением  $IC_{50}$  менее 10 мкМ согласно ферментному анализу. В одном воплощении необратимый ингибитор Btk имеет значение  $IC_{50}$  менее 1 мкМ, а в другом воплощении менее 0,25 мкМ.

В других или альтернативных воплощениях соединения формулы D являются селективными необратимыми ингибиторами Btk, но не Itk. В других или альтернативных воплощениях соединения формулы D являются селективными необратимыми ингибиторами Btk, но не Lck. В других или альтернативных воплощениях соединения формулы D являются селективными необратимыми ингибиторами Btk, но не Abl. В других или альтернативных воплощениях соединения формулы D являются селективными необратимыми ингибиторами Btk, но не cMET. В других или альтернативных воплощениях соединения формулы D являются селективными необратимыми ингибиторами Btk, но не EGFR. В других или альтернативных воплощениях соединения формулы D являются селективными необратимыми ингибиторами Btk, но не Lyn.

В других или альтернативных воплощениях необратимые ингибиторы Btk также являются ингибиторами EGFR.

Другие объекты, признаки и преимущества способов и композиций, описанных в настоящем патенте, станут очевидны после подробного описания изобретения. Однако следует заметить, что подробное описание и конкретные примеры, описывающие частные варианты реализации, даны исключительно с целью иллюстрации, на основе данного подробного описания специалисты в данной области смогут определить различные изменения и модификации, соответствующие сущности и объему настоящего описания. Используемые в настоящем описании заглавия разделов даны с целью упорядочивания информации, а не с целью ограничения описываемых объектов. Все процитированные в настоящем описании документы или выдержки из документов, включая, но не ограничиваясь ими, патенты, заявки на патенты, статьи, книги, инструкции и научные работы, непосредственно включены в настоящее описание посредством ссылок во всей своей полноте для любых целей.

#### Терминология.

Если не определено иначе, все используемые в настоящем описании технические и научные термины имеют значения, общепринятые среди специалистов в областях, к которым принадлежит изобретение. В случае, если существует несколько определений, действительным считается описанный в настоящем разделе. Следует обратить внимание, что в случае, если ссылка дана в виде URL или в виде аналогичного адреса или идентификатора, очевидно, что идентификатор может меняться, а конкретная информация в Интернете может появляться и исчезать, но при этом эквивалентная информация может быть найдена путем Интернет-поиска. Ссылка на данную информацию свидетельствует о том, что она доступна и ее можно распространять.

Очевидно, что приведенное выше краткое описание и приведенное ниже подробное описание изобретения даны исключительно с иллюстративной целью и ни в коей мере не ограничивают ни один из заявленных объектов. Если не определено иное, использование в настоящем описании единственного числа также может включать множественное число. Следует заметить, что при использовании в описании и в прилагаемой формуле существительных в единственном числе может также включать множественное число, если обратное недвусмысленно не следует из контекста. Если не определено иначе, использование в настоящем описании союза "или" подразумевает "и/или". Кроме того, использование терминов "к которым относятся", "включая" и их синонимов не является ограничивающим.

Используемые в настоящем описании названия разделов даны с целью упорядочивания информации, а не с целью ограничения заявленных объектов. Все цитируемые в настоящем описании документы или выдержки из документов, включая, но не ограничиваясь ими, патенты, заявки на патенты, статьи, книги, инструкции и научные работы, непосредственно включены в настоящее описание посредством ссылок во всей своей полноте для любых целей.

Определения стандартных химических терминов можно найти в работах, ссылки на которые приведены в настоящем описании, в том числе Carey and Sundberg "Advanced organic chemistry 4<sup>th</sup> Ed.". Vols. A (2000) и B (2001), Plenum Press, New York. Если отдельно не указано иное, в работе применялись стандартные методы масс-спектрометрии, ЯМР, ВЭЖХ, химии белков, биохимии, технологий рекомбинантных ДНК и фармакологии, в соответствии с известным уровнем техники. Если не даны специальные определения, используемая номенклатура и описанные в настоящем изобретении лабораторные процедуры и методики аналитической химии, химии органического синтеза, медицинской и фармацевтической химии известны из уровня техники. Для химического синтеза, химического анализа, фармацевтического производства, составления композиций, доставки и лечения пациентов можно применять стандартные методики. К рекомбинантным ДНК, для синтеза олигонуклеотидов, к культуре ткани и для трансформации (например, электропорация, липофекция) можно применять стандартные техники. Реакции и способы очистки можно осуществлять, например, с использованием наборов согласно спецификации производителя, или как это принято в соответствующей области, или как описано в настоящем изобретении. Из-

ложенные ниже методики и процедуры можно, как правило, осуществлять с использованием распространенных методов, известных из уровня техники, а также описанных в различных источниках, как в общих, так и более частных, на которые даны ссылки и которые рассмотрены в настоящем описании.

Следует заметить, что описанные в настоящем изобретении способы и композиции не ограничены конкретными методологиями, протоколами, клеточными линиями, конструктами и реагентами, которые описаны в настоящем описании и могут варьировать. Также следует заметить, что используемая в настоящем описании терминология используется исключительно с целью описания конкретных вариантов реализации и не ограничивает объем описанных способов и композиций, которые ограничивает только прилагаемая формула изобретения.

Все упоминаемые в настоящем описании публикации и патенты включены в настоящее изобретение посредством ссылок во всей своей полноте с целью описания и раскрытия, например, конструктов или способов, описанных в данных публикациях, которые могут быть использованы вместе со способами, композициями и соединениями, описанными в настоящем документе. Рассматриваемые в настоящем описании публикации были обнародованы до даты подачи заявки на данное изобретение. Ничто в настоящем описании не может быть истолковано как признание того, что изобретатели не полномочны указать более раннюю дату подачи заявки в силу предшествующего изобретения или каких-либо других причин.

Термин "связь" или "одинарная связь" относится к химической связи между двумя атомами или двумя группировками (группами, фрагментами), если два атома, соединенные связью, рассматриваются как часть более крупной субструктуры.

Термин "фрагмент" (группировка) относится к конкретной части или функциональной группе молекулы. Химические фрагменты часто являются распознаваемыми фрагментами молекулы, в которую они входят или к которой они присоединены.

Термин "акцепторная группа Михаэля" относится к функциональной группе, которая может участвовать в реакции Михаэля, при которой образуется новая ковалентная связь между участком акцепторной группы и донорной группой Михаэля. Акцепторная группа Михаэля представляет собой электрофил, а "донорная группа" представляет собой нуклеофил.

Термин "нуклеофил" или "нуклеофильный" относится богатому электронами соединению или его фрагменту. Примеры нуклеофила включают, но никоим образом не ограничиваются этим, остаток цистеина в молекуле, такой как, например, Cys 481 Vtk.

Термин "электрофил" или "электрофильный" относится к бедной электронами или электроннедостаточной молекуле либо ее фрагменту. Примеры электрофилов включают, но никоим образом не ограничены, акцепторные группы Михаэля.

В данном описании термин "приемлемый" или "фармацевтически приемлемый" применительно к препарату, композиции или компоненту означает не оказывающий вредного воздействия на общее состояние здоровья субъекта, подвергаемого лечению, или не подавляющий биологическую активность или свойства соединения и относительно нетоксичный.

В данном описании термин "агонист" относится к соединению, присутствие которого обуславливает биологическую активность белка, схожую с биологической активностью белка, обусловленной присутствием природного лиганда белка, такого как, например, Vtk.

В данном описании термин "частичный агонист" относится к соединению, присутствие которого обуславливает биологическую активность белка того же типа, что и биологическая активность белка, обусловленная присутствием природного лиганда белка, но более низкой величины.

В данном описании термин "антагонист" относится к соединению, присутствие которого обуславливает уменьшение величины биологической активности белка. В некоторых воплощениях присутствие антагониста обуславливает полное ингибирование биологической активности белка, такого как, например, Vtk. В некоторых воплощениях антагонист является ингибитором.

В данном описании "снижение выраженности" (облегчение) симптомов конкретного заболевания, нарушения или состояния путем введения конкретного соединения или фармацевтической композиции относится к любому снижению степени тяжести, задержке возникновения, замедлению развития или уменьшению продолжительности, либо постоянному, либо временному, продолжительному или кратковременному, которое может быть результатом введения соединения или композиции или может быть связано с введением.

"Биодоступность" относится к процентной доле массы соединений, описанных в настоящем патенте, например соединений формулы D, вводимых в общий кровоток исследуемого животного или человека. Общая доза ( $AUC_{(0-\infty)}$ ) лекарственного средства при внутривенном введении обычно определяют как 100% биодоступность (F%). "Биодоступность при пероральном введении" обозначает степень, в которой соединение, описанное в настоящем изобретении, например соединение, соответствующее формуле D, всасывается в общий кровоток при пероральном применении фармацевтической композиции, по сравнению с внутривенной инъекцией.

"Концентрация в плазме крови" относится к концентрации соединения, описанного в настоящем изобретении, например соединения, соответствующего формуле D, в плазме крови субъекта. Следует

понимать, что концентрация в плазме соединений формулы D может значительно варьировать у субъектов вследствие изменчивости метаболизма и/или возможного взаимодействия с другими терапевтическими агентами. В соответствии с одним вариантом реализации, описанным в настоящем изобретении, концентрация в плазме соединения, соответствующего формуле D, может варьировать от объекта к объекту. Аналогично, такие значения, как максимальная концентрация в плазме ( $C_{max}$ ), или время, необходимое для достижения максимальной концентрации в плазме ( $T_{max}$ ), или общая площадь под кривой изменения концентрации в плазме в зависимости от времени ( $AUC_{(0-\infty)}$ ), могут варьировать от объекта к объекту. Вследствие такой изменчивости количество, необходимое для получения "терапевтически эффективного количества" соединения, соответствующего формуле D, может варьировать от объекта к объекту.

Термин "тирозинкиназа Брутона" в описании относится к тирозинкиназе Брутона Homo sapiens (человека), описанной, например, в патенте США № 6326469 (номер доступа в GenBank NP 000052).

Термин "гомолог тирозинкиназы Брутона" в описании относится к ортологам тирозинкиназы Брутона, например ортологам мыши (номер доступа в GenBank AAB 47246), собаки (номер доступа в GenBank XP 549139), крысы (номер доступа в GenBank NP001007799), цыпленка (номер доступа в GenBank NP 989564) или полосатого данио (номер доступа в GenBank XP 698117), и гибридому белку, полученному на основе любого из упомянутых белков, который демонстрирует киназную активность по отношению к одному или более субстрату тирозинкиназы Брутона (например, пептидному субстрату, имеющему последовательность аминокислот "AVLESEEELYSSARQ").

Термин "совместное введение" или подобный в настоящем изобретении охватывает введение выбранных терапевтических агентов одному пациенту и включает режимы лечения, при которых агенты вводят одинаковыми или различными путями введения одновременно или в разное время.

Термин "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество" в настоящем изобретении обозначает количество вводимого агента или соединения, достаточное для облегчения до некоторой степени одного или более симптомов болезни или состояния, подвергаемого лечению. Результатом может являться уменьшение и/или снижение выраженности признаков, симптомов или причин заболевания или любое другое желаемое изменение биологической системы. Например, "эффективное количество" для терапевтического применения представляет собой количество композиции, включающей соединения, описанные в настоящем изобретении, необходимое для обеспечения клинически значимого снижения выраженности симптомов болезни без избыточных неблагоприятных побочных эффектов. Подходящее "эффективное количество" в любом конкретном случае можно определить с помощью таких методов, как исследование с увеличением дозы.

Термин "терапевтически эффективное количество" включает, например, профилактически эффективное количество. "Эффективное количество" соединения, описанного в настоящем изобретении, представляет собой количество, эффективное для достижения желаемого фармакологического эффекта или терапевтического улучшения без избыточных неблагоприятных побочных эффектов. Следует понимать, что "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество" может варьировать у соответствующего объекта в зависимости от изменения метаболизма соединения, соответствующего формуле D, возраста, веса, общего состояния объекта, состояния, подвергаемого лечению, и решения лечащего врача. Исключительно в качестве примера терапевтически эффективное количество можно определить с помощью стандартных исследований, включающих, но не ограниченных, клинические исследования с увеличением дозы.

Термины "увеличивать/усиливать" или "увеличивающий/усиливающий" обозначают усиление или увеличение либо интенсивности, либо продолжительности желаемого эффекта. В качестве примера "усиление" эффекта терапевтических агентов относится к способности увеличивать или усиливать либо интенсивность, либо длительность эффекта терапевтических агентов в ходе лечения заболевания, нарушения или состояния. "Усиливающее эффективное количество" в описании относится к количеству, необходимому для усиления эффекта терапевтического агента в лечении заболевания, нарушения или состояния. При применении у пациента количество, эффективное для такого применения, зависит от тяжести и течения заболевания, нарушения или состояния, предшествующей терапии, состояния здоровья пациента и реакции на лекарства и решения лечащего врача.

Термин "гомологичный цистеин" в настоящем изобретении относится к остатку цистеина, находящемуся в некотором положении в последовательности, гомологичном цистеину 481 тирозинкиназы Брутона, определенной в настоящем описании. Например, цистеин 482 гомологичен цистеину ортолога тирозинкиназы Брутона крысы; цистеин 479 гомологичен цистеину ортолога курицы и цистеин 481 гомологичен цистеину ортолога полосатого данио. В другом примере гомологичный цистеин ТХК, представителя семейства киназ Tec, близкого к тирозину Брутона, представляет собой Cys 350. Другие примеры киназ, имеющих гомологичные цистеины, показаны на фиг. 1. См. также выравнивание последовательностей тирозинкиназ (ТК), опубликованное в Интернете: [kinase.com/human/kinome/phylogeny.html](http://kinase.com/human/kinome/phylogeny.html).

Термин "идентичный" в настоящем изобретении относится к двум или более одинаковым последовательностям или подпоследовательностям. Кроме того, термин "по существу идентичный" в данном описании относится к двум или более последовательностям, имеющим процентную долю одинаковых

единиц последовательности при сравнении и выравнивании с получением максимального соответствия в пределах окна сравнения или обозначенной области, согласно оценке с помощью алгоритмов сравнения с использованием либо путем выравнивания вручную, либо путем визуальной проверки. Исключительно в качестве примера две или более последовательности могут быть "по существу идентичны", если единицы последовательности идентичны примерно на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95% в пределах конкретной области. Такие проценты описывают "проценты идентичности" двух или более последовательностей. Идентичность последовательности может наблюдаться в пределах области длиной по меньшей мере около 75-100 единиц последовательности, в пределах области длиной примерно 50 единиц последовательности или, если не указано конкретно, в пределах целой последовательности. Это определение также относится к последовательности, комплементарной тестируемой. Исключительно в качестве примера две или более полипептидные последовательности идентичны, если составляющие их остатки аминокислот идентичны, а две или более полипептидные последовательности "по существу идентичны", если составляющие их остатки аминокислот идентичны примерно на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95% в пределах конкретной области. Идентичность может наблюдаться в пределах области длиной по меньшей мере около 75-100 аминокислот, в пределах области длиной около 50 аминокислот или, если не указано конкретно, в пределах целой последовательности дипептида. Кроме того, исключительно в качестве примера две или более полинуклеотидные последовательности идентичны, если составляющие их остатки нуклеиновых кислот идентичны, тогда как две или более полинуклеотидные последовательности "по существу идентичны", если составляющие их остатки нуклеиновых кислот идентичны примерно на 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95% в пределах конкретной области. Идентичность может наблюдаться в пределах области, длина которой составляет по меньшей мере около 75-100 нуклеотидов, в пределах области, длина которой составляет примерно 50 нуклеотидов, или, если не уточнено, в пределах целой полинуклеотидной последовательности.

Термины "подавляет/ингибирует", "ингибирующий" или "ингибитор" киназы в данном описании относятся к подавлению/ингибированию ферментативной фосфотрансферазной активности.

Термин "необратимо действующий ингибитор" (необратимый ингибитор) в настоящем изобретении относится к соединению, которое при контакте с целевым белком (например, киназой) вызывает образование новой ковалентной связи с белком или в пределах белка, в результате чего один или более видов биологической активности целевого белка (например, фосфотрансферазная активность) снижается или полностью подавляется независимо от присутствия или отсутствия необратимо действующего ингибитора в дальнейшем.

Термин "необратимый ингибитор Vtk" в настоящем изобретении относится к ингибитору Vtk, который может образовывать ковалентную связь с остатком аминокислоты Vtk. В одном воплощении необратимо действующий ингибитор Vtk может образовывать ковалентную связь с остатком Cys Vtk; в конкретных воплощениях необратимо действующий ингибитор может образовывать ковалентную связь с остатком Cys 481 (или его гомологом) Vtk или остатком цистеина в соответствующем гомологичном положении другой тирозинкиназы, как показано на фиг. 1.

Термин "изолированный/выделенный" в настоящем изобретении относится к разделению и отделению целевого компонента от нецелевых компонентов. Изолированные вещества могут находиться либо в сухом, либо в полусухом состояниях или в растворе, включая водный раствор, но не ограничиваясь им. Изолированный компонент может находиться в гомогенном состоянии либо изолированный компонент может быть частью фармацевтической композиции, которая включает дополнительные фармацевтически приемлемые носители и/или наполнители. Исключительно в качестве примера нуклеиновые кислоты или белки являются "изолированными/выделенными" в том случае, если такие аминокислоты или белки свободны, по меньшей мере, от некоторых компонентов клетки, с которыми они связаны в природном состоянии, или в том случае, если нуклеиновая кислота или белок сконцентрированы в большей степени, по сравнению с исходной концентрацией нуклеиновой кислоты/белка при продукции *in vivo* или *in vitro*. Также в качестве примера ген считается изолированным, когда он отделен от открытых рамок считывания, фланкирующих ген и кодирующих белки, отличные от белков, кодируемых геном интереса.

"Метаболит" соединения согласно настоящему изобретению представляет собой производное соединения, которое образуется при метаболизировании соединения.

Термин "активный метаболит" относится к биологически активному производному соединения, образующемуся при метаболизировании соединения.

Термин "метаболизированный" в настоящем изобретении относится к совокупности процессов (включающих, но не ограниченных перечисленными, реакции гидролиза и реакции, катализируемые ферментами, например реакции окисления), при которых конкретное вещество изменяется в результате жизнедеятельности организма. Так, ферменты могут осуществлять конкретные структурные изменения в соединении. Например, цитохром P450 катализирует ряд окислительных и восстановительных реакций, тогда как ундицилфосфатглюкуронилтрансферазы катализируют перенос активированной молекулы глюкуроновой кислоты на ароматические спирты, алифатические спирты, карбоновые кислоты, амины и свободные сульфгидрильные группы. Дополнительную информацию о метаболизме можно найти в *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9<sup>th</sup> Edition, McGraw-Hill (1996). Метаболиты соединений, описан-

ных в настоящем патенте, можно выявить либо путем введения соединений в организм хозяина и анализа образцов ткани хозяина, либо путем инкубации соединений с клетками печени *in vitro* и анализа образующихся соединений. Оба способа хорошо известны в данной области. В некоторых воплощениях метаболиты соединения образуются в результате окислительных процессов и соответствуют соответствующим гидроксисодержащим соединениям. В некоторых воплощениях соединение метаболизируется в фармакологически активные метаболиты.

Термин "модулировать" в настоящем изобретении относится либо к прямому, либо к опосредованному взаимодействию, обуславливающему изменение активности мишени, включающее только в качестве примера повышение активности мишени, подавление активности мишени, ограничение активности мишени или расширение активности мишени.

В данном описании термин "модулятор" относится к соединению, изменяющему активность молекулы. Например, модулятор может вызвать увеличение или уменьшение величины конкретного вида активности молекулы, по сравнению со значением активности в отсутствие модулятора. В конкретных воплощениях модулятор представляет собой ингибитор, который снижает значение одного или более видов активности молекулы. В некоторых воплощениях ингибитор полностью подавляет один или более видов активности молекулы. В некоторых воплощениях модулятор представляет собой активатор, который увеличивает значение по меньшей мере одного вида активности молекулы. В некоторых воплощениях присутствие модулятора обуславливает активность, не наблюдаемую в отсутствие модулятора.

Термин "профилактически эффективное количество" в настоящем изобретении обозначает то количество композиции, вводимой пациенту, которое в некоторой степени снижает выраженность одного или более симптомов заболевания, состояния или нарушения, подвергаемого лечению. В таких вариантах применения для профилактических целей указанное количество может зависеть от состояния здоровья пациента, веса и т.п. Специалист в данной области сможет определить такое профилактически эффективное количество с помощью рутинных экспериментов, включающих, но не ограниченных перечисленными, клиническое исследование с увеличением дозы.

В данном описании термин "селективно связывающее соединение" относится к соединению, которое селективно связывается с каким-либо участком одного или более белков-мишеней.

В данном описании термин "селективно связывает" относится к способности селективно связывающего соединения связываться с целевым белком, таким как, например, Vtk, с аффинностью, превышающей аффинность его связывания с нецелевым белком. В определенных воплощениях специфичное связывание относится к связыванию с мишенью с аффинностью, которая по меньшей мере в 10, 50, 100, 250, 500, 1000 или более раз превышает аффинность его связывания с нецелевым белком.

В данном описании термин "селективный модулятор" относится к соединению, которое модулирует целевой вид активности селективно по сравнению с нецелевой активностью. В некоторых воплощениях специфичный модулятор относится к соединению, модулирующему целевой вид активности по меньшей мере в 10, 50, 100, 250, 500, 1000 раз сильнее, чем нецелевую активность.

Термин "по существу очищенный" в настоящем изобретении относится к целевому компоненту, который может быть в значительной степени или по существу свободным от других компонентов, которые в природных условиях сопутствуют или взаимодействуют с компонентом до очистки/выделения. Только в качестве примера целевой компонент может являться "в значительной степени очищенным", если препарат целевого компонента содержит менее примерно 30%, менее примерно 25%, менее примерно 20%, менее примерно 15%, менее примерно 10%, менее примерно 5%, менее примерно 4%, менее примерно 3%, менее примерно 2% или менее примерно 1% (сухого веса) загрязняющих компонентов. Таким образом, "в значительной степени очищенный" целевой компонент может иметь степень чистоты около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 96%, около 97%, около 98%, около 99% или более.

Термин "субъект" в настоящем изобретении относится к животному, представляющему собой объект лечения, наблюдения или эксперимента. Только в качестве примера субъект может представлять собой, но не ограничен перечисленным, млекопитающее, включая человека, но не ограничиваясь.

В данном описании термин "целевая активность" относится к биологической активности, которую может модулировать селективный модулятор. Конкретные примеры целевой активности включают, но не ограничены перечисленным, аффинность связывания, передачу сигнала, ферментативную активность, опухолевый рост, воспаление или связанные с воспалением процессы и облегчение одного или более симптомов, ассоциированных с заболеванием или патологическим состоянием.

В данном описании термин "целевой белок" относится к молекуле или участку белка, с которым может связываться селективно связывающее соединение. В конкретных воплощениях целевой белок представляет собой Vtk.

Термины "лечить", "лечение" или "способ лечения" в данном описании включает облегчение, уменьшение или ослабление симптомов заболевания или состояния, предупреждение дополнительных симптомов, улучшение или предупреждение основных метаболических причин симптомов, подавление развития заболевания или состояния, например задержку развития болезни или состояния, снижение выраженности состояния болезни или состояния, стимулирование регрессии заболевания или состояния,

облегчение тяжести состояния, вызванного болезнью или состоянием, или задержку проявления симптомов заболевания или состояния. Термины "лечить", "лечение" или "способы лечения" включают, но не ограничены перечисленным, профилактическое и/или терапевтическое лечение.

В данном описании IC<sub>50</sub> относится к количеству, концентрации или дозировке конкретного тестируемого соединения, которое обеспечивает 50% подавление/ингибирование максимального ответа, например ингибирование Vtk, в системе анализа для оценки такого ответа.

В данном описании ЭК<sub>50</sub> относится к дозировке, концентрации или количеству конкретного тестируемого соединения, которое обуславливает дозозависимый ответ на уровне 50% от максимального проявления конкретного ответа, индуцируемого, стимулируемого или усиливаемого конкретным тестируемым соединением.

#### **Краткое описание графических материалов**

На фиг. 1 представлено сравнение последовательности Vtk с другими тирозинкиназами.

На фиг. 2 представлены данные, касающиеся ингибирования индуцируемого рецептором В-клеток фосфорилирования фосфолипазы-Су соединением 4 в клетке. В данном примере использовали 2Е6 клеток Ramos/лунку в бессывороточной среде; клетки предварительно обрабатывали соединением в течение 1,5 ч. Рецептор В-клеток стимулировали антителами к IgM в течение 3 мин; к клеткам немедленно добавляли 10× буфер для лизиса, содержащий ДНКазу. Добавляли буфер для образца и сразу же наносили пробы на гель. Образцы исследовали методом Вестерн-блот на содержание фосфорилированной формы Vtk и PLC71 и общей фракции Vtk и PLC-γ1. Блот проявляли с помощью ПЗС ChemiDoc и проводили количественный анализ с помощью ImageQuant. Полосы, соответствующие фосфорилированным формам, нормировали относительно полос, соответствующих общей фракции, и рассчитывали IC<sub>50</sub>.

На фиг. 3 представлены данные, демонстрирующие, что соединение 4 и соединение 15 подавляют рост клеток DHL-6. В этом примере использовали 3Е4 DHL-6 клетки/лунку в полной среде. Клетки обрабатывали в течение указанного времени соединением 4 в конечной концентрации 0,1% в ДМСО. Число клеток определяли с помощью системы Alamar Blue согласно стандартному протоколу.

На фиг. 4 представлены масс-спектры, показывающие, что соединение 4 ковалентно модифицирует Vtk. В данном примере 30 мкМ соединения 4 ингибировали 6-7 мкМ рекомбинантной Vtk (мутант Y->D, только киназный домен) в течение ночи при комнатной температуре. Комплекс белок-ингибитор обессоливали методом обратно-фазной ВЭЖХ и сразу же исследовали масс-спектрометрии для определения молекулярной массы. >99% рекомбинантного белка Vtk было ковалентно модифицировано соединением 4.

На фиг. 5 показано подавление развития артрита в модели у мышей соединением 4.

На фиг. 6 представлены данные, демонстрирующие, что эффективность соединения 4 связана с уменьшением содержания ревматоидного фактора и антител к цитруллинированному циклическому пептиду в модели CIAA. В данных примерах \*p<0,01; \*\*p<0,001 по сравнению с обработкой наполнителем или солевым раствором.

На фиг. 7 представлены данные, касающиеся подавления развития артрита в модели на мышцах соединением 13. Данный энантиомер соединения 4 полностью подавлял развитие артрита в модели CIAA при уровнях дозы 10 и 30 мг/кг. Для сравнения представлены данные, касающиеся ингибирования развития артрита, для дексаметазона в такой же модели на мышцах.

#### **Упоминание источников**

Все публикации и заявки на патент, упомянутые в данном патенте, включены в описание посредством ссылки в том же объеме, как если бы конкретно и отдельно было указано, что каждая отдельная публикация или заявка на патент в отдельности включена посредством ссылки.

Способы, описанные в настоящем изобретении, включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции, содержащей терапевтически эффективное количество одного или более соединения - необратимого ингибитора Vtk, описанного в настоящем изобретении. Без конкретного теоретического обоснования разнообразны роли, которые играет сигнальный каскад, опосредуемый Vtk, в различных функциях гематопоэтических клеток, например активизация рецептора В-клеток, позволяет предположить, что низкомолекулярные ингибиторы Vtk можно применять для снижения риска развития или лечения разнообразных заболеваний, на которые влияют или которые оказывают влияние на различные типы клеток гематопоэтической линии, включая, например, аутоиммунные заболевания, гетероиммунные состояния или заболевания, воспалительные заболевания, рак (например, заболевания, связанные с пролиферацией В-клеток) и тромбозомболические заболевания. Кроме того, соединения - необратимые ингибиторы Vtk, описанные в настоящем изобретении, можно применять для ингибирования небольшого подмножества других тирозинкиназ, гомологичных Vtk по наличию остатка цистеина (включая остаток Cys 481), который может образовывать ковалентную связь с необратимым ингибитором. См., например, протеинкиназы на фиг. 1.

Таким образом, ожидается, что подмножество тирозинкиназ, помимо Vtk, также можно применять в качестве терапевтических мишеней в ряде патологических состояний.

В некоторых вариантах реализации способы, описанные в настоящем изобретении, можно применять для лечения аутоиммунных заболеваний, которые включают следующие заболевания, но на ограни-

чены ими: ревматоидный артрит, псориаз, псориатический артрит, остеоартрит, болезнь Стилла, юношеский артрит, диабет, злокачественная миастения, тиреоидит Хашимото, тиреоидит Орда, базедова болезнь, синдром Шегрена, рассеянный склероз, синдром Гийена-Барре, острый рассеянный энцефаломиелит, болезнь Аддисона, синдром опсоклонуса-миоклонуса, анкилозный спондилит, антифосфолипидный синдром, апластическая анемия, аутоиммунный гепатит, целиакия, синдром Гудпасчера, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, ретробульбарный неврит, склеродермия, первичный желчный цирроз, синдром Рейтера, синдром Такаясу, темпоральный артериит, аутоиммунная гемолитическая анемия, гранулематоз Вегенера, псориаз, универсальная алопеция, болезнь Бехчета, хроническая усталость, вегетативная дистония, эндометриоз, интерстициальный цистит, нейромиотония, склеродермия или вульводиния.

В некоторых вариантах реализации способы, описанные в настоящем патенте, можно применять для лечения гетероиммунных патологических состояний или заболеваний, включая следующие заболевания, но не ограничиваясь ими: реакция "трансплантат против хозяина", трансплантация, переливание, анафилаксия, аллергии (например, аллергия на пыльцу растений, латекс, лекарственные средства, пищу, яды насекомых, волосы животных, перхоть животных, пылевых клещей или тараканов), гиперчувствительность I типа, аллергический конъюнктивит, аллергические риниты и атопический дерматит.

В дополнительных воплощениях способы, описанные в настоящем изобретении, можно применять для снижения выраженности воспалительного заболевания, включая, но не ограничиваясь ими, астму, воспалительную болезнь кишечника, аппендицит, блефарит, бронхолит, бронхит, бурсит, цервицит, холангит, холецистит, колит, конъюнктивит, цистит, дакриoadенит, дерматит, дерматомиозит, энцефалит, эндокардит, эндометрит, энтерит, энтероколит, эпикондилит, эпидидимит, фасцит, фиброзит, гастрит, гастроэнтерит, гепатит, гнойный гидраденит, ларингит, мастит, менингит, миелит, миокардит, миозит, нефрит, оофорит, орхит, остит, отит, панкреатит, паротит, перикардит, перитонит, фарингит, плеврит, флебит, пневмонит, пневмония, проктит, простатит, пиелонефрит, ринит, сальпингит, синусит, стоматит, синовит, тендинит, тонзиллит, увеит, вагинит, васкулит или вульвит.

В других воплощениях способы, описанные в настоящем изобретении, можно применять для лечения рака, например нарушений, связанных с пролиферацией В-клеток, таких как, например, диффузная В-крупноклеточная лимфома, фолликулярная лимфома, хроническая лимфоцитарная лимфома, хроническая лимфоцитарная лейкемия, В-клеточная пролимфоцитарная лейкемия, лимфоплазмочитарная лимфома (макроглобулинемия Вальденстрема), лимфома маргинальной зоны селезенки, множественная миелома, плазмоцитома, экстранодальная В-клеточная лимфома маргинальной зоны, нодальная В-клеточная лимфома маргинальной зоны, лимфома из клеток мантийной зоны, медиастинальная (тимическая) В-крупноклеточная лимфома, интраваскулярная В-крупноклеточная лимфома, лимфома с первичным поражением серозных оболочек, лимфома/лейкемия Беркитта или лимфоматозный гранулематоз. В других воплощениях способы, описанные в настоящем изобретении, можно применять для лечения тромбоэмболических нарушений, включая, но не ограничиваясь ими, инфаркт миокарда, стенокардию, реокклюзию или рестеноз после ангиопластики или аортокоронарного шунтирования, инсульт, транзиторную ишемию, закупорку периферических артерий, эмболию легочной артерии или глубокую закупорку вен.

Симптомы, диагностические тесты и прогностические тесты для каждого вышеупомянутого состояния известны в данной области. См., например, *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 16<sup>th</sup> ed., 2004, The McGraw-Hill Companies, Inc. Dey et al. (2006), *Cytojournal*. 3(24) и классификацию "Revised European American Lymphoma" (REAL) (см., например, интернет-сайт Национального института рака).

Для установления диапазона терапевтически эффективных доз соединений - необратимых ингибиторов Vtk для лечения любого из указанных заболеваний можно применять различные модели животных.

Например, дозы соединений - необратимых ингибиторов Vtk для лечения аутоиммунного заболевания можно оценить на модели ревматоидного артрита у мышей. В этой модели стимулируют артрит у мышей Balb/c путем введения антител к коллагену и липополисахарида. См. Nandakumar et al. (2003), *Am. J. Pathol.* 163:1827-1837.

В другом примере дозирование необратимых ингибиторов Vtk для лечения нарушений пролиферации В-клеток можно исследовать, например, с помощью модели ксенотрансплантата человек-мышь, в которой В-клетки лимфомы человека (например, клеток Ramos) имплантированы иммунодефицитным мышам (например, бестимусным "nude" мышам), как описано, например, в Pagel et al. (2005), *Clin. Cancer. Res.* 11(13):4857-4866.

Также известны модели с использованием животных для лечения тромбоэмболических нарушений.

Терапевтическая эффективность соединения для одного из вышеупомянутых заболеваний может быть оптимизирована в ходе курса лечения. Например, субъекта, получающего лечение, можно подвергнуть диагностической оценке для установления корреляции между снижением выраженности симптомов заболевания или состояния и ингибированием активности Vtk *in vivo*, достигаемым введением конкретной дозы необратимого ингибитора Vtk. Для определения активности Vtk *in vivo* в присутствии или в отсутствие необратимого ингибитора Vtk можно применять клеточные системы анализа, известные в данной области. Например, поскольку активированная Vtk фосфорилируется по тирозину 223 (Y223) и

тирозины 551 (Y551), для обнаружения или определения количественной оценки активизации Vtk в популяции можно применять фосфоспецифическое иммуноцитохимическое окрашивание P-Y223 или P-Y551-положительных клеток (например, с помощью сортировки окрашенных и неокрашенных клеток путем FACS). См., например, Nisitani et al. (1999), Proc. Natl. Acad. Sci, USA. 96:2221-2226. Таким образом, количество соединения ингибитора Vtk, вводимое объекту, может быть увеличено или уменьшено по необходимости для поддержания оптимального для лечения заболевания объекта уровня ингибирования Vtk.

Соединения.

В следующем описании соединения - необратимые ингибиторы Vtk, подходящие для применения согласно способам, описанным в настоящем изобретении, определения упоминаемых стандартных химических терминов, можно найти в цитируемых источниках (если в настоящем изобретении не определено иначе), в том числе Carey and Sundberg "Advanced Organic Chemistry 4<sup>th</sup> Ed.". Vols. A (2000) and B (2001), Plenum Press, New York. Если не указано иначе, стандартные методы масс-спектрологии, ЯМР, ВЭЖХ, химии белков, биохимии, методы рекомбинантной ДНК и фармакологии, применяются в пределах компетенции специалиста в данной области. Кроме того, последовательности нуклеотидов и аминокислот для Vtk (например, Vtk человека) известны в данной области и описаны, например, в патенте США № 6326469. Если не предусмотрены особые определения, номенклатура и лабораторные процедуры и методы, относящиеся к области аналитической химии, химии органического синтеза и медицинской и фармацевтической химии, описанные в настоящем изобретении, соответствуют общепринятым в данной области. Для химического синтеза, химического анализа, получения, составления и доставки фармацевтических препаратов и лечения пациентов можно применять стандартные методы.

Соединения, ингибирующие Vtk, описанные в настоящем изобретении, являются специфичными в отношении Vtk и киназы, имеющих остаток цистеина в положении последовательности аминокислот тирозинкиназы, гомологичном положению цистеина 481 последовательности аминокислот Vtk. См., например, киназы на фиг. 1. Соединения-ингибиторы, описанные в настоящем изобретении, включают акцепторную группу Михаэля.

Как правило, необратимые ингибиторы Vtk, применяемые в способах, описанных в настоящем изобретении, идентифицируют и исследуют путем анализа *in vitro*, например биохимического анализа в бесклеточной системе или функционального анализа в клеточной системе. Такие способы анализа можно применять для определения *in vitro* IC<sub>50</sub> для необратимого ингибитора Vtk.

Например, можно применять анализ киназной активности в бесклеточной системе для определения активности Vtk после инкубации киназы в отсутствие или в присутствии диапазона концентрации предполагаемого (кандидатного) необратимого ингибитора Vtk. Если предполагаемое соединение в действительности является необратимым ингибитором Vtk, киназная активность Vtk не будет восстанавливаться при повторной промывке средой, не содержащей ингибитора. См., например, J.B. Smaill, et al. (1999), J. Med. Chem. 42(10):1803-1815. Кроме того, образование ковалентного комплекса между Vtk и предполагаемым необратимым ингибитором Vtk можно использовать как показатель необратимого ингибирования Vtk, которое можно легко определить множеством методов, известных в данной области (например, масс-спектрометрия). Например, некоторые соединения, необратимо ингибирующие Vtk, могут образовывать ковалентную связь с Cys 481 Vtk (например, путем реакции Михаэля).

Функциональный анализ ингибирования Vtk в клеточной системе включает измерение одного или более параметров (результатов) в ответ на стимулирование опосредуемого Vtk сигнального пути в линии клеток (например, активация BCR в клетках Рамоса) в отсутствие или в присутствии диапазона концентраций предполагаемого необратимого ингибитора Vtk. Конечные точки, которые можно использовать для определения ответа на активацию BCR, включают, например, автофосфорилирование Vtk, фосфорилирование белка-мишени Vtk (например, PLC- $\gamma$ ) и изменение концентрации кальция в цитоплазме.

Высокопроизводительные системы анализа для многих способов биохимического анализа в бесклеточной системе (например, анализ киназной активности) и функционального анализа в клеточной системе (например, изменение концентрации кальция) хорошо известны специалистам в данной области. Кроме того, коммерчески доступны высокопроизводительные системы для скрининга (см., например, Zymark Corp., Hopkinton, MA.; Air Technical Industries, Mentor, O.H.; Beckman Instruments, Inc. Fullerton, CA; Precision Systems, Inc., Natick, MA и т.п.). Такие системы, как правило, автоматизируют целые процедуры, включающие пипетирование всех образцов и реагентов, дозирование жидкости, инкубацию в течение заданного промежутка времени и конечный анализ микропланшетов с помощью детектора (детекторов), соответствующих конкретной системе анализа. Автоматизированные системы, таким образом, позволяют выявить и описать большое число необратимых ингибиторов Vtk без лишних усилий.

Соединения, необратимо ингибирующие Vtk, можно применять для производства лекарственных препаратов для лечения любого из описанных выше патологических состояний (например, аутоиммунных заболеваний, воспалительных болезней, аллергических нарушений, нарушений пролиферации В-клеток или тромбозмболических нарушений).

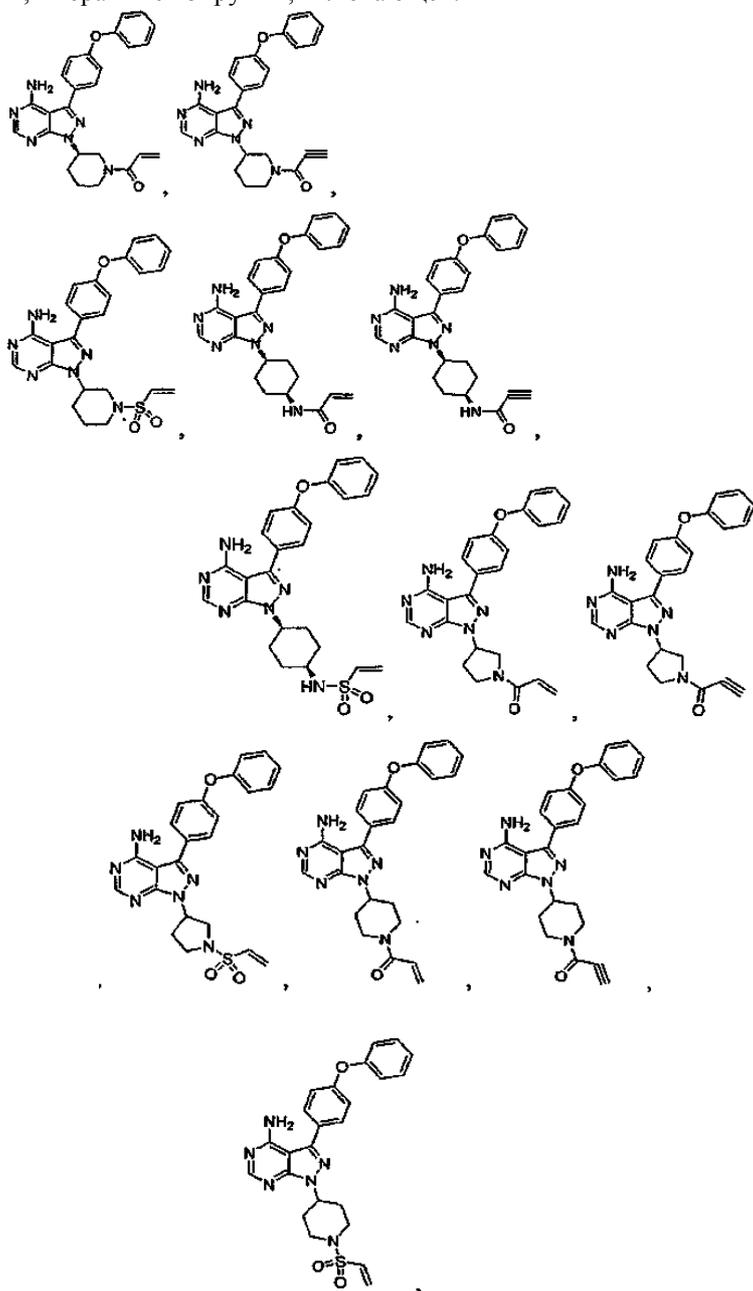
В некоторых воплощениях необратимые ингибиторы Vtk, применяемые в способах, описанных в настоящем изобретении, ингибируют киназную активность Vtk или гомолога Vtk с IC<sub>50</sub> *in vitro* менее

10 мкМ (например, менее 1, менее 0,5, менее 0,4, менее 0,3, менее 0,1, менее 0,08, менее 0,06, менее 0,05, менее 0,04, менее 0,03, менее 0,02, менее 0,01, менее 0,008, менее 0,006, менее 0,005, менее 0,004, менее 0,003, менее 0,002, менее 0,001, менее 0,00099, менее 0,00098, менее 0,00097, менее 0,00096, менее 0,00095, менее 0,00094, менее 0,00093, менее 0,00092 или менее 0,00090 мкМ).

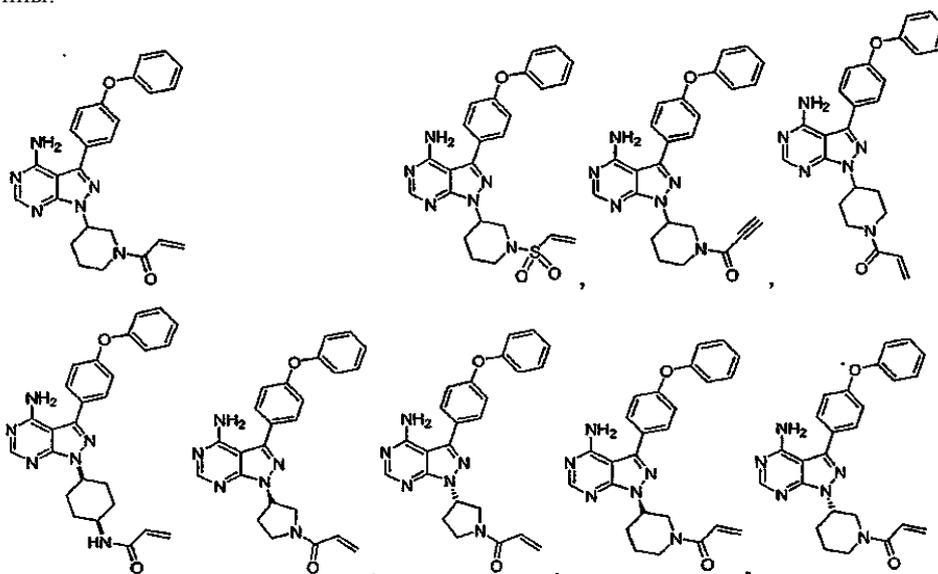
В одном воплощении необратимый ингибитор Vtk селективно и необратимо ингибирует активированную форму тирозинкиназы-мишени (например, фосфорилированная форма тирозинкиназы). Например, активизированная Vtk трансфосфорилируется по тирозину 551. Таким образом, в данных воплощениях необратимый ингибитор Vtk ингибирует киназу-мишень в клетках сразу же после активации киназы-мишени под действием событий пути передачи сигнала.

В данном изобретении описаны соединения, соответствующие формуле D. Также в настоящем изобретении описаны фармацевтически приемлемые соли таких соединений. Также предусмотрены фармацевтические композиции, включающие по меньшей мере одно такое соединение или фармацевтически приемлемую соль такого соединения. В некоторых вариантах реализации в случаях, если соединения, описанные в настоящем изобретении, содержат окисляемый атом азота, атом азота может быть преобразован в N-оксид способами, хорошо известными в данной области. В некоторых воплощениях также предусмотрены химически защищенные формы соединений, имеющих структуру, соответствующую формуле D.

Дальнейшие варианты реализации соединений формулы D включают, но не ограничены перечисленными, соединения, выбранные из группы, включающей:



В другом воплощении соединения, предусмотренные настоящим изобретением, выбраны из следующей группы:



В одном аспекте настоящее изобретение предусматривает соединение, выбранное из следующих:  
1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-он (соединение 4);

(E)-1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)бут-2-ен-1-он (соединение 5);

1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)сульфонилэтен (соединение 6);

1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ин-1-он (соединение 8);

1-(4-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-он (соединение 9);

N-((1s,4s)-4-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)циклогексил)акриламид (соединение 10);

1-((R)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-он (соединение 11);

1-((S)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-он (соединение 12);

1-((R)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-он (соединение 13);

1-((S)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-он (соединение 14) и

(E)-1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)-4-(диметиламино)бут-2-ен-1-он (соединение 15).

В пределах всего описания группы и их заместители могут быть выбраны специалистом в данной области для обеспечения стабильности групп и соединений.

Соединения формулы D могут необратимо ингибировать Vtk, и их можно применять для лечения пациентов, страдающих зависимыми от тирозинкиназы Брутона или опосредованными тирозинкиназой Брутона патологическими состояниями или заболеваниями, включающими, но не ограниченными перечисленными, рак, аутоиммунными и другими воспалительными заболеваниями.

Получение соединений.

Соединение, соответствующее формуле D, можно синтезировать с применением стандартных методов синтеза, известных специалистам в данной области, или с применением способов, известных в данной области, в комбинации со способами, описанными в настоящем изобретении. Добавки, растворители, температурные режимы и другие условия реакции, представленные в настоящем описании, могут быть изменены по усмотрению специалиста в данной области. В качестве дополнительного руководства можно также применять следующие способы синтеза.

Реакции можно применять в прямой последовательности с получением соединений, описанных в настоящем изобретении, или их можно применять для синтеза фрагментов, которые впоследствии соединяют способами, описанными в настоящем изобретении и/или известными в данной области.

Образование ковалентных связей при реакции электрофила с нуклеофилом.

Соединения, описанные в настоящем изобретении, могут быть модифицированы с применением различных электрофилов или нуклеофилов с образованием новых функциональных групп или заместителей. В табл. 1, озаглавленной "Примеры ковалентных связей и их предшественников", перечислены выбранные примеры ковалентных связей и функциональные группы предшественников, их образующих, и данную таблицу можно использовать как руководство по различным доступным комбинациям электрофилов и нуклеофилов. Функциональные группы предшественников обозначены как электрофильные и нуклеофильные группы.

Таблица 1

| Примеры ковалентных связей и их предшественников |                               |                |
|--------------------------------------------------|-------------------------------|----------------|
| Продукт                                          | Электрофил                    | Нуклеофил      |
| Карбоксамиды                                     | Активированные                | амины/анилины  |
| Карбоксамиды                                     | Ацилазиды                     | амины/анилины  |
| Карбоксамиды                                     | ацилгалогениды                | амины/анилины  |
| Сложные                                          | ацилгалогениды                | спирты/фенолы  |
| Сложные                                          | Ацилнитрилы                   | спирты/фенолы  |
| Карбоксамиды                                     | Ацилнитрилы                   | амины/анилины  |
| Имины                                            | Альдегиды                     | амины/анилины  |
| Гидразоны                                        | альдегиды или кетоны          | Гидразины      |
| Оксимы                                           | альдегиды или кетоны          | Гидроксиламины |
| Алкиламины                                       | Алкилгалиды                   | амины/анилины  |
| Сложные                                          | Алкилгалиды                   | карбоновые     |
| Тиоэфиры                                         | Алкилгалиды                   | Тиолы          |
| Простые                                          | Алкилгалиды                   | спирты/фенолы  |
| Тиоэфиры                                         | алкилсульфонаты               | Тиолы          |
| Сложные                                          | алкилсульфонаты               | карбоновые     |
| Простые                                          | алкилсульфонаты               | спирты/фенолы  |
| Сложные                                          | Ангидриды                     | спирты/фенолы  |
| Карбоксамиды                                     | Ангидриды                     | амины/анилины  |
| Тиофенолы                                        | Арилгалиды                    | Тиолы          |
| Ариламины                                        | Арилгалиды                    | Амины          |
| Тиоэфиры                                         | Азиндины                      | Тиолы          |
| Боронатные                                       | Боронаты                      | Гликоли        |
| Карбоксамиды                                     | Карбоновые кислоты            | амины/анилины  |
| Сложные                                          | Карбоновые кислоты            | Спирты         |
| Тиоэфиры                                         | Малеимиды                     | Тиолы          |
| гидразины                                        | Гидра                         | карбоновые     |
| N-                                               | карбодимиды                   | карбоновые     |
| Сложные                                          | Диазоалканы                   | карбоновые     |
| Тиоэфиры                                         | Эпоксиды                      | Тиолы          |
| Тиоэфиры                                         | галогеноацетамиды             | Тиолы          |
| Аммотриазины                                     | галогенотриазины              | амины/анилины  |
| Триазинил                                        | галогенотриазины              | спирты/фенолы  |
| Амидины                                          | Имидоэфиры                    | амины/анилины  |
| Мочевины                                         | Изоцианаты                    | амины/анилины  |
| Уретаны                                          | Изоцианаты                    | спирты/фенолы  |
| Тиомочевины                                      | изотиоцианаты                 | амины/анилины  |
| Фосфитэфиры                                      | фосфорамидиты                 | Спирты         |
| Силилэфиры                                       | Силилгалиды                   | Спирты         |
| Алкиламины                                       | сульфонатэфиры                | амины/анилины  |
| Тиоэфиры                                         | сульфонатэфиры                | Тиолы          |
| Сложные                                          | сульфонатэфиры                | карбоновые     |
| Простые                                          | сульфонатэфиры                | Спирты         |
| Сульфонамиды                                     | сульфонилгалиды               | амины/анилины  |
| Сульфонатные                                     | сульфонилгалиды               | фенолы/спирты  |
| Алкилтиол                                        | $\alpha, \beta$ -ненасыщенный | тиолы          |
| Алкилэфиры                                       | $\alpha, \beta$ -ненасыщенный | спирты         |
| Алкиламины                                       | $\alpha, \beta$ -ненасыщенный | амины          |
| Алкилтиол                                        | Винилсульфон                  | тиолы          |
| Алкилэфиры                                       | Винилсульфон                  | спирты         |
| Алкиламины                                       | Винилсульфон                  | амины          |
| Винилсульфид                                     | Пропаргиламид                 | тиол           |

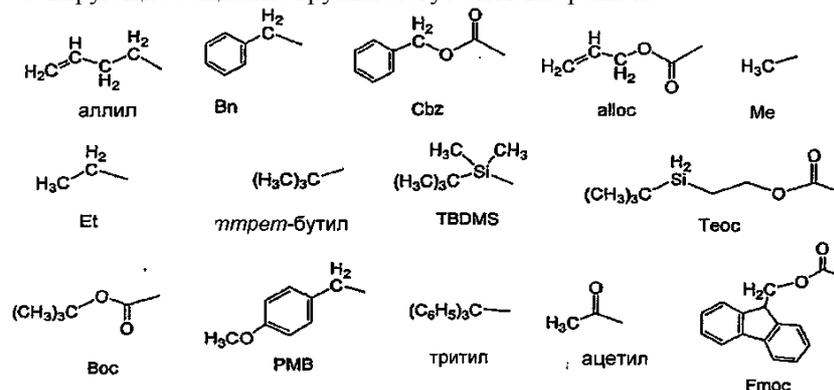
Применение защитных групп.

В приведенных реакциях может потребоваться защита реакционных функциональных групп, например гидрокси-, amino-, имино-, тио- или карбоксигрупп, если их присутствие необходимо в конечном продукте, во избежание их нежелательного участия в реакциях. Защитные группы используют, чтобы блокировать некоторые или все реакционные группы и препятствовать участию таких групп в химических реакциях до удаления защитной группы. В одном воплощении каждая защитная группа может быть удалена различными способами. Защитные группы, которые отщепляются при условиях, принципиально отличных от условий реакции, соответствуют требованию дифференциального удаления защитной группы. Защитные группы могут быть удалены с помощью кислоты, основания и гидрогенолиза. Такие группы, как тритил, диметокситритил, ацеталь и трет-бутилдиметилсилил, неустойчивы к действию кислот и их можно применять для защиты реакционных карбокси- и гидроксигрупп в присутствии аминогрупп, защищенных Cbz-группами, которые могут быть удалены путем гидрогенолиза, и F<sub>moc</sub>-групп, неустойчивых к действию оснований. Реакционные группы карбоновой кислоты и гидроксигруппы могут быть блокированы с помощью неустойчивых к действию оснований групп, таких как, без ограничения, метил, этил и ацетил, в присутствии аминов, блокированных с помощью неустойчивых к действию кислот групп, таких как трет-бутилкарбамат или карбаматы, которые являются стабильными как при действии кислот, так и при действии оснований, но могут быть удалены гидролитически.

Реакционные группы карбоновой кислоты и гидроксигруппы могут также быть блокированы удаляемыми при гидролизе защитными группами, такими как бензильная группа, а амины, способные образовывать водородные связи с кислотами, могут быть блокированы группами, неустойчивыми к действию оснований, например F<sub>moc</sub>. Реакционные группы карбоновой кислоты могут быть защищены путем преобразования в простой эфир соединения, приведенного в качестве примера в настоящем изобретении, или они могут быть блокированы защитными группами, которые могут быть удалены путем окисления, такими как 2,4-диметоксibenзил, тогда как присутствующие наряду с ними аминогруппы могут быть блокированы лабильными при действии фторидов силилкарбаматами.

Аллильные блокирующие группы применимы в присутствии кислотных и основных защитных групп, так как последние стабильны и могут быть впоследствии удалены с помощью металлсодержащих или кислотных катализаторов. Например, защитная группа аллил-блокированной карбоновой кислоты может быть удалена с помощью катализируемой Pd<sup>0</sup> реакции в присутствии неустойчивой в присутствии кислоты трет-бутилкарбаматной или неустойчивой в присутствии основания ацетат-аминной защитных групп. Еще одной формой защитной группы является смола, к которой может быть присоединено соединение или промежуточный продукт. Когда фрагмент присоединен к смоле, функциональная группа заблокирована и не может вступать в реакцию. При отсоединении от смолы функциональная группа доступна для реакции.

Типичные блокирующие/защитные группы могут быть выбраны из



Другие защитные группы, а также подробное описание методик, которые можно применять для образования защитных групп и их удаления, представлены и описаны в руководствах Greene and Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3<sup>rd</sup> Ed., John Wiley & Sons, New York, NY, 1999 и Kocienski, *Protective Groups*, Thieme Verlag, New York, NY, 1994, включенных в данное описание посредством ссылки в полном объеме.

Синтез соединений.

В конкретных воплощениях настоящее изобретение предусматривает способы получения и способы применения соединений-ингибиторов тирозинкиназы, описанных в настоящем патенте. В конкретных воплощениях соединения, описанные в настоящем изобретении, могут быть синтезированы с применением следующих схем синтеза. Соединения могут быть синтезированы с применением методик, аналогичных методикам, описанным ниже, с применением подходящих альтернативных исходных веществ.

В данном изобретении описаны соединения, которые ингибируют активность тирозинкиназы (тирозинкиназы), такой как Btk, и способы их получения. Также в настоящем патенте описаны фармацевтически приемлемые соли, фармацевтически приемлемые сольваты, фармацевтически активные метаболиты

и фармацевтически приемлемые пролекарства таких соединений. Предусмотрены фармацевтические композиции, включающие по меньшей мере одно такое соединение или фармацевтически приемлемые соли, фармацевтически приемлемые сольваты, фармацевтически активные метаболиты или фармацевтически приемлемые пролекарства такого соединения.

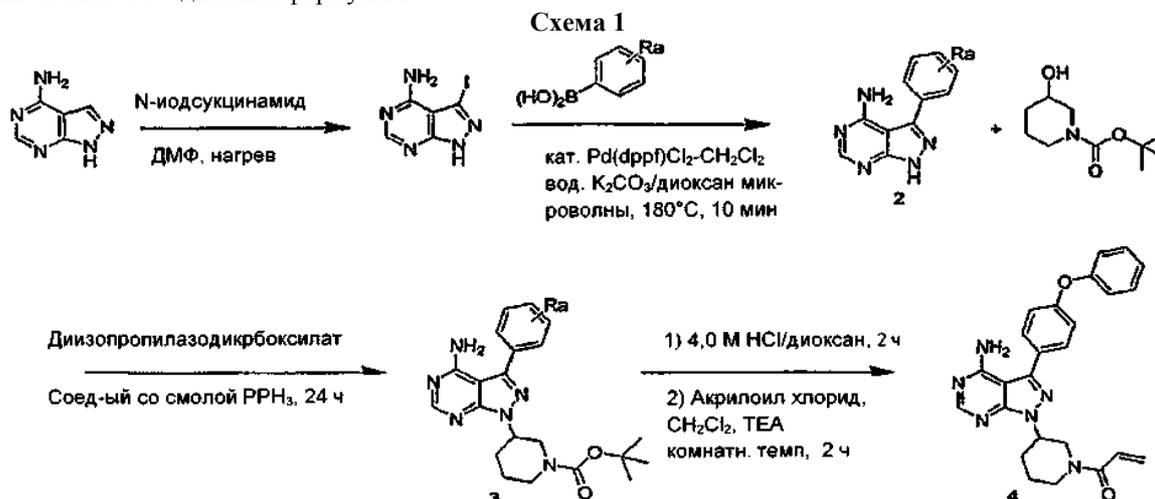
Исходные вещества, применяемые для синтеза соединений, описанных в настоящем патенте, могут быть синтезированы или могут быть получены из коммерческих источников, таких как, без ограничений, Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin), Bachem (Torrance, California) или Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo.). Соединения, описанные в настоящем изобретении, и другие схожие соединения, имеющие другие заместители, могут быть синтезированы с применением способов и веществ, известных специалистам в данной области, таких как описаны, например, в руководствах March, *Advanced Organic Chemistry* 4<sup>th</sup> Ed. (Wiley, 1992); Carey and Sundberg, *Advanced Organic Chemistry* 4<sup>th</sup> Ed. Vols. A and B (Plenum 2000, 2001); Green and Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis* 3<sup>rd</sup> Ed. (Wiley, 1999); Fieser and Fieser's *Reagents for Organic Synthesis*. Vol. 1-17 (John Wiley and Sons, 1991); Rodd's *Chemistry of Carbon Compounds*. Vol. 1-5 and Supplemental (Elsevier Science Publishers, 1989); *Organic Reactions*. Vol. 1-40 (John Wiley and Sons, 1991) и Larock's *Comprehensive Organic Transformations* (VCH Publishers Inc., 1989), которые включены в настоящее описание посредством ссылки в полном объеме. Другие способы синтеза соединений, описанных в настоящем патенте, можно найти в международной патентной публикации № WO 01/01982901, работах Arnold et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 10 (2000), 2167-2170; Burchat et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* (2002), 1687-1690. Общие способы получения соединений, таких как описанные в настоящем изобретении, могут быть получены в результате реакций, известных в данной области, и реакции могут быть модифицированы с использованием подходящих реагентов и условий, которые известны специалистам в данной области, для введения различных групп, присутствующих в формулах, представленных в настоящем описании. В качестве руководства можно использовать следующие способы синтеза.

Продукты реакций могут быть выделены и очищены, при необходимости, с применением стандартных способов, включающих, но не ограниченных перечисленными, фильтрацию, дистилляцию, кристаллизацию, хроматографию и т.п. Такие вещества могут быть охарактеризованы с помощью стандартных способов, позволяющих получить физические константы и спектральные данные и пр.

Соединения, описанные в настоящем изобретении, могут быть получены с применением способов синтеза, описанных в настоящем патенте, в виде одного изомера или смеси изомеров.

Неограничивающий пример способа синтеза для получения соединений, соответствующего формуле D, представлен на схеме 1.

Галогенизация коммерчески доступного 1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-4-амина обеспечивает введение в синтез соединений формулы D.



В одном воплощении 1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-4-амин обрабатывают N-йодсукцинамидом с образованием 3-йод-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-4-амина. Затем проводят катализируемые металлом реакции перекрестного связывания 3-йод-1Н-пиразоло[3,4-д]пиримидин-4-амина. В одном воплощении в опосредуемой палладием реакции перекрестного связывания соответствующим образом замещенного фенолбороновой кислоты при основных условиях образуется промежуточный продукт 2. Промежуточный продукт 2 сочетают с N-Вос-3-гидрокси-1-пиперидинилом (как неограничивающий пример) посредством реакции Мицунобу с образованием защищенного группой Вос (трет-бутилоксикарбонил) промежуточного продукта 3. После снятия защитной группы с помощью кислоты реакции сочетания с, без ограничений, хлорангидридом, таким как, без ограничения, акрилоилхлорид, синтез завершается с образованием соединения 4.

С использованием способов синтеза, описанных в настоящем патенте, а также известных в данной области, ингибиторы тирозинкиназы, такие как описаны в настоящем патенте, получают с хорошим выходом и чистотой. Соединения, полученные с помощью способов, описанных в настоящем патенте, очищают стандартными способами, известными в данной области, такими как, например, фильтрация, перекристаллизация, хроматография, дистилляция и их комбинации.

Предусмотрена любая комбинация групп, описанных в настоящем изобретении, с различными значениями переменных. Следует понимать, что распределение заместителей и замен в соединениях, предусмотренных заявкой на изобретение, может быть выбрано специалистом в данной области для получения соединений, которые являются химически стабильными и могут быть синтезированы способами, известными в данной области, а также описанными в настоящем патенте.

Дополнительные формы соединений.

Соединения, описанные в настоящем изобретении, имеют структуру, соответствующую формуле D. Следует понимать, что упоминание соединений, описанных в настоящем патенте, охватывает соединения, соответствующие формуле D, а также все конкретные соединения, которые находятся в пределах охвата данной общей формулы, если не указано особо.

Соединения, описанные в настоящем изобретении, могут обладать одним или более стереоцентром, и каждый центр может существовать в конфигурации R или S. Соединения, представленные в настоящем описании, включают все диастереомерные, энантиомерные и эпимерные формы, а также соответствующие смеси таких форм. Стереоизомеры могут быть получены, при необходимости, способами, известными в данной области, например путем разделения стереоизомеров с помощью хиральных хроматографических колонок.

Диастереомерные смеси могут быть разделены на отдельные диастереомеры на основании их физико-химических различий известными способами, например путем хроматографии и/или фракционной кристаллизации. В одном воплощении энантиомеры могут быть разделены с помощью хиральных хроматографических колонок. В других воплощениях энантиомеры могут быть разделены путем преобразования энантиомерной смеси в диастереомерную с помощью реакции с подходящим оптически активным соединением (например, спиртом), разделения диастереомеров и преобразования (например, путем гидролиза) отдельных диастереомеров в соответствующие чистые энантиомеры. Предполагается, что все такие изомеры, включая диастереомеры, энантиомеры и их смеси, являются частью композиций, описанных в настоящем патенте.

Описанные в настоящем патенте способы и композиции включают применение N-оксидов, кристаллические формы (также известные как полиморфы) или фармацевтически приемлемые соли соединений, описанных в настоящем патенте, а также активные метаболиты этих соединений, обладающие таким же типом активности. В некоторых случаях соединения могут существовать в виде таутомеров. Все таутомеры включены в объем соединений, представленных в настоящем описании. Кроме того, соединения, описанные в настоящем изобретении, могут существовать в несольватированной, а также в сольватированной формах с фармацевтически приемлемыми растворителями, такими как вода, этанол и т.п. Предполагается, что сольватированные формы соединений, представленных в настоящем патенте, также охвачены настоящим описанием.

Соединения, соответствующие формуле D, в неокисленной форме могут быть получены из N-оксидов соединений формулы D путем обработки восстановителем, таким как, без ограничений, сера, диоксид серы, трифенилфосфин, борогидрид лития, борогидрид натрия, трихлорид фосфора, трибромид или т.п., в подходящем инертном органическом растворителе, таком как, без ограничений, ацетонитрил, этанол, водный диоксан или т.п. при температуре от 0 до 80°C.

В некоторых воплощениях соединения, описанные в настоящем изобретении, получают в виде пролекарств. "Пролекарство" относится к агенту, который преобразуется в родственное лекарство *in vivo*. Пролекарства часто используют, поскольку в некоторых случаях их легче вводить, чем родительское соединение. Пролекарства, например, могут быть биодоступны при пероральном введении, тогда как соответствующее лекарство - нет. Пролекарство может также обладать лучшей растворимостью в фармацевтических композициях, по сравнению с родственным лекарством. Например, без ограничений, пролекарством может являться соединение, описанное в настоящем патенте, которое вводят в виде сложного эфира ("пролекарство") для облегчения транспорта через мембрану клетки, где водорастворимость отрицательно влияет на подвижность, но которое затем, оказавшись в клетке, где водорастворимость является преимуществом, преобразуется в результате метаболического гидролиза в карбоновую кислоту, активную молекулу. Дополнительным примером пролекарства может являться короткий пептид (полиаминокислота), присоединенный к кислотной группе, при этом пептид метаболизируется с образованием активной группы. В некоторых воплощениях при введении *in vivo* пролекарство химическим путем преобразуется в биологически, фармацевтически или терапевтически активную форму соединения. В некоторых воплощениях пролекарство метаболизируется под действием ферментов в ходе одной или более стадий или процессов в биологически, фармацевтически или терапевтически активную форму соединения. Для получения пролекарства фармацевтически активное соединение модифицируют таким образом, что активное соединение восстанавливается при введении *in vivo*. Пролекарство может быть

предназначено для изменения метаболической стабильности или транспортных свойств лекарства, для маскировки побочных эффектов или токсичности, для улучшения вкуса лекарства или для изменения других характеристик или свойств лекарства. Располагая данными о фармакодинамике и метаболизме лекарственного средства *in vivo*, специалист в данной области может разработать пролекарство соединения, если фармацевтически активное соединение известно (см., например, Nogrady (1985), *Medicinal Chemistry A Biochemical Approach*, Oxford University Press, New York, p. 388-392; Silverman (1992), *The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action*, Academic Press, Inc., San Diego, p. 352-401, Saulnier et al. (1994), *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. Vol. 4, p. 1985).

Формы пролекарств соединений, описанных в настоящем патенте, в которых пролекарство метаболизируется *in vivo* с образованием производного, как описано в настоящем документе, включены в область формулы изобретения. В некоторых случаях отдельные из описанных в настоящем патенте соединения могут представлять собой пролекарство для другого производного или активного соединения.

Пролекарства часто используют, поскольку в некоторых случаях их легче вводить, чем соответствующие лекарства. Пролекарства, например, могут обладать биодоступностью при пероральном введении, тогда как соответствующее лекарство - нет. Пролекарство может также обладать лучшей растворимостью в фармацевтических композициях, по сравнению с соответствующим лекарством. Пролекарства могут быть созданы в виде обратимых производных лекарства для применения с целью улучшения доставки лекарства в конкретный участок ткани. В некоторых вариантах реализации создание пролекарств увеличивает эффективную растворимость в воде. См., например, работы Fedorak et al., *Am. J. Physiol.*, 269:G210-218 (1995); McLoed et al., *Gastroenterol.*, 106:405-413 (1994); Hochhaus et al., *Biomed. Chrom.*, 6:283-286 (1992); J. Larsen and H. Bundgaard, *Int. J. Pharmaceutics*, 37, 87 (1987); J. Larsen et al., *Int. J. Pharmaceutics*, 47, 103 (1988); Sinkula et al., *J. Pharm. Sci.*, 64:181-210 (1975); T. Higuchi and V. Stella, *Prodrugs as Novel Delivery Systems*. Vol. 14 of the A.C.S. Symposium Series и Edward B. Roche, *Bioreversible Carriers in Drug Design*, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, включенные в описание посредством ссылки в полном объеме.

Сайты на участке ароматического кольца соединений, соответствующих формуле D, могут вступать в различные метаболические реакции, следовательно, введение подходящих заместителей в структуру ароматического кольца, таких как, только в качестве примера галогены, может уменьшить, минимизировать или подавить такой метаболический путь.

Соединения, описанные в настоящем изобретении, включают меченные изотопами соединения, которые идентичны соединениям, указанным в различных формулах и структурах, представленных в описании, за исключением того, что один или более атом заменен атомом, имеющим атомную массу или массовое число, отличное от атомной массы или массового числа, характерного для природной формы соединения. Примеры изотопов, которые могут быть включены в настоящие соединения, включают изотопы водорода, углерода, азота, кислорода, фтора и хлора, такие как  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{36}\text{Cl}$  соответственно. Некоторые меченные изотопами соединения, описанные в настоящем изобретении, например соединения, в которые введены радиоактивные изотопы, такие как  $^3\text{H}$  и  $^{14}\text{C}$ , применимы для анализа тканевой локализации лекарственного средства и/или субстрата. Кроме того, замена на изотопы, такие как дейтерий, т.е.  $^2\text{H}$ , может обеспечивать некоторые терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, например увеличением периода полураспада *in vivo* или снижением необходимой дозировки.

В дополнительных или дальнейших воплощениях соединения, описанные в настоящем изобретении, метаболизируются при введении организму, нуждающемуся в этом, с образованием метаболита, который затем оказывает желаемый эффект, в том числе желаемый терапевтический эффект.

Соединения, описанные в настоящем изобретении, могут быть получены в виде и/или их можно применять в виде фармацевтически приемлемых солей. Типы фармацевтически приемлемых солей включают следующие, но не ограничены ими:

(1) соли присоединения кислот, образованные при взаимодействии соединения в форме свободного основания с фармацевтически приемлемой неорганической кислотой, такой как соляная, бромистоводородная, серная, азотная, фосфорная, метафосфорная кислоты и т.п.; или с органической кислотой, такой как уксусная, пропионовая, капроновая, циклопентанпропионовая, гликолевая, пировиноградная, молочная, малоновая, янтарная, яблочная, малеиновая, фумаровая, трифторуксусная, винная, лимонная, бензойная, 3-(4-гидроксibenзоил)бензойная, коричная, миндальная кислоты, метансульфокислота, этансульфокислота, 1,2-этандисульфокислота, 2-гидроксиэтандисульфокислота, бензолсульфокислота, толуолсульфокислота, 2-нафталинсульфокислота, 4-метилбизкло[2.2.2]окт-2-ен-1-карбоновая, глюкогептоновая, 4,4'-метилен-бис-3-гидрокси-2-ен-1-карбоновая, 3-фенилпропионовая, триметилуксусная, третбутилуксусная, лаурилсерная, глюконовая, глутаминовая, гидроксинафтойная, салициловая, стеариновая, муконовая кислоты и т.п.;

(2) соли, образованные либо при замещении кислого протона, присутствующего в родительском соединении, ионом металла, например ионом щелочного металла (например, лития, натрия, калия), ионом щелочно-земельного металла (например, магния или кальция) или ионом алюминия, либо при образовании координационной связи с органическим основанием.

Приемлемые органические основания включают этаноламин, диэаноламин, триэаноламин, трометамин, N-метилглюкамин и т.п. Приемлемые неорганические основания включают гидроксид алюминия, гидроксид кальция, гидроксид калия, карбонат натрия, гидроксид натрия и т.п.

Соответствующие противоионы фармацевтически приемлемых солей можно исследовать и идентифицировать с использованием различных методов, включая перечисленные, но не ограничиваясь ими: ионнообменную хроматографию, ионную хроматографию, капиллярный электрофорез, индукционное связывание плазмы, атомно-абсорбционную спектроскопию, масс-спектрометрию или любую их комбинацию.

Соли восстанавливают с применением по меньшей мере одной из следующих методик: фильтрация, осаждение с осадителем с последующей фильтрацией, выпариванием растворителя или в случае водных растворов лиофилизацией.

Следует понимать, что упоминание фармацевтически приемлемой соли включает формы аддитивной соли растворителем или их кристаллические формы, в частности сольваты или полиморфы. Сольваты содержат стехиометрическое или нестехиометрическое количество растворителя и могут быть образованы в ходе процесса кристаллизации с фармацевтически приемлемыми растворителями, такими как вода, этанол и т.п. Гидраты образуются в случае, если растворителем является вода, а алкоголяты образуются в случае, когда растворителем является спирт. Сольваты соединений, описанных в настоящем патенте, могут быть легко получены или образованы в способах, описанных в настоящем изобретении. Кроме того, соединения, предусмотренные настоящим изобретением, могут существовать в несольватированной, а также в сольватированной формах. В целом, сольватированные формы рассматриваются как эквивалент несольватированных форм при описании соединений и способов, предусмотренных настоящим изобретением.

Следует понимать, что упоминание соли включает ее аддукты с растворителем или кристаллические формы, в частности сольваты или полиморфы. Сольваты содержат либо стехиометрическое, либо нестехиометрическое количество растворителя и часто образуются в ходе процесса кристаллизации с фармацевтически приемлемыми растворителями, такими как вода, этанол и т.п. Гидраты образуются в случае, если растворителем является вода, а алкоголяты образуются в случае, если растворителем является спирт. Полиморфы включают кристаллы с различной структурой одинакового элементного состава соединения. Полиморфы, как правило, имеют различный характер рентгеновской дифракции, различные инфракрасные спектры, температуру плавления, различную плотность, твердость, кристаллическую форму, оптические и электрические свойства, стабильность и растворимость. Различные факторы, такие как растворитель для рекристаллизации, степень кристаллизации и температура хранения, могут обуславливать доминирование одной кристаллической формы.

Соединения, описанные в настоящем изобретении, могут быть представлены в различных формах, включая перечисленные, но не ограничиваясь ими: бесструктурные формы, молотые формы и наночастицы. Кроме того, описанные в настоящем изобретении соединения включают кристаллические формы, также известные как полиморфы. Полиморфы включают кристаллы с различной структурой и одинаковым элементным составом соединения. Различные факторы, такие как растворитель для рекристаллизации, степень кристаллизации и температура хранения, могут обуславливать доминирование одной из кристаллических форм.

Скрининг и определение характеристик фармацевтически приемлемых солей, полиморф и/или сольватов можно осуществлять рядом методов, включая перечисленные, но не ограничиваясь ими: термический анализ, рентгено-дифракционный метод, спектроскопию, сорбцию пара и микроскопию. Термические методы анализа направлены на исследование термохимического разложения или термофизических процессов, включая, но не ограничиваясь, полиморфные переходы, и такие методы применяют для анализа связи между полиморфными формами, определения потери в массе, для нахождения температуры стеклования или исследования совместимости с наполнителем. Такие способы включают, без ограничения, дифференциальную сканирующую калориметрию (ДСК), модулирующую дифференциальную сканирующую калориметрию (МДСК), термогравиметрический анализ (ТГА), термогравиметрический и инфракрасный анализ (ТГ/ИК). Кристаллографические методы включают перечисленные, но не ограничиваются ими: монокристаллические и порошковые дифрактометры и синхротронные источники. Различные используемые спектроскопические методы включают перечисленные, но не ограничены ими: определение спектра Рамана (комбинационного рассеяния), FTIR, UVIS и ЯМР (жидкого и твердого состояния). Различные методы микроскопии включают перечисленные, но не ограничены ими: микроскопию в поляризованном свете, сканирующую электронную микроскопию (СЭМ) с рентгеновским анализом методом энергетической дисперсии (EDX), сканирующую электронную микроскопию в режиме естественной среды с EDX (в атмосфере газа или водяного пара), ИК-микроскопию и микроскопию комбинационного рассеяния.

Все описанные группы и их заместители могут быть выбраны специалистом в данной области для обеспечения стабильных групп и соединений.

Фармацевтические композиции/препараты.

Фармацевтические композиции могут быть получены стандартными методами с использованием одного или более физиологически приемлемых носителей, включая наполнитель и вспомогательное вещество, облегчающее процесс переработки активных соединений в составы, которые можно применять в фармацевтике. Подходящие составы зависят от выбранного пути введения. Можно применять любые из подходящих методик, носителей и наполнителей, известных специалистам в данной области. Краткое описание сущности фармацевтических композиций, описанных в настоящем патенте, можно найти, например, в руководствах Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Nineteenth Ed (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania, 1975; Liberman, H.A. and Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980 and Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Seventh Ed. (Lippincott Williams & Wilkins, 1999), включенных в описание посредством ссылки в полном объеме.

Фармацевтическая композиция в настоящем изобретении относится к смеси соединения, описанного в настоящем документе, такого как, например, соединения, соответствующего формуле D, с другими химическими компонентами, такими как носители, стабилизаторы, растворители, диспергирующие агенты, суспендирующие агенты, загустители и/или эксципиенты. Фармацевтическая композиция облегчает введение соединения в организм. При реализации на практике способов лечения или применения, предусмотренных настоящим изобретением, терапевтически эффективные количества соединений, описанных в настоящем изобретении, вводят в фармацевтической композиции млекопитающему, имеющему заболевание, нарушение или состояние, подлежащее лечению. В предпочтительном варианте млекопитающее представляет собой человека. Терапевтически эффективное количество может варьировать в широком диапазоне в зависимости от степени тяжести заболевания, возраста и состояния здоровья субъекта, эффективности применяемого соединения и других факторов. Соединения можно применять в отдельности или в комбинации с одним или более терапевтическими агентами в качестве компонентов смесей.

В некоторых воплощениях композиции могут также включать один или более агентов, регулирующих pH, или буферных агентов, включая кислоты, такие как уксусная, борная, лимонная, молочная, фосфорная и соляная кислоты; основания, такие как гидроксид натрия, фосфат натрия, борат натрия, цитрат натрия, ацетат натрия, лактат натрия и трис-гидроксиметиламинометан; и буферы, такие как цитрат/декстроза, гидрокарбонат натрия и хлорид аммония.

Такие кислоты, основания и буферы вводят в состав композиции в количестве, необходимом для поддержания pH композиции в приемлемом диапазоне.

В других воплощениях композиции могут также включать одну или более солей в количестве, необходимом для обеспечения осмоляльности композиции в приемлемом диапазоне. Такие соли включают соли, содержащие катионы натрия, калия или аммония и анионы хлорида, цитрат, аскорбат, борат, фосфат, бикарбонат, сульфат, тиосульфат или бисульфит; подходящие соли включают хлорид натрия, хлорид калия, тиосульфат натрия, бисульфит натрия и сульфат аммония.

Термин "фармацевтическая комбинация" в настоящем изобретении обозначает продукт, который получают путем смешивания или объединения более чем одного активного компонента, и включает как фиксированные, так и нефиксированные комбинации активных компонентов.

Термин "фиксированная комбинация" означает, что активные компоненты, например соединения, описанные в настоящем изобретении, и сопутствующий агент одновременно вводят пациенту в форме единого объекта или дозировки.

Термин "нефиксированная комбинация" означает, что активные компоненты, например соединение, описанное в настоящем изобретении, и сопутствующий агент вводят пациенту в виде отдельных объектов либо одновременно, либо параллельно, либо последовательно без конкретных временных ограничений, при этом такое введение обеспечивает эффективный уровень двух соединений в организме пациента. Последний тип композиций включает также "терапевтический коктейль", например введение трех или более активных компонентов.

Фармацевтические композиции, описанные в настоящем изобретении, можно вводить объекту различными путями введения, включая перечисленные, но не ограничиваясь ими: пероральное, парентеральное (например, внутривенное, подкожное, внутримышечное), интраназальное, буккальное, местное, ректальное или трансдермальное введение. Описанные в настоящем документе фармацевтические композиции включают, но не ограничиваются ими, водные жидкие дисперсии, самоэмульгирующие дисперсии, твердые растворы, дисперсии липосом, аэрозоли, твердые лекарственные формы, порошки, составы с немедленным высвобождением, составы с контролируемым высвобождением, быстротающие составы, таблетки, капсулы, пилюли, составы с замедленным высвобождением, составы с пульсирующим высвобождением, составы в форме мультипартикулята и смешанные составы с немедленным и контролируемым высвобождением.

Фармацевтические композиции, включающие соединения, описанные в настоящем изобретении, могут быть получены стандартными способами, например только в качестве примера, с помощью процессов стандартного смешивания, растворения, гранулирования, дражирования, порошкования, эмульгирования, инкапсулирования, "внедрения" или прессования.

Фармацевтические композиции содержат по меньшей мере одно соединение, описанное в настоящем изобретении, такое как, например, соединение, соответствующее формуле D в качестве активного компонента в форме свободной кислоты или свободного основания или в форме фармацевтически приемлемой соли. Кроме того, способы и фармацевтические композиции, описанные в настоящем изобретении, включают применение N-оксидов, кристаллических форм (также известных как полиморфы), а также активных метаболитов таких соединений, обладающих активностью того же типа. В некоторых случаях соединения могут существовать в виде таутомеров. Все таутомеры охвачены соединениями, представленными в настоящем описании. Кроме того, соединения, описанные в настоящем изобретении, могут существовать в несольватированной, а также в сольватированной формах с фармацевтически приемлемыми растворителями, такими как вода, этанол и т.п. Предполагается, что сольватированные формы соединений, представленных в настоящем описании, также раскрыты в настоящем изобретении.

"Противовспенивающие агенты" уменьшают вспенивание в процессе обработки, которое может приводить к коагуляции водных дисперсий, образованию пузырей в конечной оболочке или в целом к ухудшению процесса обработки. Примеры противовспенивающих агентов включают силиконовые эмульсии или сорбит сесквиолеат.

"Антиоксиданты" включают, например, бутилированный гидрокситолуол (БГТ), аскорбат натрия, аскорбиновую кислоту, метабисульфит натрия и токоферол. В некоторых воплощениях антиоксиданты повышают химическую стабильность, если это необходимо.

В некоторых воплощениях композиции, предусмотренные настоящим изобретением, могут также включать один или более консервант для подавления микробной активности. Подходящие консерванты включают ртутьсодержащие вещества, такие как мерфен и тиомерсал; стабилизированный диоксид хлора; четвертичные аммониевые соединения, такие как бензалконий хлорид, цетилтриметиламмония бромид и цетилпиридиний хлорид.

Составы, описанные в настоящем изобретении, могут быть улучшены с помощью антиоксидантов, металл-хелатирующих агентов, тиолсодержащих соединений и других общих стабилизирующих агентов. Примеры таких стабилизирующих агентов включают, но не ограничиваются ими: (а) глицерин - примерно 0,5-2% мас./об.; (б) метионин - примерно 0,1-1% мас./об.; (в) моноглицерин - примерно 0,1-2% мас./об.; (г) ЭДТА - примерно 1-10 мМ; (д) аскорбиновая кислота - примерно 0,01-2% мас./об.; (е) полисорбат-80 - примерно 0,003-0,02% мас./об.; (ж) полисорбат-20 - примерно 0,001-0,05% мас./об.; (з) аргинин; (и) гепарин; (к) декстрансульфат; (л) циклодекстрины; (м) пентозанполисульфат и другие гепариноиды; (н) бивалентные катионы, такие как магний и цинк; или (о) их комбинации.

"Связующие агенты" сообщают когезионные свойства и включают, например, альгиновую кислоту и ее соли, целлюлозные производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза (например, Methocel®), гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксиэтилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза (например, Klucel®), этилцеллюлоза (например, Ethocel®) и микрокристаллическая целлюлоза (например, Avicel®), микрокристаллическая декстроза, амилоза, алюмосиликат магния, полисахаридные кислоты, бентониты, желатин, сополимер поливинилпирролидон/винил ацетат, кросповидон, повидон, крахмал, желатинированный крахмал, трагакант, декстрин, сахар, такой как сахароза (например, Dірас®, глюкоза, декстроза, патока, маннитол, сорбитол, ксилитол (например, Xylitab®), и лактоза, природную или синтетическую камедь, такую как гуммиарабик, трагакант, камедь гхатти, клейковину лузги (isapol husks), поливинилпирролидон (например, Polyvidone® CL, Kollidon® CL, Polyplasdone® XL-10), арабогалактан лиственницы, Veegum®, полиэтиленгликоль, воск, аглинат натрия и т.п.

"Носитель" или "вещество-носитель" включает любые стандартные наполнители, применяемые в фармацевтике, и его выбирают на основании совместимости с соединениями, раскрытыми в настоящем изобретении, такими как, например, соединения, соответствующие формуле D, и особенностей характера высвобождения желаемой дозированной формы. Примеры веществ-носителей включают, например, связующие вещества, суспендирующие агенты, дезинтегрирующие агенты, наполнители, поверхностно-активные вещества, солюбилизаторы, стабилизаторы, скользящие вещества, увлажняющие агенты, растворители и т.п. "Фармацевтически совместимые вещества-носители" могут включать, но не ограничены ими, гуммиарабик, желатин, коллоидный диоксид кремния, глицерофосфат кальция, лактат кальция, мальтодекстрин, глицерин, силикат магния, поливинилпирролидон (ПВП), холестерол, холестероловые эфиры, казеинат натрия, соевый лецитин, таурохолевая кислота, фосфатидилхолин, хлорид натрия, трехкальциевый фосфат, дикалиевый фосфат, целлюлоза и конъюгаты целлюлозы, сахара стеариллактат натрия, каррагенан, моноглицерид, диглицерид, желатинированный крахмал и т.п. См., например, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Nineteenth Ed. (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania, 1975; Liberman, H.A. and Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980 and Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Seventh Ed. (Lippincott Williams & Wilkins, 1999).

"Диспергирующие агенты" и/или "агенты, модулирующие вязкость" включают вещества, которые контролируют диффузию через жидкую среду и однородность лекарственного средства, или метод гра-

нуляции, или метод смешивания. В некоторых воплощениях такие агенты также облегчают эффективность нанесения покрытия или разрушения матрикса. Примеры веществ, облегчающих диффузию/диспергирующих агентов, включают, например, гидрофильные полимеры, электролиты, Tween®-60 или -80, ПЭГ, поливинилпирролидон (ПВП; известный на рынке как Plasdone®) и основанные на углеводах диспергирующие агенты, такие как, например, гидроксипропилцеллюлозы (например, ГПЦ, ГПЦ-SL и ГПЦ -L), гидроксипропилметилцеллюлозы (например, ГПМЦ K100, ГПМЦ K4M, ГПМЦ K15M и ГПМЦ K100M), карбоксиметилцеллюлоза натрия, метилцеллюлоза, гидроксиэтилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлозы фталат, гидроксипропилметилцеллюлозы ацетата стеарат (ГПМЦАС), некристаллическая целлюлоза, алюмосиликат магния, триэтаноламин, поливинило-вый спирт (ПВС), сополимер винилпирролидон/винилацетат (S630), полимер 4-(1,1,3,3-тетраметил-бутил)фенола с этиленоксидом и формальдегидом (также известный как тилоксапол), полоксамеры (например, F68®, F88® и P108®, представляющие собой блок-сополимеры этиленоксида и пропиленоксида) и полоксамины (например, Tetronic 908®, также известный как Poloxamine 908®, представляющий собой тетрафункциональные блок-сополимеры, полученные при последовательном добавлении пропиленоксида и этиленоксида к этилендиамину (BASF Corporation, Parsippany, NJ.)), поливинилпирролидон K12, поливинилпирролидон K17, поливинилпирролидон K25 или поливинилпирролидон K30, сополимер поливинилпирролидон/винилацетат (S-630), полиэтиленгликоль, например полиэтиленгликоль может иметь молекулярный вес примерно от 300 до примерно 6000, или примерно от 3350 до примерно 4000, или примерно от 7000 до примерно 5400, натрия карбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, полисорбат-80, натрия альгинат, камеди, такие как, например, камедь трагаканта и камедь акации, гуаровая камедь, ксантаны, в том числе ксантановая камедь, сахара, целлюлозные полимеры, такие как, например, натрия карбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, натрия карбоксиметилцеллюлоза, полисорбат-80, натрия альгинат, полиэтоксилированный сорбитан монолаурат, полиэтоксилированный сорбитан монолаурат, повидон, карбомеры, поливиниловый спирт (ПВС), альгинаты, хитозаны и их комбинации. Пластифицирующие вещества, такие как целлюлоза или триэтилцеллюлоза, также можно применять как диспергирующие агенты. Диспергирующими агентами, в частности, применяемыми в липосомальных дисперсиях и самоэмульгирующих дисперсиях, являются димиристоилфосфатидилхолин, природный фосфатидилхолин из яиц, природный фосфатидилглицерол из яиц, холестерол и изопропил мириститат.

В композициях согласно настоящему изобретению также можно применять комбинацию одного или более агентов, облегчающих вымывание/разрушение, с одним или более агентом, облегчающим диффузию.

Термин "разбавитель" относится к химическим соединениям, которые применяют для разбавления представляющего интерес соединения перед доставкой. Разбавители также можно применять для стабилизации соединений, поскольку они могут обеспечить более стабильную среду. Соли, растворенные в буферных растворах (которые также могут обеспечивать контроль или поддержание pH), применяемые в качестве разбавителей в данной области, включают, но не ограничены ими, фосфатно-солевой буферный раствор. В некоторых воплощениях разбавители увеличивают объем композиции для облегчения прессования или создания массы, достаточной для гомогенной смеси для наполнения капсул. Такие соединения включают, например, лактозу, крахмал, маннитол, сорбитол, декстрозу, микрокристаллическую целлюлозу, например Avicel®, двухосновный фосфат кальция, двухкальциевый фосфат дигидрат, трехкальциевый фосфат, фосфат кальция, безводную лактозу, высушенную распылением лактозу, желатинированный крахмал, сжимаемый сахар, например Di-Pac® (Amstar), маннитол, гидроксипропилметилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозы ацетата стеарат, основанные на сахарозе растворители, кондитерский сахар, одноосновный кальций сульфата моногидрат, кальция сульфата дигидрат, кальция лактата тригидрат, декстраты, гидролизированные твердые вещества хлебных злаков, амилозу, порошоквую целлюлозу, карбонат кальция, глицин, каолин, маннитол, хлорид натрия, инозитол, бентонит и т.п.

Термин "дезинтегрировать" включает как растворение, так и диспергирование лекарственной формы при взаимодействии с желудочно-кишечным соком. "Дезинтегрирующие агенты или дезинтеграторы" облегчают распад или дезинтеграцию веществ. Примеры дезинтегрирующих агентов включают крахмал, например природный крахмал, такой как крахмал зерновых или картофельный крахмал, желатинированный крахмал, такой как, например, National 1551 или Amijel®, или натрия крахмалгликолят, такой как Promogel® или Explotab®, целлюлоза, например древесный продукт, метилкристаллическая целлюлоза, Avicel®, Avicel® PH101, Avicel® PH102, Avicel® PH105, Elcema® P100, Emcocel®, Vivacel®, Ming Tia® и Solka-Floc®, метилцеллюлозу, кроскармеллозу или перекрестно сшитую целлюлозу, например перекрестно сшитую натрий-карбоксиметилцеллюлозу (Ac-Di-Sol®), перекрестно сшитую карбоксиметилцеллюлозу или перекрестно сшитую кроскармеллозу, перекрестно сшитый крахмал, например натрия крахмалгликолят, перекрестно сшитый полимер, такой как кросповидон, перекрестно сшитый поливинилпирролидон, альгинат, например альгиновую кислоту или соль альгиновой кислоты, например натрия альгинат, глину, например Veegum® HV (алюмосиликат магния), камедь, например агар, гуаровую камедь, камедь рожкового дерева, камедь Карайи, пектин или трагакант, натрия крахмалгликолят, бентонит, природную губку, поверхностно-активное вещество, смолу, например катионо-

обменную смолу, мякоть цитруса, натрия лаурилсульфат, натрия лаурилсульфат в комбинации с крахмалом и т.п.

"Всасывание лекарственного средства" или "поглощение" обычно относится к процессу транспорта лекарственного средства из области введения через барьер в кровеносный сосуд или участок действия, например лекарство транспортируется из желудочно-кишечного тракта в воротную вену или лимфатическую систему.

"Покрытие, растворяющееся в кишечнике" представляет собой вещество, которое сохраняется в значительной степени неповрежденным в желудке, но растворяется и высвобождает лекарство в тонкой кишке или толстой кишке. Как правило, такое покрытие включает полимерное вещество, которое препятствует высвобождению в среде с низкими значениями pH в желудке, но которое ионизируется при более высоких значениях pH, обычно pH 6-7 и, таким образом, растворяется в тонкой кишке или толстой кишке в достаточной степени для высвобождения активного агента.

"Агенты, усиливающие разрушение/распад" включают вещества, которые регулируют разрушение конкретного вещества в желудочно-кишечном соке. Агенты, усиливающие эрозию, в целом известны специалистам в данной области. Примеры агентов, усиливающих разрушение, включают, в частности, гидрофильные полимеры, электролиты, белки, пептиды и аминокислоты.

"Наполнители" включают соединения, такие как лактоза, карбонат кальция, фосфат кальция, двухосновный фосфат кальция, сульфат кальция, микрокристаллическая целлюлоза, порошок целлюлозы, декстроза, декстраты, декстран, крахмалы, желатинированный крахмал, сахароза, ксилитол, лактилол, маннитол, сорбитол, хлорид натрия, полиэтиленгликоль и т.п.

"Ароматизаторы" и/или "подсластители", применяемые в препаратах, описанных в настоящем патенте, включают, например, сироп акации, ацесульфам калия, алитам, анис, яблоко, аспартам, банан, баварские сливки, ягоды, черную смородину, ириски, цитрат кальция, камфору, карамель, вишню, вишню со сливками, шоколад, корицу, "жевательную резинку", цитрус, цитрусовый пунш, цитрусовые сливки, "сахарную вату", какао, колу, свежую вишню, свежий цитрус, цикламат, циламат, декстрозу, эвкалипт, эвгенол, фруктозу, фруктовый пунш, имбирь, глицирретинат, сироп солодки (лакрица), виноград, грейпфрут, мед, изомальт, лимон, лайм, лимон со сливками, моноаммоний глицирризинат (MagnaSweet®), мальтол, маннитол, клен, алтей, ментол, мяту со сливками, смесь ягод, неогесперидин DC, неотам, апельсин, грушу, персик, перечную мяту, перечную мяту со сливками, порошок Prosweet®, малину, рутбир, ром, сахарин, сафрол, сорбитол, зеленую мяту, зеленую мяту со сливками, землянику, землянику со сливками, стевию, сукралозу, сахарозу, сахарин натрия, сахарин, аспартам, ацесульфам калия, маннитол, талин, силитол, сукралозу, сорбитол, швейцарские сливки, тагатозу, мандарин, тауматин, "тутти-фрутти", ваниль, грецкий орех, арбуз, дикую вишню, гаультерию, ксилитол или любую комбинацию таких ароматизаторов, например анис-ментол, вишня-анис, корица-апельсин, вишня-корица, шоколад-мята, мед-лимон, лимон-лайм, лимон-мята, ментол-эвкалипт, апельсин-сливки, ваниль-мята и их смеси.

"Смазывающие вещества" и "глиданты" представляют собой соединения, которые предотвращают, уменьшают или ингибируют прилипание/адгезию или трение веществ. Примеры смазывающих веществ включают, в частности, стеариновую кислоту, кальция гидроксид, тальк, натрия стеарифумерат, углеводороды, например минеральное масло или гидрогенизированное растительное масло, например гидрогенизированное соевое масло (Sterotex®), высшие жирные кислоты и соли щелочных металлов и щелочно-земельных металлов, таких как алюминий, кальций, магний, цинк, стеариновая кислота, натрия стеараты, глицерол, тальк, воск, Stearowet®, борная кислота, натрия бензоат, ацетат натрия, хлорид натрия, лейцин, полиэтиленгликоль (например, ПЭГ 4000) или метоксиполиэтиленгликоль, как, например, Carbowax™, натрия олеат, натрия бензоат, глицерилбегенат, полиэтиленгликоль, магний или натрийлаурилсульфат, коллоидный кремнезем, такой как Syloid™, Cab-O-Sil®, крахмал, например зерновой крахмал, силиконовое масло, поверхностно-активное вещество и т.п.

"Измеримая концентрация в сыворотке" или "измеримая концентрация в плазме" описывает концентрацию в сыворотке крови или плазме крови, обычно измеряемую в мг, мкг или нг терапевтического агента на 1 мл, 1 дл или 1 л сыворотки крови, поступающую в кровоток после введения. В данном описании измеримую концентрацию в плазме обычно измеряют в нг/мл мкг/мл.

"Фармакодинамика" относится к факторам, которые определяют биологический ответ, наблюдаемый в зависимости от концентрации лекарственного средства в месте его действия.

"Фармакокинетика" относится к факторам, которые определяют достижение и поддержание соответствующих концентраций лекарственного средства в месте действия.

"Пластификаторы" представляют собой соединения, используемые для смягчения материала, используемого для микроинкапсуляции, и покрывающей оболочки с целью уменьшения их хрупкости. К подходящим пластификаторам относятся, например, полиэтиленгликоль, например ПЭГ 300, ПЭГ 400, ПЭГ 600, ПЭГ 1450, ПЭГ 3350 и ПЭГ 800, стеариновая кислота, пропиленгликоль, олеиновая кислота, триэтилцеллюлоза и триацетин. В некоторых воплощениях пластификаторы также могут выступать в роли диспергирующих или увлажняющих агентов.

К "солюбилизаторам" относятся соединения, такие как триацетин, триэтилцитрат, этилолеат, этил-каприлат, лаурил сульфат натрия, докюзат натрия, витамин Е TPGS, диметилацетамид, N-метилпирролидон, N-гидроксиэтилпирролидон, поливинилпирролидон, гидроксипропилметил целлюлоза, гидроксипропил циклодекстрин, этанол, n-бутанол, изопропиловый спирт, холестерин, желчные соли, полиэтиленгликоль 200-600, гликофузол, транскутол, пропиленгликоль и диметилизосорбид и т.п.

К "стабилизаторам" относятся соединения, такие как антиоксиданты, буферы, кислоты, консерванты и т.п.

"Равновесное состояние" в настоящем изобретении означает, что в течение интервала между приемами лекарственного средства количество введенного вещества равно количеству выведенного вещества, что приводит к "плато" или постоянной концентрации лекарства в плазме крови.

К "суспендирующим агентам" относятся соединения, такие как поливинилпирролидон, например поливинилпирролидол K12, поливинилпирролидол K17, поливинилпирролидол K25 или поливинилпирролидол K30, сополимер винилпирролидон/винилацетат (S360), полиэтиленгликоль, например полиэтиленгликоль может иметь молекулярный вес примерно от 300 до 6000, или примерно от 3350 до 4000, или примерно от 700 до 5400, натрий-карбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксиметилцеллюлоза ацетат стеарат, полисорбат-80, гидроксиэтилцеллюлоза, натрий альгинат, смолы, такие как, например, смолы трагаканта и камедь, гуаровая смола, ксантаны, в том числе ксантановые смолы, сахара, полимеры на основе целлюлозы, такие как, например, натрий карбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, натрий карбоксиметилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, полисорбат-80, альгинат натрия, полиэтоксифирированный сорбит монолаурат, повидон и т.п.

К "поверхностно-активным веществам" относятся соединения, такие как, например, лаурил сульфат натрия, докюзат натрия, Tween-60 или -80, триацетин, витамин Е TPGS, моноолеат сорбита, полиоксиэтилен сорбитан моноолеат, полисорбаты, полноксомеры, желчные соли, глицерина моностеарат, сополимеры оксида этилена и оксида пропилена, например Pluronic (BASF), и т.п. К некоторым другим поверхностно-активным веществам относятся глицериды жирных кислот и растительных масел с полиоксиэтиленом, например полиоксиэтилена (60) и гидрогенизированного касторового масла, и алкилэферы полиэтоксифирированного оксида этилена и эфиры алкилфенилов, например октоксифирированный 10, октоксифирированный 40. В некоторых воплощениях ПАВ могут быть использованы с целью улучшения физической стабильности или с другими целями.

К "агентам, увеличивающим вязкость" относятся, например, метилированная целлюлоза, ксантановые смолы, карбоксиметилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлозный ацетат стеарат, гидроксипропилметилцеллюлозный фталат, карбомер, поливиниловый спирт, альгинаты, камедь, хитозаны и их комбинации.

К "увлажняющим агентам" относятся соединения, такие как олеиновая кислота, моностеарат глицерина, моноолеат сорбита, сорбитан монолаурат, триэтаноламин олеат, полиоксиэтилен сорбита моноолеат, полиоксиэтилен сорбита монолаурат, докюзат натрия, олеат натрия, лауриловый сульфат натрия, триацетин, Tween-80, витамин Е TPGS, соли аммония и т.п.

Лекарственные формы.

Описанные в настоящем изобретении композиции могут быть изготовлены в виде лекарственной формы для введения субъекту любым подходящим путем введения, включая, но не ограничиваясь, перорально, парентерально (например, внутривенно, через отверстия или внутримышечно), буккально, интраназально, ректально или подкожно. В настоящем описании термин "субъект" обозначает животное, предпочтительно млекопитающее, включая человека, и субъектов, не являющихся человеком. Термины "пациент" и "субъект" взаимозаменяемы.

Далее, описанные в настоящем изобретении фармацевтические композиции, содержащие соединения, соответствующее формуле D, могут быть изготовлены в виде любой подходящей лекарственной формы, включая следующие, но не ограничиваясь ими: водная дисперсия для перорального применения, жидкости, гели, сиропы, эликсиры, сиропы, суспензии и т.п.; для проглатывания пациентом, нуждающимся в лечении, твердой лекарственной формы для перорального применения, аэрозоля, композиции с контролируемым высвобождением, легкорастворимые композиции, шипучие композиции, сублимированные композиции, таблетки, порошки, пилюли, драже, капсулы, композиции с замедленным высвобождением, композиции с продолжительным высвобождением, композиции с неоднородным высвобождением, композиции, состоящие из множества частиц, и смеси из композиций с немедленным и контролируемым высвобождением.

Фармацевтические составы для перорального применения могут быть получены путем смешивания одного или более твердых наполнителей с одним или более описанных в настоящем изобретении соединений, возможно с помолотом полученной смеси и изготовлением смеси гранул, если это необходимо, с использованием подходящего оборудования, с получением таблеток или сердцевин драже. К подходящим наполнителям относятся, например, наполнители типа сахара, в том числе лактозы, сахарозы, маннитола или сорбитола; целлюлозные компоненты, такие как, например, зерновой крахмал, пшеничный крахмал, рисовый крахмал, картофельный крахмал, желатин, смола трагаканта, метилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, натрий-карбоксиметилцеллюлоза; и дру-

гие, такие как поливинилпирролидон (ПВП или провидон) или фосфат кальция. При желании, могут быть добавлены дезинтегрирующие агенты, такие как кроскармеллоза натрия, поливинилпирролидон, агар, альгиновая кислота или ее соль, например альгинат натрия.

Ядро драже подразумевает наличие оболочки. Для этой цели можно использовать концентрированный раствор сахара, возможно содержащий гуммиарабик, тальк, поливинилпирролидон, гель с карбополом, полиэтиленгликоль и/или диоксид титана, лакировочный раствор и подходящие смеси органических растворителей. В оболочку для таблеток или драже могут быть добавлены красители или пигменты с целью идентификации или характеристики различных комбинаций доз активного компонента.

К фармацевтическим препаратам, которые можно применять орально, относятся твердые желатиновые капсулы из двух частей, а также мягкие закрытые капсулы, изготовленные из желатина и пластификатора, такого как глицерин или сорбитол. Составные капсулы могут содержать активный ингредиент в смеси с наполнителем, таким как лактоза; связующими агентами, такими как крахмал; и/или лубрикантами, такими как тальк или стеарат магния; и, возможно, стабилизаторами. В мягких капсулах активный компонент может быть растворен или суспендирован в подходящих жидкостях, таких как жирные масла, жидкий парафин или жидкий полиэтиленгликоль. Кроме того, можно добавлять стабилизатор. Все композиции для перорального применения должны иметь форму, удобную для подобного применения.

В некоторых воплощениях описанная в настоящем изобретении твердая лекарственная форма может иметь форму таблетки (в том числе суспензионной таблетки, быстрорастворимой таблетки, таблетки, распадающейся на небольшие кусочки, быстрораспадающейся таблетки, шипучей таблетки или таблетки в виде капсулы), пилюли, порошка (в том числе стерильного расфасованного порошка, порошка для самостоятельного дозирования или шипучего порошка), капсулы (в том числе как мягкой, так и твердой капсулы, например капсулы, изготовленные из животного желатина или растительной НРМС, а также "брызгающие капсулы"), твердой дисперсии, твердого раствора, формы с легко разрушающейся оболочкой, композиции с контролируемым высвобождением, композиции с неоднородным высвобождением, лекарственной формы, состоящей из множества частиц, гранул или аэрозоля. В других воплощениях фармацевтическая композиция представлена в форме порошка. В некоторых других воплощениях фармацевтическая композиция представлена в форме таблетки, включая, но не ограничиваясь, быстрорастворимую таблетку. Кроме того, описанные в настоящем изобретении фармацевтические композиции можно вводить в одной или в нескольких капсулах. В некоторых воплощениях фармацевтическая композиция может быть введена в двух, трех или четырех капсулах или таблетках.

В некоторых воплощениях твердые лекарственные формы, например таблетки, шипучие таблетки и капсулы, изготавливают путем смешивания частиц соединения, соответствующего формуле D, с одним или более фармацевтических наполнителей до образования сыпучей однородной композиции. Когда эти сыпучие однородные композиции достигают гомогенности, это означает, что частицы соединения, соответствующего формуле D, равномерно распределены в композиции и композицию можно разделить на одинаково эффективные унифицированные единицы, например таблетки, пилюли и капсулы. Каждая отдельная единица лекарственной формы может также включать пленочное покрытие, которое разрушается при заглывании или при контакте с растворителем. Данные композиции могут быть произведены при помощи традиционных фармакологических методик.

К примерам традиционных фармакологических методик относятся, индивидуально или в комбинации, (1) сухое смешивание, (2) прямое прессование, (3) размол, (4) сухое или безводное гранулирование, (5) влажное гранулирование или (6) плавление. См. Lachman et al., *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy* (1986). К другим способам относятся, например, распылительная сушка, смазывание форм, гранулирование из расплава, сушка или заключение в оболочку в псевдооживленном слое (например, Wurster технология), тангенциальное нанесение покрытия, поверхностное распыление, таблетирование, штамповка и т.п.

Рассмотренные твердые фармацевтические лекарственные формы могут содержать описанное в изобретении соединение и одну или более фармацевтически приемлемых добавок, таких как сочетающийся носитель, связывающее вещество, агент-наполнитель, суспендирующий агент, ароматизирующее вещество, подсластитель, дезинтегрирующий агент, диспергирующий агент, поверхностно-активное вещество, лубрикант, краситель, растворитель, солиобилизатор, увлажняющий агент, пластификатор, стабилизатор, пропеллент, противовспенивающий агент, антиоксидант, консервант или любую их комбинацию. Согласно другому отличному аспекту применение стандартных процедур для нанесения покрытия, таких как описаны в *Remington's Pharmaceutical Sciences, 20<sup>th</sup> Edition* (2000), обеспечивает пленочное покрытие для композиций, содержащих соединение, соответствующее формуле D. В одном из вариантов реализации отдельные или все частицы соединения, соответствующего формуле D, покрыты оболочкой. В другом воплощении отдельные или все частицы соединения, соответствующего формуле D, являются микроинкапсулированными. В другом отличном воплощении частицы соединения, соответствующего формуле D, не микроинкапсулированы и не покрыты оболочкой.

Приемлемые носители для использования при изготовлении твердых лекарственных форм, описанных в настоящем патенте, включают перечисленные, но не ограничиваются ими: камедь, желатин, коллоидный диоксид кремния, глицерофосфат кальция, лактат кальция, мальтодекстрин, глицерин, магни-

вые силикаты, казеинат натрия, лектин сои, хлорид натрия, трикальцийфосфат, дикалийфосфат, стеариллактат натрия, каррагинин, моноглицерид, диглицерид, желатинированный крахмал, гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлозы ацетат стеарат, сахара, микрокристаллическая целлюлоза, лактоза, маннитол и т.п.

Приемлемые наполнители, пригодные для применения при изготовлении твердых лекарственных форм, описанных в настоящем патенте, включают перечисленные, но не ограничиваются ими: лактоза, карбонат кальция, фосфат кальция, гидроортофосфат кальция, сульфат кальция, микрокристаллическая целлюлоза, целлюлозный порошок, декстроза, декстраты, декстран, крахмалы, желатинированный крахмал, гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ), фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, ацетат стеарат гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦАС), сахара, ксилитол, лактитол, маннитол, сорбитол, хлорид натрия, полиэтиленгликоль и т.п.

Для высвобождения соединения, соответствующего формуле D, из содержимого твердой лекарственной формы с наибольшей эффективностью в состав композиции часто включают дезинтеграторы, особенно в тех случаях, если лекарственная форма получена прессованием. Дезинтеграторы способствуют разрушению содержимого твердой лекарственной формы благодаря набуханию или капиллярным эффектам, когда лекарственная форма впитывает влагу. Подходящие для использования при изготовлении твердых лекарственных форм, описанных в настоящем патенте, в дезинтеграторе включают перечисленные, но не ограничиваются ими: природный крахмал, такой как зерновой крахмал или картофельный крахмал, желатинированный крахмал, такой как National 1551 или Amijel®, или натрия крахмалгликолят, такой как Promogel® или Explotab®, целлюлоза, например, полученная из древесины, метилированная кристаллическая целлюлоза, например Avicel®, Avicel® PH101, Avicel® PH102, Avicel® PH105, Elcerna® P100, Emcocel®, Vivacel®, Ming Tia® и Solka-Floc, метилцеллюлоза, кроскармеллоза или поперечно сшитая целлюлоза, такая как поперечно сшитая натрий карбоксиметилированная целлюлоза (Ac-Di-Sol®), поперечно сшитая карбоксиметилированная целлюлоза или поперечно сшитая кроскармеллоза, поперечно сшитый крахмал, такой как натрия крахмалгликолят, поперечно сшитый полимер, такой как кросповидон, поперечно сшитый поливинилпирролидон, альгинат, такой как альгиновая кислота или соль альгиновой кислоты, такой как альгинат натрия, глина, такая как Veegum® HV (силикат магния алюминия), смолы, такие как агар, гуар, плоды рожкового дерева, карайи, пектина или трагакант, натрия крахмалгликолят, бентонит, природная губка, поверхностно-активное вещество, смолы, такие как катионообменные смолы, цитрусовая пульпа, лауриловый сульфат натрия, лауриловый сульфат натрия вместе с крахмалом и т.п.

Связывающие агенты придают композициям в твердой лекарственной форме для перорального применения когезионные свойства: способствуют формированию массы порошковых композиций для заполнения капсул, которая может быть помещена в твердую или мягкую оболочку капсулы, а при изготовлении таблеток они обеспечивают целостность таблеток после прессования, также они помогают контролировать однородность смеси до начала процесса прессования или заполнения. Материалы, приемлемые для применения в качестве связывающих агентов в описанных в настоящем патенте твердых лекарственных формах, включают перечисленные, но не ограничиваются ими: карбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза (например, Methocel®), гидроксипропилметилцеллюлоза (например, Hypromellose USP Pharmscoat-603), ацетат стеарат гидроксипропилметилцеллюлозы (Aqoate HS-LF и HS), гидроксипропилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза (например, Klucel®), этилцеллюлоза (например, Ethocel®) и микрокристаллическая целлюлоза (например, Avicel®), микрокристаллическая декстроза, амилоза, силикат магния алюминия, полисахаридные кислоты, бентониты, желатин, сополимеры поливинилпирролидона/винилового ацетата, кросповидон, повидон, крахмал, желатинированный крахмал, трагакант, декстрин, сахара, как, например, сахара (например, Dīrac®), глюкоза, декстроза, меласса, маннитол, сорбитол, ксилитол (например, Xylitab®), лактоза, натуральная или синтетическая смола, такая как камедь, трагакант, камедь Ghatti, клейковина шелухи, крахмал, поливинилпирролидон (например, Povidone® CL, Kollidon® CL, Polyplasdone® XL-10 и Povidone® K20), листовница арабогалактан, Veegum®, полиэтиленгликоль, воск, альгинат натрия и т.п.

Как правило, в составах в форме желатиновых капсул с порошковым наполнителем содержание связующего вещества составляет 20-70%. Содержание связующего вещества в составах в форме таблеток варьирует в зависимости от использования прямого прессования, влажной грануляции либо роликового уплотнения или использования других наполнителей, таких как наполнители, которые сами могут действовать как умеренные связующие агенты. Специалист по разработке рецептур может определить необходимое содержание связующего вещества в составах, но в целом в препаратах в виде таблеток обычно используют содержание связующего вещества до 70%.

Подходящие смазывающие вещества или глянцанты для применения в твердых дозированных формах, описанных в настоящем патенте, включают, но не ограничены перечисленными, стеариновую кислоту, кальция гидроксид, тальк, зерновой крахмал, стеарилфумерат натрия, соли щелочных металлов и щелочно-земельных металлов, таких как алюминий, кальций, магний, цинк, стеариновую кислоту, стеараты натрия, стеарат магния, стеарат цинка, воск, Stearowet®, борную кислоту, бензоат натрия, ацетат

натрия, хлорид натрия, лейцин, полиэтиленгликоль или метоксиполиэтиленгликоль, например Carbowax™, ПЭГ 4000, ПЭГ 5000, ПЭГ 6000, пропиленгликоль, олеат натрия, глицерил бегенат, глицерил пальмитостеарат, глицерил бензоат, магния или натрия лаурилсульфат и т.п.

Подходящие разбавители для применения в твердых дозированных формах, описанных в настоящем патенте, включают, но не ограничены перечисленными, сахара (в том числе лактозу, сахарозу и декстрозу), полисахариды (в том числе декстраты и мальтодекстрин), полиолы (в том числе маннитол, ксилитол и сорбитол), циклодекстрины и т.п.

Термин "не растворимый в воде разбавитель" обозначает соединения, которые обычно применяют в приготовлении фармацевтических составов, таких как фосфат кальция, сульфат кальция, крахмалы, модифицированные крахмалы, микрокристаллическая целлюлоза и микроцеллюлоза (например, имеющая плотность около 0,45 г/см<sup>3</sup>, например, Avicel, порошковая целлюлоза) и тальк.

Подходящие увлажняющие агенты для применения в твердых лекарственных формах, описанных в настоящем патенте, включают, например, олеиновую кислоту, глицерил моностеарат, сорбитан моноолеат, сорбитан монолаурат, триэтанолламин олеат, полиоксиэтилен сорбитан моноолеат, полиоксиэтилен сорбитан монолаурат, четвертичные аммонийные соединения (например, Polyquat 10®), натрий олеат, натрий лаурил сульфат, магния стеарат, натрия докузат, триацетин, витамин Е TPFS и т.п.

Поверхностно-активные вещества, подходящие для применения в твердых дозированных формах, описанных в настоящем патенте, включают, например, натрия лаурил сульфат, сорбитан моноолеат, полиоксиэтилен сорбитан моноолеат, полисорбаты, полаксомеры, соли желчных кислот, глицерил моностеарат, сополимеры этиленоксида и пропиленоксида, например Pluronic® (BASF), и т.п.

Подходящие суспендирующие агенты для применения в твердых дозированных формах, описанных в настоящем патенте, включают, но не ограничены перечисленными, поливинилпирролидон, например поливинилпирролидон K12, поливинилпирролидон K17, поливинилпирролидон K25 или поливинилпирролидон K30, полиэтиленгликоль, например полиэтиленгликоль может иметь молекулярный вес примерно от 300 до примерно 6000, или примерно от 3350 до примерно 4000, или примерно от 7000 до примерно 5400, сополимер винилпирролидон/винилацетат (S630), натрия карбоксиметилцеллюлозу, метилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, полисорбат-80, гидроксипропилцеллюлозу, натрия альгинат, камеди, такие как, например, камедь трагаканта и камедь акация, гуаровая камедь, ксантаны, в том числе ксантановая камедь, сахара, целлюлозные полимеры, такие как, например, натрий карбоксиметилцеллюлоза, метилцеллюлоза, натрий карбоксиметилцеллюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза, гидроксипропилцеллюлоза, полисорбат-80, натрий альгинат, полиэтиоксилированный сорбитан монолаурат, полиэтиоксилированный сорбитан монолаурат, повидон и т.п.

Подходящие антиоксиданты для применения в твердых дозированных формах, описанных в настоящем патенте, включают, например, бутилированный гидрокситолуол (БГТ), натрия аскорбат и токоферол.

Очевидно, что существует значительное перекрытие между добавками, применяемыми в твердых лекарственных формах, описанных в настоящем патенте. Таким образом, указанные выше добавки следует рассматривать только как примеры и не ограничивающие примеры типов добавок, которые могут быть включены в твердые лекарственные формы, описанные в настоящем изобретении. Специалист в данной области сможет легко определить количество таких добавок в зависимости от конкретных желаемых свойств.

В других воплощениях один или более слоев фармацевтической композиции пластифицированы. Для примера пластификатор, как правило, представляет собой кипящее при высокой температуре твердое тело или жидкость. Подходящие пластификаторы можно добавлять в количестве от примерно 0,01 до примерно 50% (мас./мас.) от массы покрытия. Пластификаторы включают, но не ограничены перечисленными, диэтилфталат, эфиры лимонной кислоты, полиэтиленгликоль, глицерол, ацетилованные глицериды, триацетин, полипропиленгликоль, полиэтиленгликоль, триэтилцитрат, дибутилсебакат, стеариновую кислоту, стеарол, стеарат и касторовое масло.

Прессованные таблетки представляют собой твердые лекарственные формы, получаемые при уплотнении исходной массы смеси компонентов препаратов, описанных в настоящем патенте. В различных воплощениях прессованные таблетки, предназначенные для растворения в ротовой полости, включают одно или более ароматизирующих веществ. В других воплощениях прессованные таблетки включают пленку, окружающую конечную прессованную таблетку. В некоторых воплощениях пленочная оболочка может обеспечивать замедленное высвобождение соединения, соответствующего формуле D, из препарата. В других воплощениях пленочная оболочка способствует приемлемости для пациента (например, Opatry® оболочки или сахарная оболочка). Пленочные оболочки, включающие Opatry®, обычно составляют от примерно 1 до примерно 3% веса таблетки. В других воплощениях прессованные таблетки включают один или более наполнителей.

Капсула может быть изготовлена, например, путем заключения исходной массы смеси компонентов препарата соединения, соответствующего формуле D, описанного в настоящем изобретении, в капсулы. В некоторых воплощениях составы (неводные суспензии и растворы) помещены в мягкую желатиновую

капсулу. В других воплощениях составы помещены в стандартные желатиновые капсулы или нежелатиновые капсулы, например капсулы, включающие ГПМЦ. В других воплощениях препарат помещают в капсулы с рассыпаемым содержимым, при этом капсулу можно глотать целиком либо капсулу можно открывать и содержание высыпать в пищу перед едой. В некоторых вариантах реализации терапевтическую дозу разделяют по нескольким капсулам (например, двум, трем или четырем). В некоторых воплощениях целую дозу препарата доставляют в форме капсулы.

В различных воплощениях получают сухую смесь частиц соединения, соответствующего формуле D, и одного или более наполнителей и спрессовывают ее в массу, такую как таблетка, обладающую твердостью, достаточной для обеспечения фармацевтической композиции, которая в значительной степени дезинтегрирует/распадается в пределах менее примерно 30 мин, менее примерно 35 мин, менее примерно 40 мин, менее примерно 45 мин, менее примерно 50 мин, менее примерно 55 мин или менее примерно 60 мин после перорального введения, таким образом обеспечивая высвобождение препарата в желудочно-кишечный тракт.

В другом аспекте изобретения лекарственные формы могут включать составы в форме микрокапсул. В некоторых воплощениях в веществе для микрокапсуляции присутствует одно или более других совместимых веществ. Примеры веществ включают, но не ограничены перечисленными, модификаторы pH, вещества, усиливающие разрушение/распад, вещества, препятствующие пенообразованию, антиоксиданты, ароматизаторы и носители, такие как связующие вещества, суспендирующие агенты, дезинтегрирующие агенты, наполнители, поверхностно-активные вещества, солилилизаторы, стабилизаторы, смазочные вещества, увлажняющие агенты и разбавители.

Вещества, которые можно применять для микрокапсуляции согласно настоящему изобретению, включают вещества, совместимые с соединениями, соответствующими формуле D, которые в достаточной степени отделяют соединение, соответствующее формуле D, от других несовместимых эксципиентов. Вещества, совместимые с соединениями, соответствующими формуле D, представляют собой те вещества, которые задерживают высвобождение соединений, соответствующих формуле D, *in vivo*.

Примеры веществ для микрокапсуляции, подходящие для задержки высвобождения препаратов, включающих соединения, описанные в настоящем изобретении, включают, но не ограничены перечисленными, эфиры гидроксипропилцеллюлозы (ГПЦ) например Klucel® или Nisso HPC, эфиры гидроксипропилцеллюлозы с низкой степенью замещения (L-ГПЦ), эфиры гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ), такие как Seppifilm-LC, Pharmacoat®, Metolose SR, Methocel®-E, Opadry YS, PrimaFlo, Benecel MP824 и Benecel MP843, полимеры метилцеллюлозы, такие как Methocel®-A, гидроксипропилметилцеллюлозы ацетат стеарат Aqoat (HF-LS, HF-LG, HF-MS) и Metolose®, этилцеллюлозы (ЭЦ) и их смеси, например E461, Ethocel®, Aqualon®-EC, Surelease®, поливиниловый спирт (ПВС), например Opadry AMB, гидроксипропилцеллюлозы, например Natrosol®, карбоксиметилцеллюлозы и соли карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ), например Aqualon®-СМС, сополимеры поливинилового спирта и полиэтиленгликоля, например Kollicoat IR®, моноглицериды (Myverol), триглицериды (KLX), полиэтиленгликоли, модифицированный пищевой крахмал, акриловые полимеры и смеси акриловых полимеров с эфирами целлюлозы, например Eudragit® EPO, Eudragit® L30D-55, Eudragit® FS 30D, Eudragit® L100-55, Eudragit® L100, Eudragit® S100, Eudragit® RD100, Eudragit® E100, Eudragit® L12.5, Eudragit® S12.5, Eudragit® NE30D и Eudragit® NE 40D, целлюлозы ацетатфталат, сепифилмы, например смеси ГПМЦ и стеариновой кислоты, циклодекстрины и смеси указанных веществ.

В других воплощениях в вещество для микрокапсуляции включены пластификаторы, такие как полиэтиленгликоли, например ПЭГ 300, ПЭГ 400, ПЭГ 600, ПЭГ 1450, ПЭГ 3350 и ПЭГ 800, стеариновая кислота, пропиленгликоль, олеиновая кислота и триацетин. В других воплощениях вещество для микрокапсуляции, подходящее для задержки высвобождения фармацевтических композиций, упомянуто в Фармакопее США (USP) или Национальном формуляре (НФ). В других вариантах реализации вещество для микроинкапсулирования представляет собой Klucel. В других воплощениях вещество для микроинкапсулирования представляет собой метоцель.

Лекарственная форма, содержащая микроинкапсулированные соединения, соответствующие формуле D, может быть получена методами, известными специалистам в данной области. Такие известные методы включают, например, сушку распылением, процессы растворения с вращающимся диском, плавление при высоких температурах, охлаждение с распылением, ожигание слоя, электростатическое осаждение, центрифугальную экструзию, ротационное разделение суспензий, полимеризацию на поверхности жидкость-газ или твердое тело-газ, экструзию под давлением или экстракцию растворителя с распылением. В дополнение к перечисленным методам также можно применять некоторые химические методики, такие как комплексная коацервация, выпаривание растворителя, межполимерная несовместимость, межфазная полимеризация в жидкой среде, полимеризация *in situ*, сушка в жидкой фазе и десольватация в жидкой среде. Кроме того, также можно применять другие методы, такие как роликовое уплотнение, экструзия/сферонизация, коацервация или нанесение покрытия из наночастиц.

В одном воплощении частицы соединений, соответствующих формуле D, микроинкапсулируют перед изготовлением препарата в одной из указанных форм. В других воплощениях некоторые или боль-

шинство частиц заключают в оболочку перед получением препарата с использованием стандартных способов нанесения покрытий, таких как, например, описаны в Remington's Pharmaceutical Sciences, 20<sup>th</sup> Edition (2000).

В других воплощениях твердые лекарственные формы соединений, соответствующих формуле D, пластифицируют (покрывают) одним или более слоями. Для примера, пластификатор, как правило, представляет собой кипящее при высокой температуре твердое тело или жидкость. Подходящие пластификаторы можно добавлять от примерно 0,01 до примерно 50% (вес./вес.) композиции для покрытия. Пластификаторы включают, но не ограничены перечисленными, диэтил фталат, эфиры лимонной кислоты, полиэтиленгликоль, глицерол, ацетилованные глицериды, триацетин, полипропиленгликоль, полиэтиленгликоль, триэтилцитрат, дибутилсебакат, стеариновую кислоту, стеарол, стеарат и касторовое масло.

В других воплощениях порошок, включающий композицию с соединением, соответствующим формуле D, описанном в настоящем изобретении, может входить в состав композиции с включением одного или более фармацевтического эксципиента и ароматизатора. Такой порошок может быть получен, например, путем смешивания композиции с дополнительными фармацевтическими наполнителями с образованием общей массы смеси композиции. Дополнительные варианты реализации также включают задерживающий высвобождение агент и/или увлажнитель. Такую общую массу смеси равномерно разделяют по упаковкам с однократными или многократными дозами.

В других воплощениях в соответствии с настоящим описанием также получают шипучие порошки. Известно, что шипучие соли применяют для диспергирования лекарства в воде для перорального введения. Шипучие соли представляют собой гранулы или крупный порошок, содержащий лекарственный агент в сухой смеси, как правило, образованные из бикарбоната натрия, лимонной и/или винной кислоты. При добавлении солей композиций, описанных в настоящем патенте, к воде кислоты и основания реагируют с высвобождением углекислого газа, что приводит к выделению пузырьков газа ("шипение"). Примеры шипучих солей включают, например, следующие компоненты: бикарбонат натрия или смесь бикарбоната натрия и карбоната натрия, лимонную и/или винную кислоту. Любую комбинацию кислоты-основания, вызывающую высвобождение углекислого газа, можно применять вместо комбинации бикарбоната натрия и лимонной и винной кислоты, если такие компоненты подходят для фармацевтического применения и обеспечивают рН около 6,0 или выше.

Способы получения твердых дисперсий известны в данной области и включают, без ограничений, например, описанные в патентах США № 4343789, 5340591, 5456923, 5700485, 5723269 и публикацию заявки на патент США 2004/0013734, включенные в настоящий патент посредством ссылки. В других воплощениях составы, описанные в настоящем изобретении, представляют собой твердые растворы. Твердые растворы включают вещество вместе с активным агентом и другими наполнителями, при нагревании смеси которых происходит расплавление лекарства, и образующуюся в результате композицию затем охлаждают с получением твердой смеси, которая в дальнейшем может входить в состав фармацевтической композиции, или непосредственно добавлена в капсулу, или компрессирована в таблетку. Способы получения таких твердых растворов, известные в данной области, включают, но не ограничены перечисленными, например, описанные в патентах США № 4151273, 5281420 и 6083518, включенных в описание посредством ссылки.

Фармацевтические твердые лекарственные формы для перорального введения, включающие составы, описанные в настоящем изобретении, которые включают соединение, соответствующее формуле D, могут быть изготовлены в виде лекарственной формы, обеспечивающей контролируемое высвобождение соединения. Контролируемое высвобождение относится к высвобождению соединения, соответствующего формуле D, из дозированной формы, в которую соединение включено, согласно необходимому профилю в течение продолжительного периода времени. Контролируемые профили высвобождения включают, например, непрерывное высвобождение, длительное высвобождение, пульсирующее высвобождение и замедленное высвобождение. В отличие от композиций с немедленным высвобождением, композиции с контролируемым высвобождением позволяют осуществлять доставку агента в организм субъекта в течение продолжительного периода времени согласно заданному профилю. Такие показатели скорости высвобождения могут обеспечивать терапевтически эффективный уровень агента в течение продолжительного периода времени и таким образом обеспечивать более длительный период фармакологического ответа при снижении побочных эффектов, по сравнению со стандартными дозированными формами с быстрым высвобождением. Такие более продолжительные периоды ответа обеспечивают многие присутствующие преимущества, которые не могут быть достигнуты при применении соответствующих короткодействующих препаратов с немедленным высвобождением.

В некоторых вариантах реализации твердые лекарственные формы, описанные в настоящем патенте, могут быть представлены в виде покрытых энтеросолюбильной оболочкой дозированных форм для перорального применения с замедленным высвобождением, т.е. в виде дозированной формы для перорального применения фармацевтической композиции, описанной в настоящем патенте, в которой используется энтеросолюбильное покрытие, влияющее на высвобождение в тонком кишечнике желудочно-кишечного тракта. Покрытые растворяющейся в кишечнике оболочкой лекарственные формы могут представлять собой прессованные, или формованные, или экструдированные таблетки/пресс-формы

(покрытые оболочкой или без оболочки), содержащие гранулы, порошок, драже, шарики или частицы активного компонента и/или других компонентов композиции, которые, в свою очередь, могут быть либо покрыты оболочкой, либо не покрыты оболочкой. Покрытые растворяющейся в кишечнике оболочкой лекарственные формы для перорального введения могут также представлять собой капсулу (покрытую оболочкой или без оболочки), содержащую шарики, цепочки или гранулы твердого носителя или композиции, которые, в свою очередь, могут быть либо покрыты оболочкой, либо не покрыты оболочкой.

Термин "замедленное высвобождение" в данном описании относится к такому варианту доставки, при котором высвобождение может осуществляться в какой-либо в целом предсказуемой области кишечного тракта, более дистальной по отношению к области, в которой бы осуществлялось высвобождение, если бы лекарственная форма не характеризовалась замедленным высвобождением. В некоторых воплощениях замедление высвобождения обеспечивает покрытие. Любые покрытия должны иметь достаточную толщину таким образом, чтобы оболочка в целом не растворялась в желудочно-кишечном соке при pH ниже около 5, но при этом растворялась при pH около 5 и выше. Как ожидается, любые анионные полимеры, характеризующиеся зависимым от pH профилем растворимости можно применять в качестве растворяющегося в кишечнике покрытия в способах и композициях, описанных в настоящем патенте, для осуществления доставки в нижний отдел желудочно-кишечного тракта. В некоторых вариантах реализации полимеры, описанные в настоящем изобретении, представляют собой анионные карбоксильные полимеры. В других воплощениях полимеры и их совместимые смеси и некоторые их свойства включают, но не ограничены перечисленными, следующее.

Шеллак, также известный как очищенный сырой шеллак, очищенный продукт, полученный из смолистого секрета насекомого. Это покрытие растворяется в среде при  $\text{pH} > 7$ .

Акриловые полимеры. Характеристики акриловых полимеров (главным образом, их растворимость в биологических жидкостях) могут варьировать в зависимости от степени и типа заместителей. Примеры подходящих акриловых полимеров включают сополимер метакриловой кислоты и сополимер аммония метакрилата. Серии эудрагит E, L, S, RL, RS и NE (Rohm Pharma) доступны как солюбилизированные в органических растворителях, водных дисперсиях или сухих порошках. Серии эудрагит RL, NE и RS нерастворимы в желудочно-кишечном тракте, но являются проницаемыми и используются главным образом для доставки в толстую кишку. Серия эудрагит E растворяется в желудке. Серия эудрагит L, L-30D и S нерастворима в желудке и растворяется в кишке.

Производные целлюлозы. Примеры подходящих производных целлюлозы: этилцеллюлоза; реакционные смеси частичных ацетатных эфиров целлюлозы с фталевым ангидридом. Характеристики могут варьировать в зависимости от степени и типа заместителей. Целлюлоза ацетат фталат (ЦАФ) растворяется при  $\text{pH} > 6$ . Aquateric (FMC) - водоосновная система представляет собой высушенный распылением ЦАФ псевдолатекс с частицами  $< 1$  мкм. Другие компоненты Aquateric могут включать плуроник, Твин, и ацетилированные моноглицериды. Другие пригодные производные целлюлозы включают следующие: целлюлоза ацетат тримеллитат (Eastman); метилцеллюлоза (Pharmacoat, Methocel); гидроксипропилметилцеллюлоза фталат (ГПМЦФ); гидроксипропилметилцеллюлоза сукцинат (ГПМЦС) и гидроксипропилметилцеллюлоза ацетат сукцинат (например, ACOAT (Shin Etsu)). Характеристики могут варьировать в зависимости от степени и типа заместителей. Например, подходящими являются классы ГПИЦФ, в частности HP-50, HP-55, HP-55S, HP-55F. Характеристики могут варьировать в зависимости от степени и типа заместителей. Например, подходящие классы гидроксипропилметилцеллюлозы ацетат сукцинат включают, но не ограничены перечисленными, AS-LG (LF), который растворяется при pH 5, AS-MG (MF), который растворяется при pH 5,5, и AS-HG (HF), который растворяется при более высоких значениях pH. Такие полимеры выпускаются в виде гранул или тонкодисперсной пудры для водных дисперсий.

Поливинилацетатфталат (ПВАФ). ПВАФ растворяется при  $\text{pH} > 5$  и является значительно менее проницаемым для паров воды и желудочного сока.

В некоторых вариантах реализации покрытие может содержать и, как правило, содержит пластификатор, а также может содержать другие наполнители для покрытий, например красители, тальк и/или стеарат магния, которые хорошо известны в данной области. Подходящие пластификаторы включают триэтилцитрат (Citroflex 2), триацетин (глицерилтриацетат), ацетилтриэтилцитрат (Citroflex A2), Carbowax 400 (полиэтиленгликоль 400), диэтилфталат, трибутилцитрат, ацетилированные моноглицериды, глицерол, сложные эфиры жирных кислот, пропиленгликоль и дибутилфталат. В частности, анионные карбоксильные акриловые полимеры обычно содержат 10-25% пластификатора по массе, в частности дибутилфталат, полиэтиленгликоль, триэтилцитрат и триацетин. Для нанесения покрытия применяют стандартные способы, например распыление или смазывание форм. Толщина покрытия должна быть достаточной для обеспечения того, чтобы лекарственная форма для перорального введения сохранялась целой до достижения желаемой области локальной доставки в кишечном тракте.

Помимо пластификаторов, к покрытиям можно добавлять красители, добавки, снижающие статические заряды (detackifiers), поверхностно-активные вещества, агенты, препятствующие вспениванию, смазывающие вещества (например, карнаубский воск или ПЭГ), для солюбилизации или диспергирования вещества покрытия и улучшения характеристик покрытия и продукта.

В других воплощениях составы, описанные в настоящем изобретении, включающие соединение формулы D, доставляют с применением пульсирующей лекарственной формы. Пульсирующая лекарственная форма способна обеспечить один или более мгновенный импульс высвобождения в заданных временных точках после конкретного периода времени задержки или в конкретной области. Пульсирующую лекарственную форму, включающую составы, описанные в настоящем изобретении, которые включают соединение, соответствующее формуле D, можно вводить с применением различных пульсирующих препаратов, известных в данной области. Например, такие составы включают, но не ограничены перечисленными, составы, описанные в патентах США № 5011692, 5017381, 5229135 и 5840329, включенных посредством ссылок. Другие лекарственные формы с пульсирующим высвобождением, подходящие для применения с настоящими препаратами, включают, но не ограничены перечисленными, например, описанные в патентах США № 4871549, 5260068, 5260069, 5508040, 5567441 и 5837284, включенных посредством ссылок. В одном воплощении лекарственная форма с контролируемым высвобождением представляет собой твердую лекарственную форму с пульсирующим высвобождением для перорального введения, включающую по меньшей мере две группы частиц (т.е. мультитипартикулярная), каждая из которых содержит составы, описанные в настоящем изобретении. Первая группа частиц обеспечивает, по существу, мгновенную дозу соединения, соответствующего формуле D, при приеме млекопитающим. Первая группа частиц может либо не иметь оболочки, либо может быть покрыта оболочкой и/или герметизирующим веществом. Вторая группа частиц включает покрытые оболочкой частицы, которые включают от примерно 2 до примерно 75%, от примерно 2,5 до примерно 70%, или от примерно 40 до примерно 70% по весу общей дозы соединения, соответствующего формуле D, в указанном препарате, смеси с одним или более связующим веществом. Покрытие включает фармацевтически приемлемый компонент в количестве, достаточном для обеспечения задержки от примерно 2 до примерно 7 ч, после приема объектом внутрь перед высвобождением второй дозы. Подходящие покрытия включают одно или более покрытий с различными характеристиками разлагаемости, например, только в качестве примера pH-чувствительные покрытия (энтеросолюбильные покрытия), например акриловые смолы (например, Eudragit® EPO, Eudragit® L30D-55, Eudragit® FS 30D, Eudragit® L100-55, Eudragit® L100, Eudragit® S100, Eudragit® RD100, Eudragit® E100, Eudragit® L12.5, Eudragit® S12.5 и Eudragit® NE30D, Eudragit® NE40D), либо в отдельности, либо в смеси с производными целлюлозы, например этилцеллюлозой, или неэнтеросолюбильные покрытия, имеющие различную толщину, обеспечивающие различный характер высвобождения препарата, включающего соединение, соответствующее формуле D.

Многие другие типы систем с контролируемым высвобождением известны специалистам в данной области и могут применяться для препаратов, описанных в настоящем патенте. Примеры таких средств доставки включают, например, системы, основанные на применении полимеров системы, например, таких как полимолочная и полигликолевая кислота, полиангидриды и поликапролактон; пористые матрицы, неполимерные системы, представляющие собой липиды, в том числе стеринны, такие как холестерол, сложные эфиры холестерола и жирные кислоты, или нейтральные жиры, например моно-, ди- и триглицериды; системы на основе гидрогеля; системы на основе силаника; пептидные системы; восковые покрытия, биоразлагаемые лекарственные формы, прессованные таблетки с применением стандартных связующих веществ и т.п. См., например, Liberman et al., *Pharmaceutical Dosage Forms*, 2<sup>nd</sup> Ed., vol. 1, p. 209-214 (1990); Singh et al., *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, 2<sup>nd</sup> Ed., p. 751-753 (2002); патенты США № 4327725, 4624848, 4968509, 5461140, 5456923, 5516527, 5622721, 5686105, 5700410, 5977175, 6465014 и 6932983, включенные посредством ссылок.

В некоторых вариантах реализации предусмотрены фармацевтические композиции, включающие частицы соединений, соответствующих формуле D, описанных в настоящем патенте, и по меньшей мере один диспергирующий агент или суспендирующий агент для перорального введения объекту. Композиции могут представлять собой порошок и/или гранулы для суспензии и при смешивании с водой образуют в значительной степени однородную суспензию.

Жидкие лекарственные формы композиции для перорального введения могут представлять собой водные суспензии, выбранные из группы, включающей, без ограничения, фармацевтически приемлемые водные дисперсии, эмульсии, растворы, эликсиры, гели и сиропы для перорального введения. См., например, Singh et al., *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, 2<sup>nd</sup> Ed., p. 754-757 (2002). В дополнение к частицам соединений, соответствующим формуле D, жидкие лекарственные формы могут включать добавки, такие как (а) дезинтегрирующие агенты; (б) диспергирующие агенты; (в) увлажняющие агенты; (г) по меньшей мере один консервант; (д) увеличивающие вязкость агенты; (е) по меньшей мере один подсластитель и (ж) по меньшей мере один ароматизатор. В некоторых вариантах реализации водные дисперсии могут также включать кристаллический ингибитор.

Водные суспензии и дисперсии, описанные в настоящем изобретении, могут сохраняться в гомогенном состоянии, как определено в Фармакопее США (USP) (издание 2005, глава 905), в течение по меньшей мере 4 ч. Однородность определяют методом выборки, соответствующим определению однородности целой композиции. В одном воплощении водная суспензия может быть ресуспендирована в гомогенную суспензию физического перемешивания в течение менее 1 мин. В другом воплощении вод-

ная суспензия может быть ресуспендирована в гомогенную суспензию путем физического перемешивания в течение менее 45 с. В другом воплощении водная суспензия может быть ресуспендирована в гомогенную суспензию физического перемешивания в течение менее 30 с. В другом воплощении не требуется физическое перемешивание для поддержания гомогенной водной дисперсии.

Примеры диспергирующих агентов для применения в водных суспензиях или дисперсиях, включают, но не ограничены перечисленными, крахмал, например природный крахмал, такой как зерновой крахмал или картофельный крахмал, желатинированный крахмал, например National 1551 или Amijel®, или натрия крахмал гликолят, например Promogel® или Explotab®; целлюлозу, например древесный продукт, метилкристаллическую целлюлозу, например Avicel®, Avicel® PH101, Avicel® PH102, Avicel® PH105, Elcema® P100, Emccocel®, Vivacel®, Ming Tia® и Solka-Floc®, метилцеллюлозу, кроскармеллозу или перекрестно сшитую целлюлозу, например перекрестно сшитую карбоксиметилцеллюлозу натрия (Ac-Di-Sol®), перекрестно сшитую карбоксиметилцеллюлозу или перекрестно сшитую кроскармеллозу, перекрестно сшитый крахмал, например натрия крахмалгликолят, перекрестно сшитый полимер, такой как кросповидон, перекрестно сшитый поливинилпирролидон, альгинат, например альгиновую кислоту или соль альгиновой кислоты, например натрия альгинат, глину, например Veegum® HV (алюмосиликат магния), камедь, например агар, гуаровую камедь, камедь рожкового дерева, камедь Карайи, пектин или трагакант, натрия крахмалгликолят, бентонит, природную губку, поверхностно-активное вещество, смолу, например катионообменную смолу, мякоть цитруса, натрия лаурилсульфат, натрия лаурилсульфат в комбинации с крахмалом и т.п.

В некоторых воплощениях диспергирующие агенты, подходящие для водных суспензий или дисперсий согласно настоящему изобретению, известны в данной области и включают, например, гидрофильные полимеры, электролиты, Tween-60® или -80, ПЭГ, поливинилпирролидон (ПВП, известный на рынке как Plasdone®) и основанные на углеводах диспергирующие агенты, такие как, например, эфиры гидроксипропилцеллюлозы (например, ГПЦ, ГПЦ-SL и ГПЦ-L), гидроксипропилметилцеллюлозы и эфиры гидроксипропилметилцеллюлозы (например, ГПМЦ K100, ГПМЦ K4M, ГПМЦ K15M и ГПМЦ K100M), карбоксиметилцеллюлозу натрия, метилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу фталат, гидроксипропилметилцеллюлозу ацетата стеарат, некристаллическую целлюлозу, алюмосиликат магния, триэтанолламин, поливиниловый спирт (ПВС), сополимер винилпирролидон/винилацетат (Plasdone®, например, S-630), полимер 4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенола с этиленоксидом и формальдегидом (также известный как тилоксапол), полоксамеры (например, Pluronic® F68, F88 и F108, представляющие собой блок-сополимеры этиленоксида и пропиленоксида) и полоксамины (например, Tetronic 908®, также известный как Poloxamine 908®, представляющий собой тетрафункциональный блок-сополимер, полученный при последовательном добавлении пропиленоксида и этиленоксида к этилендиамину (BASF Corporation, Parsippany, NJ.)). В других воплощениях диспергирующий агент выбран из группы, включающей один из следующих агентов: гидрофильный полимер, электролит, Tween-60® или -80, ПЭГ, поливинилпирролидон (ПВП), гидроксипропилцеллюлозу и эфир гидроксипропилцеллюлозы (например, ГПЦ, ГПЦ-SL и ГПЦ-L), гидроксипропил метилцеллюлозу и эфир гидроксипропилметилцеллюлозы (например, ГПМЦ K100, ГПМЦ K4M, ГПМЦ K15M, ГПМЦ K100M и Pharmacoat® USP 2910 (Shin-Etsu)), карбоксиметилцеллюлозу натрия, метилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозы фталат, гидроксипропилметилцеллюлозы ацетат стеарат, некристаллическую целлюлозу, алюмосиликат магния, триэтанолламин, поливиниловый спирт (ПВС), полимер 4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенола с этиленоксидом и формальдегидом, полоксамеры (например, Pluronic F68®, F88® и F108®, представляющие собой блок-сополимер этиленоксида и пропиленоксида) или полоксамины (например, Tetronic 908®, также известный как Poloxamine 908®).

Увлажняющие агенты, подходящие для водных суспензий и дисперсий, описанных в настоящем патенте, известны в данной области и включают, но не ограничены ими, цетиловый спирт, глицеролмоностеарат, эфиры полиоксиэтилен сорбитана и жирной кислоты (например, коммерчески доступные Tween®, такие как, например, Tween-20® и Tween-80® (ICI Specialty Chemicals)) и полиэтиленгликоли (например, Carbowax 3350® и 1450® и Carbopol 934® (Union Carbide)), олеиновую кислоту, глицерил моностеарат, сорбитан моноолеат, сорбитан монолаурат, триэтанолламин олеат, полиоксиэтилен сорбитан моноолеат, полиоксиэтилен сорбитан монолаурат, натрий олеат, натрий лаурил сульфат, натрий докузат, триацетин, витамин E TPGS, натрий таурохолат, симетикон, фосфотидилхолин и т.п.

Подходящие консерванты для водных суспензий или дисперсий, описанных в настоящем патенте, включают, например, калия сорбат, парабены (например, метилпарабен и пропилпарабен), бензойную кислоту и ее соли, другие эфиры парагидроксibenзойной кислоты, такие как бутилпарабен, спирты, например этиловый спирт или бензиловый спирт, фенольные соединения, такие как фенол, или четверичные соединения, такие как бензалконий хлорид. Консерванты, используемые в настоящем изобретении, включены в лекарственную форму в концентрации, достаточной для подавления роста микробов.

Подходящие агенты, увеличивающие вязкость, для водных суспензий или дисперсий, описанных в настоящем патенте, включают, но не ограничены ими, метилцеллюлозу, ксантановую камедь, карбокси-

метилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, Plasdon® S-630, карбомер, поливиниловый спирт, альгинаты, гуммиарабик, хитозаны и их комбинации. Концентрация агента, увеличивающего вязкость, зависит от конкретного выбранного агента и необходимой степени вязкости.

Примеры подсластителей, подходящих для водных суспензий или дисперсий, описанных в настоящем патенте, включают, например, сироп акации, ацесульфам калия, алитам, анис, яблоко, аспартам, банан, баварские сливки, ягоды, черную смородину, ириски, цитрат кальция, камфору, карамель, вишню, вишню со сливками, шоколад, корицу, "жевательную резинку", цитрус, цитрусовый пунш, цитрусовые сливки, "сахарную вату", какао, колу, свежую вишню, свежий цитрус, циклакат, цилакат, декстрозу, эвкалипт, эвгенол, фруктозу, фруктовый пунш, имбирь, глицирретинат, сироп солодки (лакрица), виноград, грейпфрут, мед, изомальт, лимон, лайм, лимон со сливками, моноаммоний глицирризинат (MagnaSweet®), мальтол, маннитол, клен, алтей, ментол, мяту со сливками, смесь ягод, неогесперидин DC, неотам, апельсин, грушу, персик, перечную мяту, перечную мяту со сливками, порошок ProSweet®, малину, рутбир, ром, сахарин, сафрол, сорбитол, зеленую мяту, зеленую мяту со сливками, землянику, землянику со сливками, стевию, сукралозу, сахарозу, сахарин натрия, сахарин, аспартам, ацесульфам калия, маннитол, талин, силитол, сукралозу, сорбитол, швейцарские сливки, тагатозу, мандарин, тауматин, "тутти-фрутти", ваниль, грецкий орех, арбуз, дикую вишню, гаультерию, ксилитол или любую комбинацию таких ароматизаторов, например анис-ментол, вишня-анис, корица-апельсин, вишня-корица, шоколад-мята, мед-лимон, лимон-лайм, лимон-мята, ментол-эвкалипт, апельсин-сливки, ваниль-мята и их смеси. В одном воплощении водная жидкая дисперсия может включать подсластитель или ароматизатор в концентрации, варьирующей от примерно 0,001 до примерно 1,0% объема водной дисперсии. В другом воплощении водная жидкая дисперсия может включать подсластитель и ароматизатор в концентрации, варьирующей от примерно 0,005 до примерно 0,5% объема водной дисперсии. В другом воплощении водная жидкая дисперсия может включать подсластитель или ароматизатор в концентрации, варьирующей от примерно 0,01 до примерно 1,0% объема водной дисперсии.

В дополнение к вышеперечисленным добавкам, жидкие композиции также могут дополнительно содержать другие инертные жидкости, широко применяемые в данной области, такие как вода или другие растворители, солюбилизующие агенты и эмульгаторы. Примерами эмульгаторов являются этиловый спирт, изопропиловый спирт, этиловый карбонат, этиловый ацетат, бензиловый спирт, бензил бензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид, лауриловый сульфат натрия, докунат натрия, холестерин, сложные эфиры холестерина, таурохолевая кислота, фосфатидилхолин, масла, такие как хлопковое масло, арахисовое масло, масло проростков зерновых, оливковое масло, касторовое масло и кунжутное масло, глицерол, тетрагидрофуруриловый спирт, полиэтиленгликоль, сложные эфиры жирных кислот и сорбита или смесей этих веществ и т.п.

В некоторых воплощениях описанные в данном изобретении композиции могут представлять собой самоэмульгирующиеся системы доставки лекарственных средств (SEDDS). Эмульсии - это дисперсии одной несмешиваемой фазы в другую, как правило, в форме капель. Как правило, дисперсии возникают при энергичном механическом перемешивании. SEDDS, в отличие от эмульсий или микроэмульсий, образуются самопроизвольно при добавлении в избыточное количество воды, без дополнительного механического воздействия. Преимущество SEDDS заключается в том, что для распределения капель внутри раствора необходимо лишь незначительное перемешивание. Кроме того, вода или водная фаза может быть добавлена непосредственно перед введением, что обеспечивает стабильность неустойчивых или гидрофобных активных ингредиентов. Таким образом, SEDDS обеспечивают эффективную систему доставки при пероральном или парентеральном введении гидрофобных активных компонентов. SEDDS могут улучшать биодоступность гидрофобных активных компонентов. Способы получения самоэмульгирующихся лекарственных форм известны из уровня техники, к ним относятся, но не ограничиваются ими, например, описанные в патентах США № 5858401, 6667048 и 6960563, содержание которых включено в настоящее описание посредством ссылок.

Следует заметить, что перечисленные выше добавки для описанных в данном изобретении водных дисперсий и суспензий частично совпадают, это связано с тем, что данные добавки часто классифицируются различным образом разными пользователями, и с тем, что их часто используют для различных целей. Таким образом, перечисленные выше добавки должны рассматриваться как примеры, но не ограничения тех типов добавок, которые могут быть включены в описанные в настоящем изобретении композиции. Специалист в данной области сможет легко определить количество таких добавок в зависимости от желаемых свойств.

Композиции для интраназального введения.

Композиции для интраназального введения известны в данной области техники и описаны, например, в патентах США № 4476116, 5116817 и 6391452, содержание каждого из которых включено в настоящее описание посредством ссылки. Составы, содержащие соединение, отвечающее формуле D, полученные согласно этим и другим способам, хорошо известным в данной области техники, получают в виде растворов в физиологическом растворе с применением бензилового спирта или других подходящих консервантов, фторуглеродов и/или других солюбилизующих или диспергирующих агентов, извест-

ных в данной области техники. См., например, Ansel, H.C. et al., *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Sixth Ed. (1995). Предпочтительно такие композиции и составы получают с применением подходящих нетоксичных фармацевтически приемлемых ингредиентов. Такие ингредиенты известны специалистам в области получения дозированных форм для назального введения, при этом некоторые из указанных ингредиентов можно найти в Remington: *The science and practice of pharmacy*, 21<sup>st</sup> edition, 2005, представляющем собой стандартное справочное издание в данной области техники. Выбор подходящих носителей во многом зависит от конкретной природы назальной дозированной формы, которую необходимо получить; например, указанные дозированные формы могут представлять собой растворы, суспензии, мази или гели. Дозированные формы для назального введения, как правило, помимо активного компонента, содержат большое количество воды. Также могут присутствовать незначительные количества других компонентов, таких как регуляторы pH, эмульгаторы или диспергирующие агенты, консерванты, поверхностно-активные вещества, железирующие агенты или буферизирующие и другие стабилизирующие и солюбилизующие агенты. Дозированная форма для назального введения должна быть изотоничной по отношению к назальному секрету.

Для введения посредством ингаляции соединения, отвечающие формуле D, предложенные в настоящем изобретении, могут быть получены в виде аэрозоля, спрея или порошка. Фармацевтические композиции, предложенные в настоящем изобретении, удобно поставлять в форме аэрозоля в герметичных баллонах под давлением или в распылителях с применением подходящих пропеллентов, например дихлордифторметана, трихлорфторметана, дихлортетрафторэтана, углекислого газа или другого подходящего газа. В случае использования аэрозоля под давлением единичная доза может обеспечиваться с помощью клапана, отмеряющего определенное количество состава. Могут быть получены подходящие для применения в ингаляторе или инсуффляторе капсулы и кассеты, такие как, только в качестве примера изготовленные из желатина, содержащие смесь порошкообразного соединения согласно настоящему изобретению и подходящей порошкообразной основы, такой как лактоза или крахмал.

Композиции для трансбуккального введения.

Композиции для трансбуккального введения, содержащие соединения, отвечающие формуле D, можно вводить в виде различных составов, известных в данной области техники. Например, такие композиции включают, но не ограничены перечисленными, составы, предложенные в патентах США № 4229447, 4596795, 4755386 и 5739136, содержание каждого из которых включено в настоящее описание посредством ссылки. Кроме того, дозированные формы для трансбуккального введения, предложенные в настоящем описании, могут также включать биологически разлагаемый (гидролизуемый) полимерный носитель, который также способствует прилипанию (адгезии) дозированной формы к слизистой оболочке щеки.

Дозированную форму для трансбуккального введения изготавливают таким образом, чтобы она разлагалась постепенно в течение заданного периода времени, в течение которого, по существу, обеспечивается доставка соединения, отвечающего формуле D. Доставка лекарства, осуществляемая в ротовой полости, как очевидно специалистам в данной области техники, позволяет избежать недостатков, присутствующих пероральным способом введения лекарственных препаратов, например низкой скорости поглощения, разложения активного агента жидкостями, присутствующими в желудочно-кишечном тракте, и/или инактивации в печени при "первом проходе". В отношении биологически разлагаемого (гидролизуемого) полимерного носителя очевидно, что фактически можно применять любой такой носитель, если только он не препятствует желаемому характеру высвобождения лекарства и если такой носитель совместим с соединением, отвечающим формуле D, и любыми другими компонентами, которые могут содержаться в дозированной форме для буккального введения. Как правило, полимерный носитель включает гидрофильные полимеры (водорастворимые и набухающие в воде), которые прилипают к влажной поверхности слизистой оболочки щеки. Примеры полимерных носителей, подходящих для применения согласно настоящему изобретению, включают полимеры акриловой кислоты и другие полимеры, например, известные как "карбомеры" (Carbopol® от B.F. Goodrich является одним из таких полимеров). Другие компоненты, которые могут также входить в состав дозированных форм для буккального введения согласно настоящему изобретению, включают, но не ограничены перечисленными, дезинтегрирующие агенты, разбавители, связующие вещества, смазывающие вещества, ароматизаторы, красители, консерванты и т.п. Композиции для буккального или сублингвального введения могут быть представлены в виде таблеток, пастилок или гелей, изготовленных традиционными способами.

Композиции для трансдермального введения.

Композиции для трансдермального введения, предложенные в настоящем изобретении, можно вводить с применением различных устройств, известных в данной области техники. Например, такие устройства включают, но не ограничиваются ими, устройства, описанные в патентах США № 3598122, 3598123, 3710795, 3731683, 3742951, 3814097, 3921636, 3972995, 3993072, 3993073, 3996934, 4031894, 4060084, 4069307, 4077407, 4201211, 4230105, 4292299, 4292303, 5336168, 5665378, 5837280, 5869090, 6923983, 6929801 и 6946144, содержание каждого из которых включено в настоящее описание во всей полноте посредством ссылки.

Дозированные формы для трансдермального введения, предложенные в настоящем описании, могут содержать конкретные фармацевтически приемлемые наполнители, традиционно применяемые в данной области техники. В одном воплощении композиции для трансдермального введения, предложенные в настоящем описании, содержат по меньшей мере три компонента: (1) композиция на основе соединения, отвечающего формуле D; (2) вещество, обеспечивающее улучшенное проникновение; и (3) вспомогательный агент на водной основе. Кроме того, композиции для трансдермального введения могут содержать дополнительные компоненты, такие как, без ограничения, желирующие вещества, основы для кремов и мазей и т.п. В некоторых воплощениях композиция для трансдермального введения может дополнительно включать подложку из тканого или нетканого материала для повышения поглощения и предотвращения удаления трансдермального препарата с кожи. В других воплощениях композиции для трансдермального введения согласно настоящему изобретению могут находиться в насыщенном или перенасыщенном состоянии для улучшения диффузии через кожу.

Доставка композиций, подходящих для обеспечения трансдермального введения соединений, предложенных в настоящем описании, может осуществляться с применением устройств для трансдермальной доставки и пластырей, обеспечивающих трансдермальную доставку, при этом указанные составы могут представлять собой липофильные эмульсии или буферные водные растворы, растворенные и/или диспергированные в полимере или связующем веществе. Такие пластыри могут быть предназначены для непрерывной импульсной доставки фармацевтических агентов или для доставки фармацевтических агентов в тот момент, когда это необходимо. Кроме того, трансдермальная доставка соединений, предложенных в настоящем описании, может быть осуществлена посредством ионтофоретических аппликаторов и т.п. Кроме того, пластыри для трансдермального введения могут обеспечивать контролируемую доставку соединений, отвечающих формуле D. Скорость поглощения может быть снижена с помощью мембран, контролирующей скорость поглощения, или заключения соединения в полимерную матрицу или гель. И наоборот, для увеличения скорости поглощения можно применять средства для усиления поглощения. Средства для усиления поглощения или носители могут включать абсорбируемые фармацевтически приемлемые растворители, способствующие транспорту через кожу. Например, устройства для трансдермального введения могут представлять собой бандаж, включающий материал основы, резервуар, содержащий соединение, и, возможно, носитель, при этом указанное устройство может содержать контролирующей скоростью барьер, обеспечивающий доставку соединения к коже хозяина с контролируемой и заданной скоростью в течение длительного периода времени, и средства для закрепления устройства на коже.

Композиции для инъекций.

Композиции, содержащие соединение, отвечающее формуле D, подходящие для внутримышечной, подкожной или внутривенной инъекции, могут включать физиологически приемлемые стерильные водные или неводные растворы, дисперсии, суспензии или эмульсии, а также стерильные порошки, которые могут быть восстановлены с образованием стерильных растворов или дисперсий, подходящих для инъекирования. Примеры подходящих водных и неводных носителей, разбавителей или наполнителей включают воду, этанол, полиолы (пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, глицерол, кремофор и т.п.), подходящие смеси указанных веществ, растительные масла (например, оливковое масло) и инъекируемые органические сложные эфиры, такие как, например, этилолеат. Поддержание необходимой текучести может обеспечиваться, например, с помощью оболочки, например лецитиновой оболочки, регулированием необходимого размера частиц в случае дисперсий и использованием поверхностно-активных веществ. Композиции, подходящие для подкожной инъекции, могут также содержать добавки, такие как консерванты, увлажнители, эмульгаторы и диспергирующие агенты. Предотвращение роста микроорганизмов может обеспечиваться за счет применения различных антибактериальных и противогрибковых агентов, таких как парабены, хлорбутанол, фенол, сорбиновая кислота и т.п. Также может быть желательным введение в композицию изотонических агентов, например сахаров, хлорида натрия и т.п. Пролонгированное поглощение инъекируемой фармацевтической формы может быть осуществлено с использованием агентов, задерживающих поглощение, например, моностеарата алюминия и желатина.

Для получения композиций, подходящих для внутривенного инъекирования соединения, предложенные в настоящем описании, могут быть получены в виде водных растворов, предпочтительно физиологически совместимых буферных растворов, таких как раствор Хэнка, раствор Рингера или физиологический солевой раствор. Для трансмукозального введения в составы вводят вещества, обеспечивающие улучшенное проникновение, выбор которых определяется природой барьера, через который транспортируются составы. Такие вещества в целом известны в данной области техники. В случае парентеральных инъекций подходящие препараты могут включать водные или неводные растворы, предпочтительно содержащие физиологически совместимые буферы или наполнители. Такие наполнители в целом известны в данной области техники.

Инъекционные композиции для парентерального введения могут включать составы для болюсных инъекций или непрерывной инфузии. Композиции для инъекции могут быть представлены в дозированной форме, например в ампулах или в контейнерах, содержащих несколько доз, с добавлением консерванта. Фармацевтическая композиция, предложенная в настоящем описании, может находиться в форме,

подходящей для парентеральной инъекции, и представлять собой стерильную суспензию, раствор или эмульсию в масляных или водных наполнителях, и может содержать агенты, используемые для получения составов, такие как суспендирующие, стабилизирующие и/или диспергирующие агенты. Фармацевтические составы для парентерального введения включают водные растворы активных соединений в водорастворимой форме. Кроме того, суспензии активных соединений могут быть получены в виде соответствующих масляных суспензий, подходящих для инъекирования. Подходящие липофильные растворители или наполнители включают нелетучие масла, такие как сезамовое масло, или эфиры синтетических жирных кислот, такие как этилолеат, триглицериды или липосомы. Водные суспензии, подходящие для инъекирования, могут содержать вещества, увеличивающие вязкость суспензии, например натрий-карбоксиметилцеллюлозу, сорбитол или декстран. В ряде случаев суспензия может также содержать подходящие стабилизаторы или агенты, увеличивающие растворимость соединений, применение которых позволяет получать растворы с высокой концентрацией. Кроме того, активный компонент может находиться в форме порошка, подходящего для восстановления соответствующим наполнителем, например стерильной апиогенной водой, перед применением.

Другие композиции.

В некоторых воплощениях можно применять системы для доставки фармацевтических соединений, такие как, например, липосомы и эмульсии. В некоторых воплощениях композиции, предложенные в настоящем изобретении, могут также содержать мукоадгезивные полимеры, выбранные, например, из карбоксиметилцеллюлозы, карбомера (полимера акриловой кислоты), поли(метилметакрилата), полиакриламида, поликарбофила, сополимера акриловой кислоты/бутилакрилата, альгинат натрия и декстран.

В некоторых воплощениях соединения, предложенные в настоящем описании, можно вводить локально в составе композиций для локального введения, таких как растворы, суспензии, лосьоны, гели, пасты, медицинские карандаши, бальзамы, крема или мази. Такие фармацевтические соединения могут содержать солибулизаторы, стабилизаторы, повышающие тоничность агенты, буферы и консерванты.

Соединения, предложенные в настоящем описании, могут также входить в состав композиций, предназначенных для ректального введения, таких как клизмы, ректальные гели, ректальные пенки, ректальные аэрозоли, суппозитории, гелевые суппозитории или удерживающие клизмы, содержащие стандартные основы для суппозитория, такие как масло какао или другие глицериды, а также синтетические полимеры, такие как поливинилпирролидон, ПЭГ и т.п. В композициях в виде суппозитория в первую очередь происходит плавление легкоплавкого воска, такого как, без ограничения, смесь глицеридов жирных кислот, в ряде случаев в комбинации с маслом какао.

Примеры способов дозирования и режимов лечения.

Соединения, предложенные в настоящем изобретении, можно применять для получения лекарственных средств для ингибирования Vtk или ее гомолога или для лечения болезней или состояний, которые могут быть облегчены, по меньшей мере частично, с помощью ингибирования Vtk или ее гомолога. Кроме того, способ лечения любого из заболеваний или состояний, указанных в настоящем описании, у субъекта, нуждающегося в таком лечении, включает введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, содержащей по меньшей мере одно соединение, отвечающее формуле D согласно настоящему изобретению, или фармацевтически приемлемой соли, фармацевтически приемлемого N-оксида указанного соединения.

Композиции, содержащие соединения согласно настоящему изобретению, можно применять с целью профилактики и/или в терапевтических целях. При терапевтическом применении композиции вводят пациенту, уже страдающему от болезни или состояния, в количестве, достаточном для излечения или, по меньшей мере, частичного замедления развития симптомов указанного заболевания или состояния. Эффективные количества для указанных применений зависят от степени тяжести и течения болезни или состояния, предшествующего терапии, состояния здоровья пациента, массы тела и ответа на лекарственные препараты, а также могут определяться лечащим врачом. Считается, что указанные терапевтически эффективные количества могут быть установлены специалистом в данной области техники с помощью рутинных экспериментов (включая, без ограничения, клиническое исследование с применением возрастающей дозы).

При профилактическом применении композиции, содержащие соединения согласно настоящему изобретению, вводят пациенту, имеющему предрасположенность или входящему в группу риска развития определенного заболевания, нарушения или состояния. Такое количество определяют как "профилактически эффективное количество или дозу". При таком применении точное количество также зависит от состояния здоровья пациента, веса пациента и т.п. В данной области техники принято определять такие профилактически эффективные количества с помощью обычных экспериментов (например, клинического исследования с применением возрастающей дозы). Применительно к конкретному пациенту эффективное количество зависит от тяжести течения болезни, нарушения или состояния, предшествующего терапии, состояния здоровья пациента и ответа на лекарственные препараты, а также мнения лечащего врача.

В случае, если состояние пациента не улучшается, по усмотрению врача, введение композиций можно продолжать хронически, т.е. в течение увеличенного промежутка времени, включая всю продол-

жительность жизни пациента, для облегчения, управления или ограничения симптомов болезни или состояния пациента.

В случае, если состояние пациента действительно улучшается, по усмотрению врача, введение композиций можно осуществлять непрерывно; с другой стороны, доза применяемого лекарственного средства может быть временно снижена или введение может быть временно приостановлено на определенный период времени (т.е. "каникулы" лекарственного средства). Продолжительность "каникул" лекарственного средства может варьировать от 2 дней до 1 года, включая, только в качестве примера, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 12, 15, 20, 28, 35, 50, 70, 100, 120, 150, 180, 200, 250, 280, 300, 320, 350 или 365 дней. Снижение дозы в течение каникул лекарственного средства может быть от 10 до 100%, включая, только в качестве примера, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100%.

При улучшении состояния пациента вводится поддерживающая доза, если это необходимо. Впоследствии, дозировка или частота введения или то и другое могут быть уменьшены, в зависимости от симптомов, до уровня, при котором поддерживается облегченное состояние болезни, нарушения или состояния. Пациентам может, однако, потребоваться периодическое лечение в течение долгого времени при любом рецидиве симптомов.

Количество конкретного агента, которое будет соответствовать такому количеству, варьирует в зависимости от факторов, таких как конкретное соединение, болезнь или состояние и их тяжесть, индивидуальных качеств (например, вес) объекта или организма, нуждающегося в лечении, однако такое количество можно определить обычными способами, известными в данной области, и согласно конкретным сопутствующим обстоятельствам, включая, например, конкретный применяемый агент, путь введения, состояние, подвергаемое лечению, и объект или организм, подвергающийся лечению. Как правило, дозы, применяемые для лечения взрослого человека, обычно находятся в диапазоне 0,02-5000 мг в день или приблизительно от 1-1500 мг в день. Необходимую дозу для удобства можно представить в виде однократной дозы или ее можно разделить на дозы, вводимые одновременно (или с коротким промежутком времени) или с подходящим интервалом времени, например две, три, четыре или более субдоз в день.

Фармацевтическая композиция, описанная в настоящем документе, может быть в стандартной лекарственной форме, подходящей для единственного введения точной дозы. В стандартной лекарственной форме лекарственная форма разделена на однократные дозы, содержащие адекватные количества одного или более соединений. Однократная доза может быть в форме упаковки, содержащей дискретные количества композиции. Неограничивающие примеры представляют собой упакованные таблетки или капсулы и порошки в пробирках или ампулах. Композиции в форме водных суспензий могут быть упакованы в контейнеры, содержащие однократные дозы и неподдающиеся повторной герметизации. С другой стороны, можно применять содержащие многократные дозы и поддающиеся повторной герметизации контейнеры, в этом случае, как правило, композиция содержит консервант. Только в качестве примера композиции для парентеральной инъекции могут быть представлены в стандартных лекарственных формах, которые включают, без ограничения, ампулы или контейнеры, содержащие многократные дозы, с добавлением консерванта.

Вышеизложенный спектр является только предположительным, поскольку количество переменных в отношении индивидуального режима лечения велико, и значительные отклонения от этих рекомендованных значений являются весьма обычными. Эти дозировки могут быть изменены в зависимости от множества переменных, не ограниченных активностью применяемого соединения, болезни или состояния, подвергаемого лечению, способа введения, потребности индивидуального субъекта, тяжести болезни или состояния, подвергаемого лечению, и мнения лечащего врача.

Токсичность и терапевтическую эффективность таких режимов лечения можно определить в соответствии со стандартными фармацевтическими способами в клеточных культурах или на моделях животных, включая без ограничения, определением  $LD_{50}$  (доза, смертельная для 50% популяции) и  $ED_{50}$  (доза, терапевтически эффективная для 50% популяции). Отношение между токсичными и терапевтическими эффектами дозы - это терапевтический индекс, который может быть выражен как отношение между  $LD_{50}$  и  $ED_{50}$ . Соединения, демонстрирующие высокие терапевтические индексы, предпочтительны. Данные, полученные в результате анализа клеточной культуры и исследования экспериментальных животных, могут использоваться в определении диапазона дозировки для применения при лечении человека. Дозировка таких соединений предпочтительно находится в пределах диапазона циркулирующих концентраций, которые включают  $ED_{50}$  с минимальной токсичностью. Дозировка может изменяться в пределах этого диапазона в зависимости от применяемой формы дозирования и применяемого пути введения.

Комбинированное лечение.

Соединения, представляющие собой необратимые ингибиторы Vtk, описанные в настоящем изобретении, можно также применять в комбинации с другими известными терапевтическими реагентами, которые выбирают на основании их терапевтической пользы для состояния, подвергаемого лечению. Как правило, композиции, описанные в настоящем изобретении и в воплощениях, в которых применяют комбинированную терапию, другие агенты не следует вводить в той же самой фармацевтической композиции, и, возможно, по причине различных физических и химических особенностей их следует вводить различными способами. Определение способа введения и целесообразности введения, где это только

возможно, в том же самом фармацевтическом составе находится в пределах компетенции квалифицированного клинического врача. Начальное введение может быть выполнено согласно установленным протоколам, известным в данной области, а затем на основании наблюдаемых эффектов дозировка, способы введения и время введения могут быть изменены квалифицированным клиническим врачом.

В определенном случае может потребоваться введение по меньшей мере одного описанного в настоящем изобретении соединения, представляющего собой необратимый ингибитор Vtk, в комбинации с другим терапевтическим агентом. Только в качестве примера, если один из побочных эффектов, который испытывает пациент, после получения одного из соединений, представляющих собой необратимый ингибитор Vtk, описанный в настоящем изобретении, представляет собой тошноту, то может быть целесообразно применить агент против тошноты в комбинации с исходным терапевтическим агентом. Или только в качестве примера терапевтическая эффективность одного из описанных в настоящем патенте соединений может быть увеличена введением вспомогательного фактора (т.е. в отдельности вспомогательный фактор может иметь минимальную терапевтическую пользу, но в комбинации с другим терапевтическим агентом общая терапевтическая польза для пациента увеличивается). Или только в качестве примера польза, получаемая пациентом, может быть увеличена введением одного из соединений, описанных в настоящем патенте, с другим терапевтическим агентом (который также включает терапевтический режим), также имеющим терапевтическую пользу. В любом случае независимо от болезни, нарушения или состояния, подвергаемого лечению, совокупная выгода, полученная пациентом, может быть просто суммой таковых из двух терапевтических агентов или пациент может получить синергичную выгоду.

Конкретный выбор применяемых соединений зависит от диагноза лечащих врачей и их суждения о состоянии пациента и подходящего протокола лечения. Соединения можно вводить одновременно (например, одновременно, по существу одновременно или в пределах того же самого протокола лечения) или последовательно, в зависимости от характера болезни, нарушения или состояния, состояния пациента и фактического выбора используемых соединений. Определение порядка введения и количества повторений введения каждого терапевтического агента в течение протокола лечения сможет определить квалифицированный врач после оценки болезни, подвергаемой лечению, и состояния пациента.

Специалистам в данной области известно, что терапевтически эффективные дозировки могут меняться при применении препаратов в комбинированном лечении. Способы для экспериментального определения терапевтически эффективных дозировок препаратов и других агентов для применения в режимах комбинированного лечения описаны в литературе. Например, применение равномерного дозирования, т.е. введение более частых и меньших доз для минимизации токсичных побочных эффектов, описано в литературе. Комбинированное лечение, кроме того, включает периодическое лечение, которое начинается и останавливается в различное время в соответствии с планом лечения пациента.

В комбинированной терапии, описанной в настоящем патенте, дозировки совместно вводимых соединений, несомненно, меняются в зависимости от типа применяемого вспомогательного лекарственного средства, специфики применяемого лекарственного средства, болезни или состояния, подвергаемого лечению, и т.д. Кроме того, при введении соединения, предусмотренного настоящим изобретением, совместно с одним или более биологически активным агентом можно осуществлять его введение либо одновременно с биологически активным агентом (агентами), либо последовательно. При последовательном введении лечащий врач выбирает адекватную последовательность введения белка в комбинации с биологически активным агентом (агентами).

В любом случае различные терапевтические агенты, один из которых представляет собой соединение формулы D, описанные в настоящем изобретении, можно вводить любом порядке или даже одновременно. При одновременном введении терапевтические средства могут быть представлены в однократной стандартной форме или в многократных формах (только в качестве примера, либо в виде одной таблетки, либо в виде двух отдельных таблеток). Одно из терапевтических средств можно вводить в виде многократных доз или оба можно вводить в виде многократных доз. Если введение не одновременное, выбор промежутка времени между введениями многократных доз может изменяться от более нуля недель до менее четырех недель. Кроме того, способы комбинирования, композиции и лекарственные формы не ограничены применением только двух средств; также предполагается применение многих терапевтических комбинаций.

Предполагается, что режим дозирования для лечения, для предотвращения или облегчения состояния (состояний), подлежащего лечению, может изменяться в зависимости от различных факторов. Эти факторы включают нарушение, которым страдает объект, а также возраст, вес, пол, диету и клиническое состояние объекта. Таким образом, фактически применяемый режим дозирования может сильно меняться и поэтому может отклоняться от режимов дозирования, сформулированных в настоящем описании.

Фармацевтические агенты, составляющие комбинированную терапию, описанную в настоящем изобретении, могут находиться в комбинированной лекарственной форме или в отдельных лекарственных формах, предназначенных, по существу, для одновременного введения. Фармацевтические агенты, составляющие комбинированную терапию, можно также вводить последовательно с любым терапевтическим соединением, вводимым согласно режиму, предусматривающему двухступенчатое введение.

Двухступенчатый режим введения может требовать последовательного введения активных агентов или раздельного обособленного введения отдельных активных агентов. Период времени между различными стадиями введения может составлять от нескольких минут до нескольких часов, в зависимости от свойств каждого фармацевтического агента, таких как сила, растворимость, биодоступность, плазменный период полураспада и кинетический профиль фармацевтического агента. Суточное изменение концентрации целевой молекулы может также определить оптимальный интервал доз.

Кроме того, соединения, описанные в настоящем изобретении, также можно применять в комбинации с процедурами, которые могут обеспечить аддитивную или синергичную пользу для пациента. Только в качестве примера ожидается, что пациенты получают терапевтическую и/или профилактическую пользу в способах, описанных в настоящем патенте, при которых фармацевтическая композиция соединения, описанного в настоящем изобретении, и/или комбинации с другими способами терапии объединяют с генетическим исследованием для определения того, является ли объект носителем мутантного гена, для которого известно, что он коррелирует с определенными болезнями или состояниями.

Соединения, описанные в настоящем изобретении, и способы комбинированной терапии можно применять перед, в течение или после возникновения болезни или состояния, и расписание применения композиции, содержащей соединение, может варьировать. Таким образом, например, соединения можно применять как профилактическое средство и можно вводить непрерывно объектам со склонностью к развитию состояния или болезни для предотвращения возникновения заболевания или состояния. Композиции и соединения можно вводить объекту в течение или сразу же после проявления симптомов. Введение соединений может быть начато в течение первых 48 ч после проявления симптомов, в течение первых 6 ч после проявления симптомов или в течение 3 ч после проявления симптомов. Начальное введение можно осуществлять посредством любого удобного пути, такого как, например, внутривенная инъекция, болюсное вливание, вливание более чем от 5 мин до приблизительно 5 ч, введение с помощью таблетки, капсулы, трансдермального пластыря, буккальное введение и т.п. или комбинации этих способов. Соединение следует вводить по возможности сразу же после того, как возникновение болезни или состояния обнаружено или заподозрено, и в течение периода времени, необходимого для лечения болезни, такого как, например, приблизительно от 1 до приблизительно 3 месяцев. Продолжительность лечения может меняться для каждого объекта, и продолжительность можно определить с использованием известных критериев. Например, соединение или лекарственную форму, содержащую соединение, можно вводить в течение по меньшей мере 2 недель, от приблизительно 1 месяца до приблизительно 5 лет, от приблизительно 1 месяца до приблизительно до 3 лет.

Если объект страдает от аутоиммунного заболевания, воспалительной болезни или аллергической болезни или существует риск развития подобных болезней, соединение-необратимый ингибитор Vtk можно применять в любой комбинации с одним или более из следующих терапевтических агентов: иммуносупрессоры (например, такролимус, циклоспорин, рапамицин, метотрексат, циклофосфамид, имуран, меркаптопурин, микофенолат или FTY720), глюкокортикоиды (например, преднизон, ацетат кортизона, преднизолон, метилпреднизолон, дексаметазон, бетаметазон, триамцинолон, беклометазон, флудрокортизон ацетат, дезоксикортикостерон ацетат, альдостерон), нестероидные противовоспалительные препараты (например, салицилаты, арилалканойная кислота, 2-арилпропионовая кислота, N-арилантраниловая кислота, оксикамы, коксибы или сульфоанилиды), Cox-2-специфические ингибиторы (например, валдекоксиб, целекоксиб или рофекоксиб), лефлуномид, ауотиоглюкоза, тиомалат золота, ауофин, сульфасалазин, гидроксихлорохин, миноциклин, ФНО- $\alpha$  связывающие белки (например, инфликсимаб, этанерцепт или адалимумаб), абатацепт, анакинра, интерферон- $\beta$ , интерферон- $\gamma$ , интерлейкин-2, антиаллергические вакцины, антигистамины, антилейкотриены, бета-агонисты, теофиллин или антихолинергические средства.

Если объект страдает от В-лимфоцитарного пролиферативного нарушения (например, плазмоклеточная миелома) или если существует риск развития такого нарушения, пациента можно лечить соединением, являющимся необратимым ингибитором Vtk в любой комбинации с одним или более другими противораковыми агентами. В некоторых воплощениях один или более противораковых агентов - это проапоптотические агенты. Примеры противораковых агентов включают, без ограничения, любой из следующих агентов: госсифол, генасенс, полифенол Е, хлорофузин, полностью трансретиноевая кислота (ATRA), биостатин, подобный фактору некроза опухоли апоптоз, индуцирующий лиганд (TRAIL), 5-аза-2'-дезоксцитидин, полностью трансретиноевая кислота, доксорубин, винкристин, этопозид, гемцитабин, иматиниб (Гливек®), гелданамицин, 17-N-аллиламино-17-деметоксигелданамицин (17-AAG), флавопиридол, LY294002, бортезомиб, герцептин, BAY 11-7082, PKC412 или PD184352, Таксол™, также называемый "паклитаксел", который является известным лекарственным противораковым агентом, который действует, усиливая и стабилизируя формирование микротрубочек, и аналоги Таксола™, такие как Таксотер™. Соединения, которые содержат основной скелет таксана в качестве общей особенности структуры, также оказались способны к аресту клеток в фазе G2-M вследствие стабилизации микротрубочек и могут быть полезными для лечения рака в комбинации с соединениями, описанными в настоящем патенте.

Дополнительные примеры противораковых агентов для применения в комбинации с соединением-необратимым ингибитором Vtk включают ингибиторы сигналинга митогенактивируемой протеинкиназы, например U0126, PD98059, PD184352, PD0325901, ARRY-142886, SB239063, SP600125, BAY 43-9006, вортманин или LY294002; ингибиторы Syk; ингибиторы mTOR и антитела (например, ритуксан).

Другие противораковые агенты, которые можно применять в комбинации с соединением-необратимым ингибитором Vtk включают адриамицин, дактиномицин, блеомицин, винбластин, цисплатин, ацивицин; акларубицин; акодозол гидрохлорид; акронин; адозелезин; алдеслейкин; алтреамин; амбомицин; аметантрон ацетат; аминоклутетимид; амсакрин; анастрозол антрамицин; аспарагиназа; асперлин; азацитидин; ацетеп; азотомидин; батимастат, бензодепа; бикалутамид; бисантрен гидрохлорид; биснафид димезилат; бизелезин; блеомицин сульфат; брехинар натрия; бропиримин; бусульфан; кактиномицин; калустерон; карацемид; карбетимер; карбоплатин; кармустин; карубицин гидрохлорид; карзелезин; кеденефингол; хлорамбуцил; циролемицин; кладрибин; криснатол мезилат; циклофосфамид; цитарабин; декарбазин; даунорубицин гидрохлорид; декитабин; дексормаплатин; дезагуанин мезилат; диазихинон; доксорубицин; доксорубицин гидрохлорид; дролоксифен; цитрат дролоксифен; пропионат дромостанолон; дуазомицин; едотрексат; гидрохлорид эфторнитин; элсамитрузин; энлоплатин; энпромаг; эпипропидин; гидрохлорид эпирубицин; эрбулозол; эсорубицин гидрохлорид; эстрамустин; эстрамустина натрий фосфат; этанидазол; этопозид; этопозид фосфат; этоприн фадрозола; гидрохлорид; фазарабин; фенретирид; флоксуридин; фосфат флударабин; фтороурацил; флуроситабин; фосхидон; натрий фостриецин; гемситабин; гемситабина гидрохлорид; гидроксимочевина; идарубицина гидрохлорид; ифосфамид; иимофосин; интерлейкин (включая рекомбинантный интерлейкин, или  $\text{IL2}$ ), интреферон альфа-2а; интерферон альфа-2b; интерферон альфа-n1; интерферон альфа-n3; интерферон бета-1а; интерферон гамма-1b; ипроплатин; иринотекана гидрохлорид; ланреотида ацетат; летрозол; леупролид ацетат; лиарозола гидрохлорид; натрий лометрексол; ломустин; лосоксантрона гидрохлорид; макопрозол; маитанзин; мелхлоретамин гидрохлорид; ацетат мегестрол; меленгестрол ацетат; мелфалан; меногарил; меркаптопурин; метотрексат; натрий метотрексат; метоприн; метуредепа; митиндомид; митосарцин; митокромин; митогиллин; митомалцин; митомицин; митоспер; митоган; митоксантрона гидрохлорид; микофеноловая кислота; носодазой; ногаламицин; ормаплатин; оксисуран; пегаспаргаз; пелиомицин; пентамустин; пепломицина сульфат; перфосфамид; пипоброман; пипосульфат; пироксантрона гидрохлорид; плимсамицин; плместан; натрий порфимер; порфирамицин; преднимустин; прокарбазина гидрохлорид; пурамицин; гидрохлорид пурамицин; пиразофуридин; рибоприн; роглетимид; сафингол; сафингола гидрохлорид; семустин; симтразен; натрий спарфосат; спарсомисин; спирогерманиума гидрохлорид; спирумустин; спиролатин; стрептоницин; стрептозоцин; сулофенур; талисомицин; текогалан натрия; тегафур; телоксантрона гидрохлорид; темопорфин; тенипозид; тероксирон; тестоластон; тиамиприн; тиогуанин; тиотепа; тиазофуридин; тирапазамин; торемифена цитрат; трестолона ацетат; трицирибина фосфат; триметрексат; триметрексата глюкуронат; трипторелин; тубулозола гидрохлорид; урацил иприт; уредепа; вапреотид; вертепорфин; винбластин сульфат; винкристина сульфат; виндесин; виндесина сульфат; винепидина сульфат; винглицината сульфат; винлейрозина сульфат; винорелбина тартрат; винрозидина сульфат; винзолидина сульфат; ворозол; зениплатин; зиностагин; зорубицина гидрохлорид.

Другие противораковые агенты, которые можно применять в комбинации с соединением-необратимым ингибитором Vtk, включают 20-эпи-1,25 дигидроксивитамин D3; 5-этинилурацил; абиратерон; акларубицин; ацифлювен; адаципенон; адозелезин; алдеслейкин; ALL-ТК антагонисты; алтреамин; амбамустин; амидокс; амифостин; аминоклевулиновая кислота; амрубицин; амсакрин; анагрелид; анастрозол; андрографолид; ингибиторы ангиогенеза; антагонист D; антагонист G; антареликс; антидорзализирующий морфогенетический белок 1; антиандроген карциномы предстательной железы; антиэстроген; антинеопластон; антисенс олигонуклеотиды; афидиколин глицинат; модуляторы генов апоптоза; регуляторы апоптоза; апуриновая кислота; ага-CDP-DL-PTBA; аргинин деаминаза; асулакрин; атаместан; атримустин; аксинастатин 1; аксинастатин 2; аксинастатин 3; азасетрон; азатоксин; азатирозин; производные баккатина; баланол; батимастат; антагонисты BCR/ABL; бензохлорины; бензоилстауриспорин; бета производные лактама; бета-алетин; бета-сламицин В; бетулиновая кислота; ингибитор bFGF; бисалутамид; бисантрен; бисазиридинилспермин; биснафид; бистратен А; бизелезин; брефлат; бропиримин; будотитан; бутинин сульфоксимин; салсипотриол; салфостин С; производные камптотецина; канарипокс ИЛ-2; капечитабин; карбоксамид-аминотриазол; карбоксиамидотриазол; CaRest M3; CARN 700; полученный из хряща ингибитор; карзелезин; ингибиторы казеин киназы (ICOS); кастаноспермин; кекропин В; цетрореликс; хлорины; сульфонамид хлорохиноксалин; цикапрост; цис-порфирин; кладрибин; аналоги сломифена; клотримазол; коллисмидин А; коллисмидин В; комбретастатин А4; аналог комбретастатина; конагенин; крамбесцидин 816; криснатол; криптофицин 8; производные криптофицина; курацин А; циклопентантрахиноны; циклоплатам; ципемисин; цитарабина оксифосфат; цитолитический фактор; цитостатин; дакликсимаб; децитабин; дегидродидемнин В; деклорелин; дексаметазон; дексифосфамид; дексразоксан; дексверапамил; диазихинон; дидемнин В; дидокс; диэтилнорспермин; дигидро-5-азацитидин; 9-диоксамицин; дифенил спирумустин; докосонол; доласетрон; доксифлуридин; дролоксифен; дронабинол; дуосармицин SA; эбселен; экомустин; эделфозин; эдрекломаб; эфлорнитин; элемен; эмитефур; эпирубицин; эпистерид; аналог эстрамустина; агонисты эстрогена; антагонисты эстрогена; этанидазол;

этопозид фосфат; эксеместан; фадрозол; фазарабин; фенретинид; филграстим; финастерид; флавопиридол; флезеластин; флуастероне; флударабин; флуородаунорунцина гидрохлорид; форфенимекс; форместан; фостриецин; фотемустин; гадолиний тексафирин; нитрат галлия; галоцитабин; ганиреликс; ингибиторы желатиназы; гемситабин; ингибиторы глутатиона; гепсулфам; герегулин; гексаметилен бисацетамид; гиперицин; ибандроновая кислота; идарубицин; идоксифен; идрамантоне; илмофозин; иломастат; имидазоакридоны; имихимод; пептиды иммуностимуляторы; ингибитор рецептора инсулиноподобного фактора роста-1; агонисты интерферона; интерфероны; интерлейкины; иобенгуан; йододексорубицин; 4-ипомеанол; иропласт; ирсогладин; изобенгазол; изогомогалисондрин В; итасетрон; ясплакинолид; кахалалид F; ламелларин-N триацетат; ланреотид; леинамицин; ленограстим; лентинана сульфат; лептолстатин; летрозол; лейкоз ингибирующий фактор; лейкоцитарный интерферон альфа; лейпролид+эстроген+прогестерон; лейпрорелин; левамизол; лиарозол; аналог линейного полиамина; липофильный пептид с дисахаридом; липофильные соединения платины; ликсослинамид 7; лобоплатин; ломбрисин; лометрексол; лонидамин; лосоксантроне; ловастатин; локсорибин; луртотесан; лутериум тексафирин; лисофиллин; литические пептиды; маитанзин; манностатин А; маримастат; масопросол; маспин; ингибиторы матрилизина; ингибиторы металлопротеиназ матрикса; меногарил; мербарон; метерелин; метионинасе; метослопрамид; ингибитор МИФ; мифепристон; милтефозин; миримостим; двуцепочечная РНК с основаниями, спаренными вопреки принципу комплементарности; митогуазоне; митогластол; аналоги митомицина; митонафид; фактор-сапорин роста фибробласта митотоксин; митоксантрон; мофаротен; молграмостим; моноклональные антитела к хориальному гонадотропину человека; монофосфорил липид А+миобактериальный ск клеточной стенки; мопидамол; ингибитор генов множественной устойчивости к лекарственным средствам; супрессор множества опухолей на основе терапии 1; противораковый агент иприт; микапероксид В; экстракт клеточной стенки микобактерий; мирапорон; N-ацетилдиналин; N-замещенные бензамиды; нафарелин; нагрестип; налоксон+пентазоцин; напавин; нафтерпин; нартограстим; недаплатин; неморубицин; неридроновая кислота; нейтральная эндопептидаза; нилутамид; никамицин; модуляторы оксида азота; нитроксидный антиоксидант; нитруллин; Об-40 бензилгуанин; остреотид; окисенон; олигонуклеотиды; онапристон; ондансетрон; орасин; оральный индуктор цитокина; ормаплатин; осатерон; оксалиплатин; оксауномицин; палауамин; палинитоилфизоксин; памидроновая кислота; панакситриол; паномифен; парабастин; пазеллиптин; пегаспаргас; пелдезин; натрий полисульфат пентосан; пентостатин; пентрозол; перфлуброн; перфосфамид; периллил алкоголь; феназиномицин; фенилацетат; ингибиторы фосфатазы; писибанил; гидрохлорид пилокарпина; пирарубицин; пиритрексим; плакетин А; плакетин В; ингибитор активатора плазмогена; комплекс платины; соединения платины; платиновый-триамин комплекс; натрий порфимер; порфиксомицин; преднизон; пропи-л-бис-акридон; простагландин J2; ингибиторы протеасомы; белковые А-основанные иммунные модуляторы; ингибитор протеинкиназы С; ингибиторы протеинкиназы С микроводорослей; ингибиторы белка тирозинфосфатазы; ингибиторы фосфорилазы пуриновых нуклеозидов; пурпурины; пиразолоакридин; пиридоксилорированный гемоглобин полиоксиэтилерие конъюгат; raf антагонисты; ралтитрексед; рамосетрон; ингибиторы белка gas фарнезил трансферазы; ингибиторы gas; ингибитор Rap-GAP; ретеллиптин деметилатед; рения Re 186 этидронат; физоксин; рибозимы; RII ретинамид; роглетиамид; рохитуклин; ромуртид; рохинимекс; рубигиноне В1; рубоксил; сафингол; саинтопин; SarCNU; саркофитол А; сарграмостим; Sdi 1 миметики; семустин; полученный из стареющих тканей ингибитор 1; смысловые олигонуклеотиды; ингибиторы трансдукции сигнала; модуляторы трансдукции сигнала; одноцепочечные связывающие антиген белки; сизофиран; собузоксан; боросаптата натрия; фенилацетат натрия; солверол; соматомедин связывающий белок; сонермин; спарфосивая кислота; спикамицин D; спирумустин; спленопентин; спонгистатин 1; скваламин; ингибитор стволовых клеток; ингибиторы деления стволовых клеток; стипиамид; ингибиторы стромелизина; сулфинозин; антагонист суперактивного вазоактивного кишечного пептида; сурадиста; сурамин; свайнсонин; синтетические гликозаминогликаны; таллимустин; тамоксифен метиодид; тауромустин; тазаротен; натрий текогалан; тегафур; теллурапирилиум; ингибиторы теломераз; темопорфин; темозоломид; тенипозид; тетрахлородекаоксид; тетразомин; талибластин; тиокоралин; тромбопоиетин; миметики тромбопоиетина; тималфазин; агонист рецептора тимопоиетина; тимотринан; гормоны, стимулирующие щитовидную железу; оловянный этил этиопурпурин; тирапазамин; титаносена бихлорид; топсентин; торемифен; фактор тотипотентности стволовых клеток; ингибиторы трансляции; третиноин; триацетилуридин; трицирибин; триметрексет; трипторелин; трописетрон; туростерид; ингибиторы тирозинкиназы; тирфостины; ингибиторы UBC; убенимекс; полученный из мочевого синуса подавляющий рост фактор; антагонисты рецептора урокиназы; вапреотид; вариолин В; система векторов генной терапии эритроцитов; веларесол; верамин; вердины; вертепорфин; винорелбин; винксалтин; витаксин; ворозол; занотерон; зениплатин; зиласкорб и зиностатин стималамер.

Кроме того, другие противораковые агенты, которые можно применять в комбинации с соединением-необратимым ингибитором Vtk, включают алкилирующие агенты, антиметаболиты, природные продукты или гормоны (например, азотистый иприт, мехлорозтамин, циклофосфамид, хлорамбуцил и т.д.), алкилированные сульфонаты (например, бусульфан), нитрозомочевины (например, кармустин, ломустин, и т.д.) или триазены (декарбазин и т.д.). Примеры антиметаболитов включают, без ограничения, аналоги фолиевой кислоты (например, метотрексат) или аналоги пиримидина (например, цитарабин), аналоги

пурина (например, меркаптопурин, тиогуанин, пентостатин).

Примеры природных продуктов, применимых в комбинации с соединением-необратимым ингибитором Vtk, включают, без ограничения, алкалоиды барвинка (например, винбластин, винкристин), эпиподофиллотоксины (например, этопозид), антибиотики (например, даунорубин, доксорубин, блеомицин), ферменты (например, L-аспарагиназа) или модификаторы биологического ответа (например, альфа-интерферон).

Примеры алкилирующих агентов, применимых в комбинации с соединением-необратимым ингибитором Vtk, включают, без ограничения, азотистый иприт (например, мехлорэтамин, циклофосфамид, хлорамбуцил, менфалан и т.д.), этиленимин и метилмеламины (например, гексаметилмеламин, тиотеп), алкилированные сульфаты (например, бусульфат), нитрозомочевины (например, кармустин, ломустин, семустин, стрептозоцин и т.д.) или триазены (декарбазин и т.д.). Примеры антиметаболитов включают, без ограничения, аналог фолиевой кислоты (например, метотрексат) или аналоги пиримидина (например, фторурацил, флоксоуридин, цитарабин), аналоги пурина (например, меркаптопурин, тиогуанин, пентостатин).

Примеры гормонов и антагонистов, применимых в комбинации с соединением-необратимым ингибитором Vtk, включают, без ограничения, аденокортикостероиды (например, преднизон), прогестины (например, гидроксипрогестерона капроат, мегестрола ацетат, медроксипрогестерона ацетат), эстрогены (например, диэтилстильбестрол, этинил эстрадиол), антиэстроген (например, тамоксифен), андрогены (например, пропионат тестостерона, флуоксиместерон), антиандроген (например, флутамид), аналог гонадотропин-рилизинг гормона (например, лейпролид). Другие агенты, которые можно применять в способах и композициях, описанных в настоящем патенте, для лечения или профилактики рака, включают координационные комплексы платины (например, цисплатин, карбоплатин), антрацендион (например, митоксантрон), замещенную мочевины (например, гидроксимочевина), производные метилгидразина (например, прокарбазин), аденокортикальный супрессант (например, митотан, аминоклотетимид).

Примеры противораковых агентов, которые осуществляют "арест" клеток в фазе G2-M вследствие стабилизации микротрубочек и которые можно применять в комбинации с соединением-ингибитором Vtk, включают, без ограничений, следующие из коммерчески доступных препаратов и разрабатываемых препаратов: эрбулозол (также известный как P-55104), доаастатин (также известный как DLS-10 и NSC-376128), мивобулин изетионат (также известный как CI-980), винкристин, NSC-639829, дискодермолиде (также известный как NVP-XX-A-296), АВТ-751 (Абботт, также известный как E-7010), алтофиртины (такие как алтофиртин А и алторпиртин С), спонгистатины (такие как спонгистатин 1, спонгистатин 2, спонгистатин 3, спонгистатин 4, спонгистатин 5, спонгистатин 6, спонгистатин 7, спонгистатин 8 и спонгистатин 9), цемадотина гидрохлорид (также известный как LU-103793 и NSC-D-669356), эпотилоны (такие как эпотилон А, эпотилон В, эпотилон С (также известный как дезоксиэпотилон А или dEpoA), эпотилон D (также называемый KOS-862, dEpoB и дезоксиэпотилон В), эпотилон E, эпотилон F, N-оксид эпотилона В, N-оксид эпотилона А, 16-азаэпотилон В, 21-аминоэпотилон В (также известные как BMS-310705), 21-гидроксиэпотилон D (также известный как дезоксиэпотилон F и dEpoF), 26-флуороэпотилон), ауристатин PE (также известный как NSC-654663), соблидотин (также известный как TZT-1027), LS-4559-P (Фармация, также известный как LS-4577), LS-4578 (Фармация, также известный как LS-477-P), LS-4477 (Фармация), LS-4559 (Фармация), RPR-112378 (Авентис), винкристина сульфат, DZ-3358 (Даичи), FR-182877 (Фудзисава, также известный как WS-9885B), GS-164 (Такеда), GS-198 (Такеда), KAR-2 (Академия наук Венгрии), BSF-223651 (BASF, также известный как ILX-651 и LU-223651), SAN-49960 (Лилли/Новартис), SDZ-268970 (Лилли/Новартис), AM-97 (Армад/Куова Хакко), AM-132 (Армад), AM-138 (Армад/Куова Хакко), IDN-5005 (Индена), Криптофицин 52 (также известный как LY-355703), AC-7739 (Ажиномото, также известный как AVE-8063A и CS-39.HCl), AC-7700 (Ажиномото, также известный как AVE-8062, AVE-8062A, CS-39-L-Ser.HCl и RPR-258062A), вилтевуамид, тубулизин А, канаденсол, центауреидин (также известный как NSC-106969), T-138067 (Туларик, T-67, TL-138067 и TI-138067), COBRA-1 (Институт Паркера Хьюджеса, также известный как DDE-261 и WHI-261), H10 (Канзасский Государственный Университет), H16 (Канзасский Государственный Университет), онкоцидин AI (также известный как BTO-956 и DIME), DDE-313 (Институт Паркера Хьюджеса), фиджианолид В, лаулималид, SPA-2 (Институт Паркер Хьюджеса), SPA-1 (Институт Паркера Хьюджеса, также известный как SPIKET-P), 3-IAABU (Цитоскелет/Мт. Синайская школа медицины, также известный как MF-569), наркозин (также известный как NSC-5366), наскапин, D-24851 (Аста Медика), A-105972 (Абботт), немиастерлин, 3-BAABU (Цитоскелет/Мт. Синайская школа медицины, также известный как Mf-191), TMPN (Аризонский Государственный Университет), ванадоцена ацетилацетонат, T-138026 (Туларик), монсатрол, гианоцин (также известный как NSC-698666), 3-IAABE (Цитоскелет/Мт. Синайская школа медицины), A-204197 (Абботт), T-607 (Туларик, также известный как T-900607), RPR-115781 (Авентис), элеутеробины (такие как десметилэлеутеробин, дезаэтилэлеутеробин, изоэлеутеробин А и Z-элеутеробин), карибаезид, карибаеолин, халихондрин В, D-64131 (Аста Медика), D-68144 (Аста Медика), диазонамид А, A-293620 (Абботт), NPI-2350 (Нереус), таксанолид А, TUB-245 (Авентис), A-259754 (Абботт), диозостатин, (-)-фенилагистин (также известный как NSCL-96F037), D-68838 (Аста Медика), D-68836 (Аста Медика), миосеврин В, D-43411 (Центарис, также известный как

D-81862), A-289099 (Абботт), A-318315 (Абботт), НТИ-286 (также известный как SPA-110, трифлуороацетат) (Виет), D-82317 (Центарис), D-82318 (Центарис), SC-12983 (NCI), ресверастатина натрий фосфат, BPR-OY-007 (Национальный научно-исследовательский институт здоровья) и SSP-250411 (Санофи).

Если объект страдает от тромбоземболического нарушения (например, удар) или существует риск развития такого нарушения, объект можно лечить с помощью соединения-необратимого ингибитора Vtk в любой комбинации с одним или более других антитромбоземболических агентов. Примеры антитромбоземболических агентов включают, без ограничения, любой из следующих агентов: тромболитические агенты (например, алтеплаза анистреплаза, стрептокиназа, урокиназа или активатор тканевого плазминогена), гепарин, тинзапарин, варфарин, дабигатран (например, дабигатран этексилат), фактор ингибитор фактора Ха (например, фондапаринукс, драпаринукс, ривароксабан, DX-9065a, отамиксабан, LY517717 или YM150), тиклопидин, клопидогрел, CS-747 (прасугрел, LY640315), ксимелагатран или BIBR 1048.

Наборы /изделия.

Также предусмотрены наборы и изделия для применения в описанных в настоящем патенте терапевтических целях. Такие наборы могут включать носитель, упаковку или контейнер, разделенный на один или более контейнер, такие как ампула, пробирка, и т.п., каждый из контейнеров включает один из отдельных элементов, используемых в способе согласно настоящему изобретению. Подходящие контейнеры включают, например, пузырьки, ампулы, шприцы и пробирки. Контейнеры могут быть выполнены из разнообразных материалов, таких как стекло или пластмасса.

Изделия согласно настоящему изобретению содержат упаковочные материалы. Упаковочные материалы для применения в упаковке фармацевтических продуктов известны специалистам в данной области. См. патенты США № 5323907, 5052558 и 5033252. Примеры фармацевтических упаковочных материалов включают, без ограничения, прозрачные упаковки, бутылки, тюбики, ингаляторы, насосы, сумки, пробирки, контейнеры, шприцы, пузырьки и любой упаковочный материал, подходящий для выбранной лекарственной формы и предполагаемого пути введения и лечения. Предусмотрен широкий спектр лекарственных форм соединений и композиций согласно настоящему изобретению, как и разнообразные способы лечения любой болезни, нарушения или состояния, при котором ингибирование Vtk оказывает благоприятный терапевтический эффект или при котором Vtk является медиатором или обуславливает симптом или причину заболевания.

Например, контейнер (контейнеры) может содержать одно или более соединений, описанных в настоящем патенте, возможно в композиции или в комбинации с другим агентом, как описано в настоящем изобретении. Контейнеры могут иметь отверстие для стерильного доступа (например, контейнер может представлять собой сумку с раствором для внутривенного вливания или пробирку, имеющую пробку, в которую можно ввести иглу для подкожной инъекции). Такие наборы могут включать соединение с идентифицирующим описанием, или этикеткой, или инструкциями, касающимися его применения в способах, описанных в настоящем патенте.

Набор обычно включает один или более дополнительных контейнеров, каждый из которых содержит одно или более различных веществ (таких как реактивы, возможно в концентрированной форме, и/или устройства), желательных с коммерческой точки зрения или с точки зрения потребителя, для применения соединения, описанного в настоящем документе. Неограничивающие примеры таких материалов включают, без ограничения, буферы, растворители, фильтры, иглы, шприцы; носитель, упаковку, контейнер, пробирку и/или ярлыки, тюбики, перечень компонентов и/или инструкции по применению и вкладыш с инструкциями по применению. Часто в состав набора входит комплект инструкций.

Этикетка может находиться на контейнере или может быть приложена к контейнеру. Этикетка может находиться на контейнере, если буквы, цифры или другие характеристики, формирующие этикетку, присоединены, отпечатаны или выгравированы непосредственно на контейнере; этикетка может быть приложена к контейнеру, если она находится внутри емкости или приспособления для переноски, который также содержит контейнер, например, в виде вкладыша. Этикетка может указывать на то, что содержимое следует применять для конкретных терапевтических целей. Этикетка может также содержать указания по применению содержимого в способах, описанных в настоящем патенте.

В некоторых воплощениях фармацевтические композиции могут быть представлены в упаковке или дозирующем устройстве, которое может содержать одну или более стандартных единиц дозирования, содержащих соединение согласно настоящему изобретению. Упаковка может, например, содержать металлическую или пластиковую пленку, такую как блистерная упаковка. К упаковке или дозирующему устройству может быть приложена инструкция по введению. Упаковка или дозатор могут также сопровождаться надписями, связанными с контейнером, в форме, предписанной правительственным органом, регулирующим изготовление, использование и продажу фармацевтических препаратов, такая надпись является отражением одобрения данным органом формы лекарственного средства для введения человеку или для применения в ветеринарии. Такое уведомление, например, может представлять собой маркировку, одобренную Управлением по контролю продуктов питания и лекарственных средств США (FDA) для лекарств, отпускаемых по рецепту, или вкладке с описанием продукта в утвержденной форме. Также могут быть получены композиции, содержащие соединение, предусмотренное настоящим изобретением, в составе препарата с совместимым фармацевтическим носителем, помещенные в подходящий контей-

нер, снабженные информацией о заболеваниях, для лечения которых они показаны.

### Примеры

Приведенные ниже частные неограничивающие примеры следует рассматривать только как иллюстрацию, они никоим образом не ограничивают настоящее изобретение. Без более детального пояснения, предполагается, что специалист в данной области может осуществить его в полном объеме, основываясь на настоящем описании. Все публикации, цитируемые в настоящем описании, включены в полном объеме посредством ссылки. Если ссылка указывает на URL или другой подобный идентификатор или адрес, подразумевается, что такие идентификаторы могут изменяться, и конкретная информация в сети Интернет может появляться и исчезать, но при этом равноценная информация может быть найдена путем поиска в Интернете. Ссылка на данную информацию свидетельствует о том, что она доступна и ее можно распространять.

Пример 1. Синтез соединений.

Получение 4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидина (промежуточное соединение 2).

4-Амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин (промежуточный продукт 2) синтезируют, как описано в международной патентной публикации WO 01/019829. Кратко, 4-феноксифеновую кислоту (48 г) добавляют к тионилхлориду (100 мл) и нагревают в условиях мягкого рефлюкса в течение 1 ч. Тионилхлорид удаляют путем дистилляции, оставшееся масло растворяют в толуоле и летучие вещества удаляют при 80°C/20 мбар. Полученный хлорангидрид растворяют в толуоле (200 мл) и тетрагидрофуране (35 мл). Малонитрил (14,8 г) добавляют, растворяют и перемешивают при -10°C с добавлением диизопропилэтиламина (57,9 г) в толуоле (150 мл), поддерживая температуру ниже 0°C. После 1 ч при 0°C смесь перемешивают при 20°C в течение ночи. Амина гидрохлорид удаляют путем фильтрации и фильтрат высушивают *in vacuo*. Остаток собирают в этилацетат и отмывают 1,25 М серной кислотой, затем рассолом и высушивают над сульфатом натрия. Испарение растворителей дает полутвердый остаток, который обрабатывают небольшим количеством этилацетата, что дает 4,1 г 1,1-дициано-2-гидрокси-2-(4-феноксифенил)этена в виде белого твердого порошка (т.пл. 160-162°C). Фильтрат при выпаривании дает 56,58 (96%) 1,1-дициано-2-гидрокси-2-(4-феноксифенил)этена в виде серо-коричневого твердого вещества, которое является достаточно чистым для дальнейшего применения.

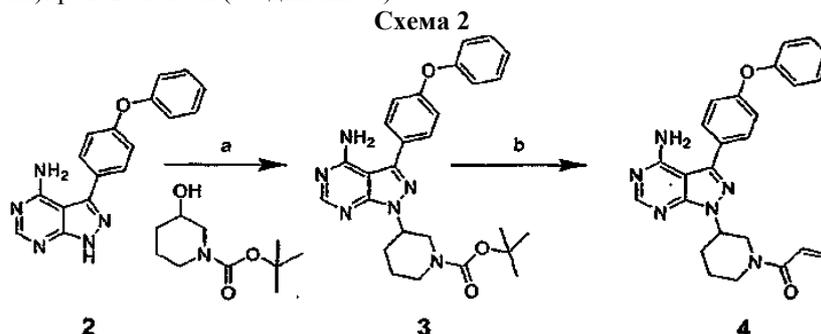
1,1-Дициано-2-гидрокси-2-(4-феноксифенил)этен (56,5 г) в ацетонитриле (780 мл) и метаноле (85 мл) перемешивают под азотом при 0°C с добавлением диизопропилэтиламина (52,5 мл), а затем 2 М триметилсиллдиазометаном (150 мл) в тетрагидрофуране (ТГФ). Реакционную смесь перемешивают в течение 2 дней при 20°C и затем добавляют 2 г диоксида кремния (для хроматографии). Коричнево-красный раствор выпаривают *in vacuo*, остаток растворяют в этилацетате и хорошо промывают водой, а затем соевым раствором, высушивают и выпаривают. Остаток экстрагируют диэтиловым эфиром (3×250 мл) и путем декантирования отделяют от нерастворимого масла. Выпаривание эфирных экстрактов дает 22,5 г 1,1-дициано-2-метокси-2-(4-феноксифенил)этена в виде бледно-оранжевого твердого вещества. Нерастворимое масло очищают путем флэш-хроматографии, что дает 15,0 г красно-оранжевого масла.

1,1-Дициано-2-метокси-2-(4-феноксифенил)этен (22,5 г) и 1,1-дициано-2-метокси-2-(4-феноксифенил)этеное масло (15 г) обрабатывают раствором гидрата гидразина (18 мл) в этаноле (25 мл) и греют на паровой бане в течение 1 ч. Добавляют этанол (15 мл), а затем воду (10 мл), выпавшее в осадок твердое вещество собирают и промывают смесью этанол:вода (4:1) и затем высушивают на воздухе, что дает 3-амино-4-циано-5-(4-феноксифенил)пиразол в виде бледно-оранжевого твердого вещества.

3-Амино-4-циано-5-(4-феноксифенил)пиразол (29,5 г) суспендируют в формамиде (300 мл) и нагревают под азотом при 180°C в течение 4 ч. Реакционную смесь охлаждают до 30°C и добавляют воду (300 мл).

Твердое вещество собирают, хорошо промывают водой, затем метанолом и высушивают на воздухе, что дает 4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d] пиримидин.

Пример 1a. Синтез 1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-он (соединение 4)



Синтез соединения 4:

а) трифенилфосфин, связанный с полимером (TRP), диизопропилдиазокарбоксилат (DIAD), тетрагидрофуран (ТГФ);

б) HCl/диоксан; затем акрилоилхлорид, триэтиламин (TEA).

Соединения, описанные в настоящем изобретении, синтезировали в соответствии со стадиями, показанными на схеме 2. Детальный иллюстративный пример условий реакций, показанных на схеме 2, приведен для синтеза 1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-она (соединение 4).

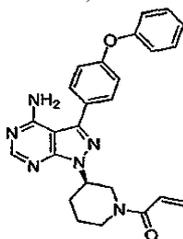
101 мг 4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин и 330 мг полимерсвязанного трифенилфосфина (TRP) (полимерлаб) смешивали с 5 мл тетрагидрофурана (ТГФ). К смеси добавляли трет-бутил-3-гидроксипиперидин-1-карбоксилат (200 мг; 2,0 экв.) с последующим добавлением диизопропила диазокарбоксилата (0,099 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, фильтровали для удаления смолы и реакционную смесь концентрировали и очищали путем флэш-хроматографии (пентанацетат/этил = 1/1), что дает промежуточный продукт 3 (55 мг).

Промежуточный продукт 3 (48,3 мг) обрабатывали 1 мл 4н. HCl в диоксане в течение 1 ч и затем концентрировали досуха. Остаток растворяли в дихлорметане и триэтиламин (0,042 мл) и смешивали с акрилхлоридом (0,010 мл). Реакция была остановлена после 2 ч. Реакционную смесь промывали 5% (по массе) водной лимонной кислотой, а затем соевым раствором. Органическую фазу сушили на MgSO<sub>4</sub> и концентрировали. Флэш-хроматография (с CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH = 25/1) давала 22 мг соединения 4 в виде белого твердого вещества.

MS (M+1): 441,2;

<sup>1</sup>H-ЯМР (400 МГц): 8,26 (s, 1H); 7,65 (m, 2H); 7,42 (m, 2H); 7,1-7,2 (m, 5H); 6,7-6,9 (m, 1H); 6,1 (m, 1H); 5,5-5,7 (m, 1H); 4,7 (m, 1H); 4,54 (m, 0,5H); 4,2 (m, 1H); 4,1 (m, 0,5H); 3,7 (m, 0,5H); 3,2 (m, 1H); 3,0 (m, 0,5H); 2,3 (m, 1H); 2,1 (m, 1H); 1,9 (m, 1H); 1,6 (m, 1H).

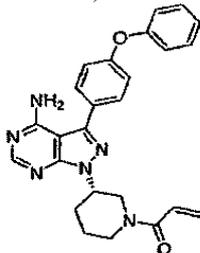
Пример 1b. Синтез 1-((R)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-она (соединение 13)



Синтез соединения 13 осуществляли способом, аналогичным описанному в примере 1а.

EM (рассчит.): 440,2; MS (ESI (ионизация электрораспылением)) m/e (M+1H)<sup>+</sup>: 441,1, (M-1H)<sup>-</sup>: 439,2.

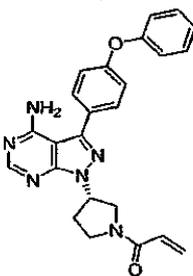
Пример 1с. Синтез 1-((S)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-она (соединение 14)



Синтез соединения 14 осуществляли способом, аналогичным описанному в примере 1а.

EM (рассчит.): 440,2; MS (ESI) m/e (M+1H)<sup>+</sup>: 441,5, (M-1H)<sup>-</sup>: 439,2.

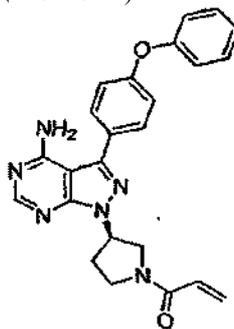
Пример 1d. Синтез 1-((S)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-она (соединение 12)



Синтез данного соединения осуществляли способом, аналогичным описанному в примере 1а.

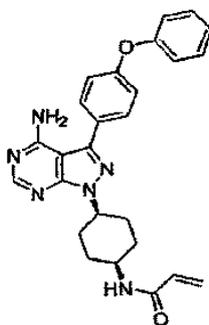
EM (рассчит.): 426,18; MS (ESI) m/e (M+1H)<sup>+</sup>: 427,2, (M-1H)<sup>-</sup>: 425,2.

Пример 1e. Синтез 1-((R)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-она (соединение 11)



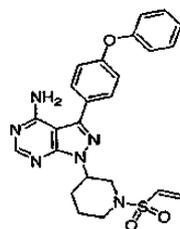
Синтез данного соединения осуществляли способом, аналогичным описанному в примере 1a.  
EM (рассчит.): 426,18; MS (ESI) m/e (M+1H)<sup>+</sup>: 427,2.

Пример 1f. Синтез N-((1s,4s)-4-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)циклогексил)акриламида (соединение 10)



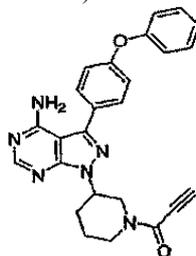
Синтез данного соединения осуществляли способом, аналогичным описанному в примере 1a.  
EM (рассчит.): 454,21; MS (ESI) m/e (M+1H)<sup>+</sup>: 455,1, (M-1H)<sup>-</sup>: 453,1.

Пример 1g. Синтез 1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)сульфонилэтена (соединение 6)



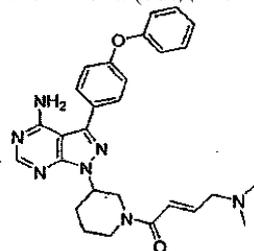
Синтез соединения 6 осуществляли способом, аналогичным описанному в примере 1a.  
EM (рассчит.): 476,16; MS (ESI) m/e (M+1H)<sup>+</sup>: 478,0, (M-1H)<sup>-</sup>: 475,3.

Пример 1h. Синтез 1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ин-1-она (соединение 8)



Синтез соединения 8 осуществляли способом, аналогичным описанному в примере 1a.  
EM (рассчит.): 438,18; MS (ESI) m/e (M+1H)<sup>+</sup>: 439,2, (M-1H)<sup>-</sup>: 437,2.

Пример 1i. Синтез (E)-1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)-4-диметиламино)бут-2-ен-1-она (соединение 15)



Синтез соединения 15 осуществляли способом, аналогичным описанному в примере 1a.

EM (рассчит.): 497,25; MS (ESI) m/e (M+1H)<sup>+</sup>: 498,4, (M-1H)<sup>-</sup>: 496.

Пример 2. Ингибирующая активность в отношении Btk in vitro.

Значения Btk IC<sub>50</sub> соединений, описанных в настоящем патенте, определяли как с помощью анализа киназной активности в бесклеточной системе, так и с помощью функционального клеточного анализа BCR-индуцированного потока кальция, как описано ниже.

Киназную активность Btk определяли с помощью метода резонансного переноса энергии флуоресценции с временным разрешением (TR-FRET). Измерения проводили в реакционном объеме 50 мкл с использованием 96-луночного аналитического планшета. Фермент киназу, ингибитор, АТФ (для K<sub>M</sub> киназы) и 1 мкМ пептидного субстрата (Biotin-AVLESEEEELYSSARQ-NH<sub>2</sub>) инкубировали в реакционном буфере, включающем 20 мМ Трис, 50 мМ NaCl, MgCl<sub>2</sub> (5-25 мМ в зависимости от киназы), MnCl<sub>2</sub> (0-10 мМ), 1 мМ DTT, 0,1 мМ ЭДТА, 0,01% бычьего сывороточного альбумина, 0,005% Tween-20 и 10% ДМСО при pH 7,4 в течение 1 ч. Реакцию подавляли добавлением 1,2 экв. ЭДТА (относительно двухвалентного катиона) в 25 мкл 1× буфера Ланса (Perkin-Elmer). Добавляли стрептавидин-APC (Perkin-Elmer) и меченное европием антитело p-Tyr100 (Perkin-Elmer) в 1× буфере Ланса в объеме 25 мкл, что дало конечные концентрации 100 и 2,5 нМ соответственно, и смесь оставили для инкубации в течение 1 ч. Сигнал TR-FRET измеряли на многорежимном спектрофотометре для считывания планшетов с длиной волны возбуждения (λ<sub>Ex</sub>) 330 нм и длиной волны детектирования (λ<sub>Em</sub>) 615 и 665 нм.

Активность определяли как отношение флуоресценции при 665 нм к флуоресценции при 615 нм. Для каждого соединения измеряли ферментативную активность при различных концентрациях соединения. Реакции отрицательного контроля ставили в отсутствие ингибитора шесть раз, также ставили две контрольные реакции без фермента для определения исходных уровней флуоресценции. Константы ингибирования K<sub>i</sub>(app) определяли с использованием программы BatchK<sub>i</sub> (Kuzmic et al. (2000), Anal. Biochem. 286:45-50), значения IC<sub>50</sub> получали согласно уравнению

$$IC_{50} = \{K_i(\text{app}) / (1 + [\text{АТФ}] / K_M^{\text{АТФ}})\} + [E]_{\text{общ}} / 2$$

Для всех киназ

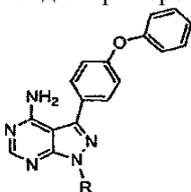
$$[\text{АТФ}] = K_M^{\text{АТФ}}, [\text{Btk}]_{\text{общ}} = 0,5 \text{ нМ} \text{ и } [\text{Lck}]_{\text{общ}} = 6 \text{ нМ}$$

Исследование потока кальция, основанное на флуоресценции, проводили с помощью FlexStation П384, флуорометрический пишущий планшетный спектрофотометр (Molecular devices), согласно инструкциям изготовителя. Коротко, активно растущие клетки Рамоса (АТСС) на среде RPM1 с добавлением 10% FBS (Invitrogen) промывали и повторно высевали на питательную среду с низким содержанием сыворотки в количестве приблизительно 5×10<sup>5</sup> клеток на 100 мкл в 96-луночных планшетах. Исследуемые соединения растворяли в диметилсульфоксиде и разбавляли средой с низким содержанием сыворотки до конечной концентрации в пределах от 0 до 10 мкМ (при коэффициенте разбавления 0,3). Разбавленные соединения затем добавляли в каждую лунку (конечная концентрация диметилсульфоксида составляла 0,01%) и инкубировали при 37°C в инкубаторе с атмосферой с 5% CO<sub>2</sub> в течение 1 ч. Затем в каждую лунку добавляли 100 мкл чувствительного к кальцию красителя (из набора реактивов Calcium 3, Molecular Devices) и инкубировали в течение еще 1 ч.

Обработанные соединением клетки стимулировали козьим антителом к IgM человека (80 мкг/мл; Jackson ImmunoResearch) и считывали сигнал на FlexStation П384 с использованием λ<sub>Ex</sub>=485 нм и λ<sub>Em</sub>=538 нм в течение 200 с. Регистрировали относительные единицы флуоресценции (RFU) и IC<sub>50</sub> и анализировали их с использованием встроенной программы SoftMax (Molecular devices).

Таблица 2

Анализ данных для примеров соединений



| Соединение N | R | Btk IC <sub>50</sub> (нМ) | Ramos Cell C <sub>9</sub> Flux IC <sub>50</sub> (нМ) |
|--------------|---|---------------------------|------------------------------------------------------|
| 4            |   | 0.72                      | 10                                                   |
| 5            |   | 20                        | 89                                                   |
| 6            |   | 0.52                      | 92                                                   |
| 7            |   | 0.58                      | 9                                                    |
| 8            |   | 0.72                      | 9                                                    |
| 9            |   | 3.6                       | 48                                                   |
| 10           |   | 0.58                      | 3                                                    |
| 11           |   | 1.6                       | 24                                                   |
| 12           |   | 1.9                       | 90                                                   |
| 13           |   | <0.5                      | 10                                                   |
| 14           |   | 1.4                       | 7                                                    |
| 15           |   | 2.5                       | 36                                                   |

На необратимое ингибирование Btk этими соединениями указывают две группы свидетельств. Во-первых, после предварительной обработки рекомбинантной Btk соединением ее активность не восстанавливалась после повторной отмывки средой без ингибитора (см., например, J.B. Smail, et al., J. Med. Chem. 1999, 42, 1803). Во-вторых, наблюдаемый основной пик масс-спектра соответствует молекулярной

массе ковалентного комплекса между соединением 4 и Vtk в соотношении 1:1 (соединение 4: 440 Да, киназный домен рекомбинантной Vtk: 33 487 Да; комплекс: ожидаемый 33 927 Да, наблюдаемый 33 927 Да).

Данные соединения являются очень эффективными ингибиторами активности киназы Vtk с  $IC_{50}$  в диапазоне от субнанолярного до одного разряда в нанолярном диапазоне для *in vitro* активности киназы. Значения  $IC_{50}$  для них, определенные при анализе (клетки Рамоса) потока  $Ca^{2+}$ , находятся в диапазоне от 3 до 92 нМ.

Примечательно, что авторы изобретения обнаружили, что три типа акцепторов Михаэля: акриламид, винилсульфонамид и пропаргиламид, демонстрируют сильные взаимодействия с Vtk. При соединении транс-ориентированной метильной группы к винильной группе уменьшило силу, как показано с использованием соединения 5, которое было в 28 раз менее эффективным, чем соединение 4. Это, по-видимому, связано со сниженной электрофильностью более замещенного олефина. Соединение 15 с третичной аминогруппой восстанавливало часть эффективности по сравнению с соединением 5, даже при том, что его эффективность ниже, чем у соединения 13. Соединение 10 было приблизительно в 6 раз более эффективным, чем соединение 9, по-видимому, вследствие различия в ориентации электрофилов. Наконец, в экспериментах с двумя наборами энантиомеров (11 против 12 и 13 против 14) было установлено, что R-конфигурация является несколько предпочтительной абсолютной стереохимической конфигурацией.

#### Пример 3. Ингибирование Vtk.

Кроме того, авторы изобретения исследовали свойства соединений согласно изобретению путем анализа множества клеточных биохимических и функциональных факторов. В частности, авторы изобретения стремились оценить селективность ингибирования этими соединениями Vtk в сравнении с близкородственными протеинкиназами Lck, Lyn и Syk. В клетках Рамоса (линия В-лимфоцитов человека), стимулированных анти-IgM, тестировали Vtk-зависимое фосфорилирование PLC, Lyn и Syk-зависимое фосфорилирование тирозина 551 на Vtk и BCR-зависимое выделение кальция. Авторы изобретения также измерили действие соединения 4 на клетки Джерката, линию Т-лимфоцитов человека, в которой для зависимого от рецептора Т-лимфоцита потока  $Ca^{2+}$  необходимы Lck и Itk, но не Vtk. Как представлено в табл. 3, соединение 4 показало значительную селективность в отношении Vtk в клеточном анализе. В анти-IgM-стимулированных клетках Рамоса соединение 4 ингибирует фосфорилирование PLC- $\gamma 1$  с  $IC_{50}=0,014$  мкМ, тогда как Lyn- и Syk-зависимое фосфорилирование тирозина 551 на Vtk ингибирует слабее ( $IC_{50}>7,5$  мкМ). Таким образом, соединение 4 демонстрирует >500-кратную селективность между Vtk и Lyn или Syk в клетках. Кроме того, соединение 4 в 11 раз менее активно в ингибировании потока  $Ca^{2+}$ , чем в клетках Рамоса, и сохраняет ожидаемую селективность в отношении В-лимфоцитов по сравнению с Т-лимфоцитами.

Таблица 3

| Данные тестирования в клеточной системе для соединения 4 |                   |                  |                  |                      |                               |                                |                               |
|----------------------------------------------------------|-------------------|------------------|------------------|----------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Соед                                                     | Vtk <sup>a</sup>  | Lck <sup>a</sup> | Lyn <sup>a</sup> | Vtkp551 <sup>b</sup> | pPLC- $\gamma 1$ <sup>b</sup> | Ca поток (Рамоса) <sup>b</sup> | Ca поток (Юркат) <sup>b</sup> |
|                                                          | (нМ)              | (нМ)             | (нМ)             | (мкМ)                | (мкМ)                         | (мкМ)                          | (мкМ)                         |
| 4                                                        | 0,72 <sup>b</sup> | 97               | 14               | >7,5                 | 0,014                         | 0,0405                         | 0,466                         |

#### Пример 4. Применение соединения 4 для лечения ревматоидного артрита.

Эффективность соединения 4 *in vivo* оценивали на модели ревматоидного артрита у мыши. Артрит индуцировали у мышей Balb/c путем введения антител к коллагену и липополисахариду (ЛПС). См. Nandakumar et al. (2003), Am. J. Pathol. 163:1827-1837.

Самкам мышей Balb/c вводили 100 мг/кг коктейля Chemicon mAb к коллагену типа II внутривенно в день 0 и 1,25 мг/кг LPS интраперитонеально в день 1. Соединение 4 вводили перорально в форме водной суспензии на основе метилцеллюлозы в дозе 1, 3, 10 и 30 мг/кг один раз в день ежедневно, начиная с дня 2 до дня 12. Пробы крови брали после 0,5 и 2 ч после введения соединения 4 в день 12 (см. табл. 4). Концентрации соединения 4 в сыворотке измеряли путем жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии/масс-спектрологии (LC/MS/MS). Через 24 ч после введения дозы уровень содержания соединения 4 был ниже уровня количественной оценки.

Таблица 4

Зависимость концентрации соединения 4 в плазме от дозы и времени

| Доза (мг/кг/день) | Время взятия пробы (ч) | Концентрация (мкМ) |        |
|-------------------|------------------------|--------------------|--------|
|                   |                        | средняя            | SD     |
| 1                 | 0.5                    | 0.0657             | 0.0153 |
|                   | 2                      | 0.0485             | 0.0200 |
| 3                 | 0.5                    | 0.250              | 0.019  |
|                   | 2                      | 0.135              | 0.059  |
| 10                | 0.5                    | 0.635              | 0.053  |
|                   | 2                      | 0.670              | 0.190  |
| 30                | 0.5                    | 1.72               | 0.15   |
|                   | 2                      | 1.10               | 0.19   |

Подавление артрита соединением 4 зависело от дозы, с максимальным эффектом (>95%-ное ингибирование) при дозировке 10 и 30 мг/кг. Концентрации соединения 4 в плазме, которые вызвали указанный максимальный эффект, составляли 0,6-1,7 мкМ при  $T_{max}$  (2 ч) и не нуждались в поддержании на высоких уровнях в течение 24 ч, чтобы достигнуть эффективности, которая обычна для необратимо действующего ингибитора. На основании данных по секвенированию и молекулярному моделированию предполагается, что необратимо действующие ингибиторы, описанные в настоящем изобретении, могут образовывать ковалентную связь с Cys 481 Btk (например, часть соединения, описанного в настоящем изобретении, являющаяся акцептором реакции Михаэля, реагирует с остатком Cys 481 молекулы Btk). На основании анализа гомологии последовательностей (фиг. 1) также можно ожидать, что соединения, представленные в настоящем описании, будут действовать как необратимые ингибиторы киназ, содержащих Cys 481 или гомологичный остаток цистеина, но будут связываться обратимо с киназами, содержащими другую аминокислоту в положении 481 в пределах последовательности каталитического домена, который во всем остальном гомологичен киназному домену Btk. См., например, последовательности, показанные на фиг. 1. См. также выравнивания последовательностей тирозинкиназ (ТК), опубликованные в Интернете: [kinase.com/human/kinome/phylogeny.html](http://kinase.com/human/kinome/phylogeny.html).

Пример 5. Ингибирование дегрануляции тучных клеток.

Клетки человека CD34<sup>+</sup> дифференцировали в тучные клетки в течение 9 недель в культуре в присутствии 1 нг/мл IL-3, 15 нг/мл IL-6, 100×50 нг/мл SCF (фактор стволовых клеток). Клетки культивировали с IgE + IL-4 в течение 4 дней и затем вызывали дегрануляцию путем перекрестной сшивки с анти-IgE. Дегрануляцию измеряли с использованием гексозаминадазного метода анализа. Соединение не ингибировало дегрануляцию, вызванную Ca<sup>++</sup> ионофором иономицином, и не нарушало жизнеспособность клетки, определяемую с помощью анализа Alamar Blue. Соединение 4 имеет IC<sub>50</sub> менее 100 нМ в тесте на дегрануляцию тучных клеток. Соответственно, соединения, описанные в настоящем изобретении, можно применять для лечения воспалительных болезней, таких как астма.

Пример 6. Фармацевтические композиции.

В композициях, описанных ниже для иллюстрации, можно использовать любое из соединений, соответствующее формуле D.

Пример 6a. Композиция для парентерального введения.

Для приготовления парентеральной фармацевтической композиции, подходящей для введения путем инъекции, 100 мг водорастворимой соли соединения формулы D растворяют в диметилсульфоксиде и затем смешивают с 10 мл 0,9%-ного стерильного физиологического раствора. Смесь помещают в единицу дозирования, подходящую для введения путем инъекции.

Пример 6b. Композиция для перорального введения.

Для приготовления фармацевтической композиции для перорального введения 100 мг соединения формулы D смешивают с 750 мг крахмала. Смесь помещают в единицу дозирования для перорального введения, такую как твердая желатиновая капсула, подходящую для перорального приема.

Пример 6c. Сублингвальная композиция (твердая таблетка).

Для приготовления фармацевтической композиции для буккального введения, например твердой таблетки, 100 мг соединения формулы D с 420 мг измельченного в порошок сахара смешивают с 1,6 мл легкого кукурузного сиропа, 2,4 мл дистиллированной воды и 0,42 мл экстракта мяты. Смесь осторожно перемешивают и заливают в форму для формирования таблетки, подходящей для буккального введения.

Пример 6d. Композиция для ингаляции.

Для приготовления фармацевтической композиции для введения путем ингаляции 20 мг соединения формулы D смешивают с 50 мг безводной лимонной кислоты и 100 мл 0,9%-ного раствора хлорида натрия. Смесь помещают в устройство для введения путем ингаляции, такую как небулайзер, подходящий для введения путем ингаляции.

Пример 6e. Композиция ректального геля.

Для приготовления фармацевтической композиции для ректального введения 100 мг соединения формулы D смешивают с 2,5 г метилцеллюлозы (1500 мПа), 100 мг метилпарабена, 5 г глицерина и 100 мл очищенной воды. Конечную смесь геля затем помещают в единицы для ректального введения, например спринцовки, подходящие для ректального введения.

Пример 6f. Композиция в виде геля для местного применения.

Для приготовления фармацевтической композиции геля для местного применения 100 мг соединения формулы D смешивают с 1,75 г гидроксипропилцеллюлозы, 10 мл пропиленгликоля, 10 мл изопронила миристата и 100 мл очищенного спирта (согласно фармакопее США). Конечную смесь геля затем помещают в контейнеры, например тубики, подходящие для местного введения.

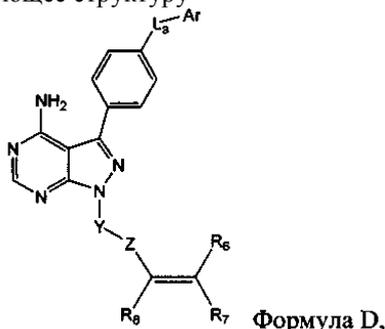
Пример 6g. Композиция в виде раствора для глазного введения.

Для приготовления фармацевтической композиции в виде раствора для глазного введения 100 мг соединения формулы D смешивают с 0,9 г NaCl в 100 мл очищенной воды и фильтруют с использованием фильтров с диаметром отверстий 0,2 мкм. Образующийся изотонический раствор затем вводят в устройстве для глазного введения, например контейнеры для глазных капель, подходящие для введения в глаза.

Подразумевается, что примеры и варианты реализации описаны в настоящем патенте только для иллюстративных целей и различные модификации или изменения, которые могут быть предложены специалистами в данной области, находятся в рамках сущности и объема настоящего описания и прилагаемой формулы изобретения. Все публикации, патенты и патентные заявки, цитируемые в настоящем документе, полностью включены в описание посредством ссылки для любых целей.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы D, имеющее структуру



где  $L_a$  представляет собой O;

Ar представляет собой фенил;

Y представляет собой незамещенный пиперидинил, незамещенный пирролидинил или незамещенный циклогексил;

Z представляет собой C(=O), NHC(=O) или S(=O)<sub>2</sub>;

R<sub>7</sub> и R<sub>8</sub> представляют собой H или вместе образуют связь;

R<sub>6</sub> представляет собой H,

или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п.1, отличающееся тем, что Y представляет собой циклогексил.

3. Соединение по п.1, отличающееся тем, что Y представляет собой пиперидиновое кольцо.

4. Соединение по п.1, отличающееся тем, что Y представляет собой пирролидиновое кольцо.

5. Соединение, выбранное из

1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ин-1-она;

1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-она;

1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)сульфонилэтена;

N-((1s,4s)-4-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)циклогексил)акриламида;

1-((R)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-она;

1-((S)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-она;

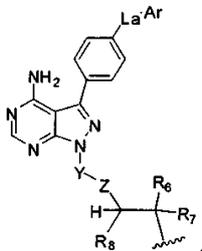
1-((R)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-она;

1-((S)-3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пиперидин-1-ил)проп-2-ен-1-она и

1-(3-(4-амино-3-(4-феноксифенил)-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)пирролидин-1-ил)проп-2-ен-1-она.

6. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по любому из пп.1-5, представляющего собой ингибитор тирозинкиназы Брутона, и фармацевтически приемлемый эксципиент.

7. Ингибированная тирозинкиназа, включающая тирозинкиназу Брутона, связанную с ингибитором, имеющим структуру



где  $L_a$  представляет собой O;

$Ar$  представляет собой фенил;

$Y$  представляет собой незамещенный пиперидинил, незамещенный пирролидинил или незамещенный циклогексил;

$Z$  представляет собой  $C(=O)$ ,  $NHC(=O)$  или  $S(=O)_2$ ;

$R_7$  и  $R_8$  представляют собой H или вместе образуют связь;

$R_6$  представляет собой H и

~~~~~ указывает точку соединения между ингибитором и тирозинкиназой.

8. Ингибированная тирозинкиназа по п.7, отличающаяся тем, что ингибитор ковалентно связан с цистеиновым остатком на тирозинкиназе.

9. Композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по п.1, образующего ковалентную связь с цистеиновой боковой цепью тирозинкиназы Брутона, для использования в лечении рака.

10. Композиция по п.9, отличающаяся тем, что в соединении формулы D

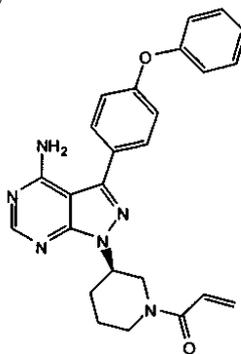
Y представляет собой незамещенный пиперидинил или незамещенный пирролидинил;

Z представляет собой $C(=O)$, $NHC(=O)$ или $S(=O)_2$;

R_7 и R_8 представляют собой H или вместе образуют связь;

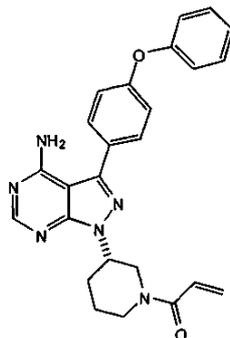
R_6 представляет собой H.

11. Соединение, имеющее структуру



или его фармацевтически приемлемая соль.

12. Соединение, имеющее структуру



или его фармацевтически приемлемая соль.

13. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по п.11, представляющего собой ингибитор тирозинкиназы Брутона, и фармацевтически приемлемый эксципиент.

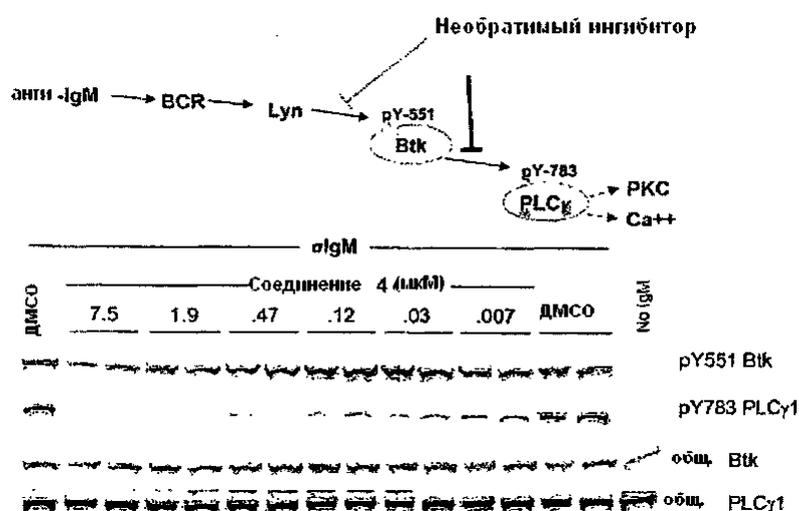
14. Фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество соединения по п.11, для использования в лечении рака.

15. Применение соединения по п.11 в изготовлении лекарственного средства для лечения В-клеточного пролиферативного нарушения.

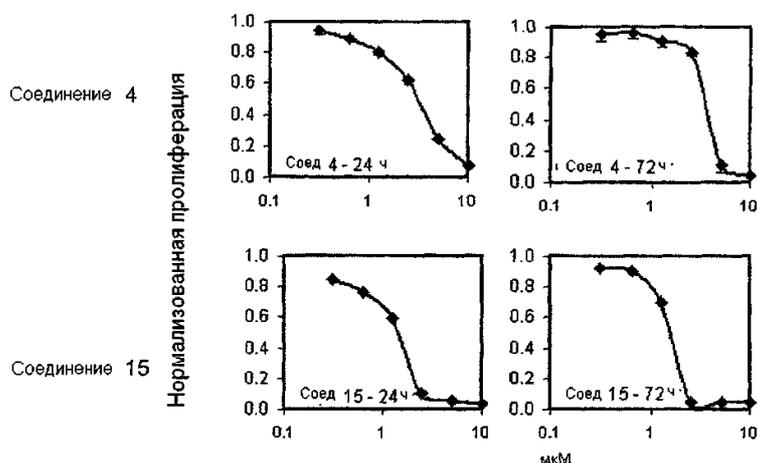
16. Применение по п.15, где В-клеточное пролиферативное нарушение выбрано из лимфомы, миеломы или лейкемии.

| # | 473 | 474 | 475 | 476 | 477 | 478 | 479 | 480 | 481 | 482 | 483 |
|-------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| BTK | I | T | E | Y | M | A | N | G | C | L | L |
| BMX | V | T | E | Y | M | A | R | G | C | L | L |
| TEC | V | T | E | F | M | E | R | G | C | L | L |
| TXK | V | T | E | F | M | E | N | G | C | L | L |
| PKK | V | F | E | F | M | E | H | G | C | L | S |
| EGFR | I | T | Q | L | M | P | F | G | C | L | L |
| ErbB2 | V | T | Q | L | M | P | Y | G | C | L | L |
| ErbB4 | V | T | Q | L | M | P | H | G | C | L | L |
| JAK3 | V | M | E | Y | L | P | S | G | C | L | R |
| BLK | V | T | E | Y | L | P | S | G | C | L | L |
| LCK | I | T | E | Y | M | E | N | G | S | L | V |
| LYN | I | T | E | Y | M | A | K | G | S | L | L |
| SYK | V | M | E | M | A | E | L | G | P | L | N |

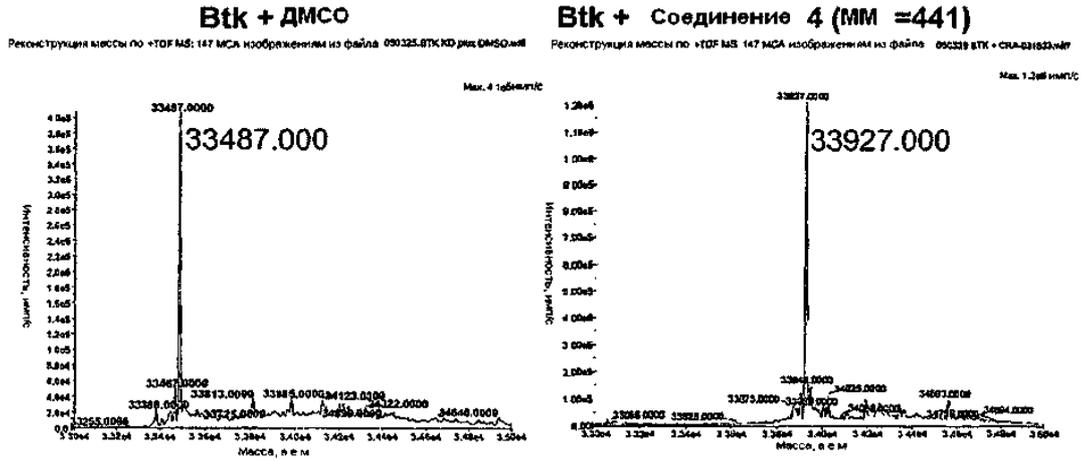
Фиг. 1



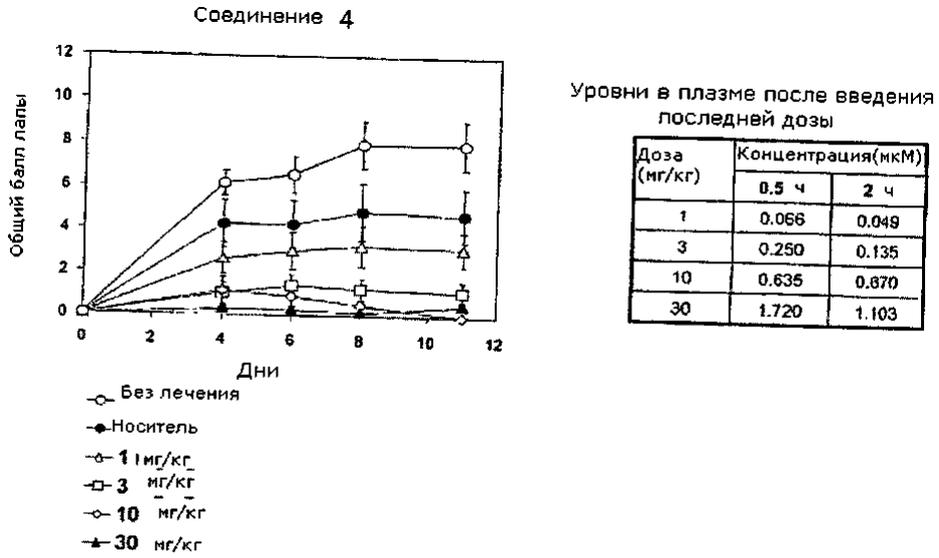
Фиг. 2



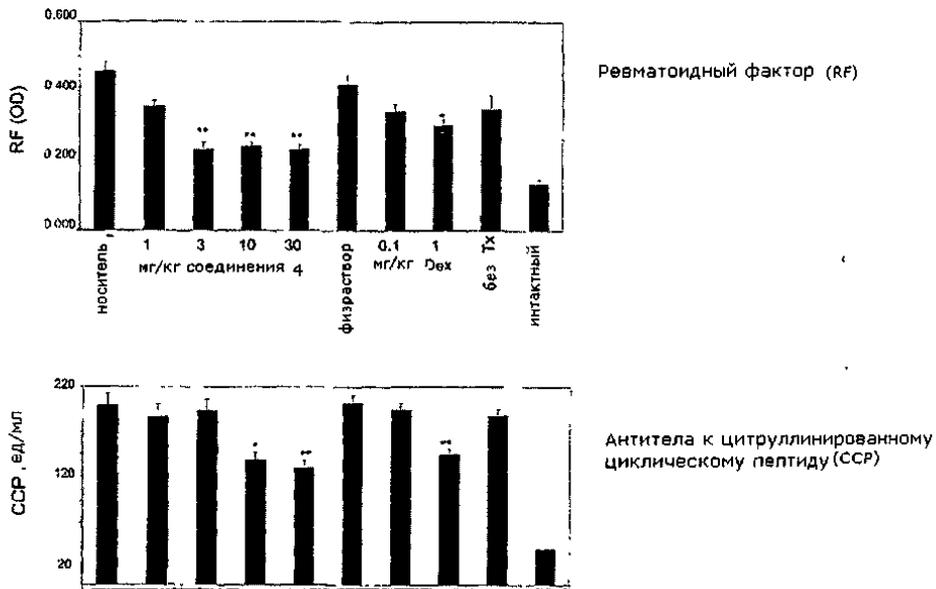
Фиг. 3



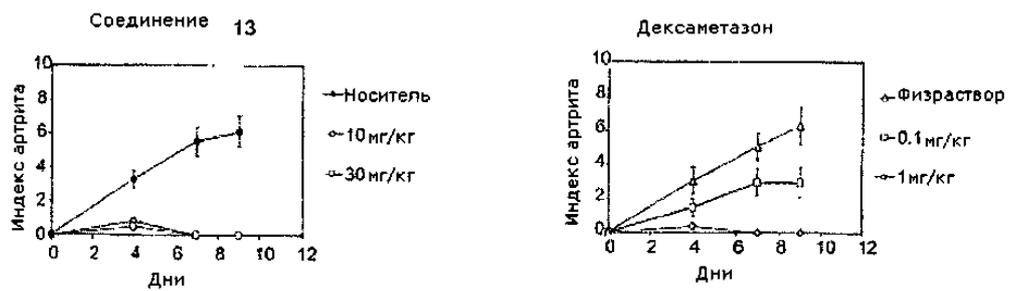
Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7

