

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 035226

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.05.19

(21) Номер заявки
201892436

(22) Дата подачи заявки
2017.04.27

(51) Int. Cl. C07D 451/14 (2006.01)
C07D 451/04 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)

(54) ПИРИМИДИНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ JAK КИНАЗЫ

(31) 62/328,737

(32) 2016.04.28

(33) US

(43) 2019.04.30

(86) PCT/US2017/029796

(87) WO 2017/189822 2017.11.02

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

ТЕРЕВАНС БАЙОФАРМА Ар энд Ди
АйПи, ЭлЭлСи (US)

(72) Изобретатель:

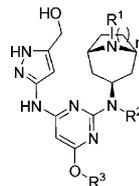
Хадсон Райан, Козак Дженнифер,
Флери Мелисса, Фазери Пол Р.,
Босолей Анн-Мари, Подесто Данте Д.,
Хуан Сяоцзюнь (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(56) WO-A1-2015094803
US-A1-2016052930

(57) В изобретении предложены соединения формулы (I)



(I)

где переменные имеют значение, определенное в описании изобретения, или фармацевтически приемлемая соль такого соединения, которые являются ингибиторами JAK киназ. Изобретение также обеспечивает фармацевтические композиции, включающие такие соединения, способы применения таких соединений для лечения желудочно-кишечных и других воспалительных заболеваний и способы и промежуточные соединения, полезные для получения таких соединений.

035226 B1

035226 B1

Область, к которой относится изобретение

Изобретение направлено на пиримидиновые соединения, полезные в качестве ингибиторов JAK киназы. Изобретение также направлено на фармацевтические композиции, включающие такие соединения, способы применения таких соединений для лечения воспалительных заболеваний и способы и промежуточные соединения, полезные для получения таких соединений.

Существующий уровень техники

Язвенный колит представляет собой хроническое воспалительное заболевание толстой кишки. Заболевание характеризуется воспалением и изъязвлением слизистой оболочки прямой кишки и толстого кишечника. Обычными симптомами являются диарея, кровавый стул и абдоминальная боль. Клинический курс перемежающийся, отмеченный чередующимися периодами обострения и ремиссии. Заболеваемость, по-видимому, выше в развитых странах, чем в развивающихся странах. По оценкам, 1,2 млн человек в крупных промышленно развитых странах страдают язвенным колитом, и ожидается, что их количество будет увеличиваться по мере роста населения. Пациенты с язвенным колитом имеют повышенный риск развития колоректального рака (например, Danese et al. *N Engl J Med*, 2011, 365, 1713-1725).

Несмотря на то, что существует множество терапевтических методов для промотирования и поддержания ремиссии язвенного колита у пациентов, ни один из них не является идеальным. Способы лечения на основе сульфасалазина часто эффективны при легкой степени UC, но значительно менее эффективны при заболевании от средней степени тяжести до тяжелого. Кортикостероиды часто используются для обеспечения быстрой индукции ремиссии у пациентов с UC средней тяжести и тяжелым. Тем не менее, длительное применение стероидов для поддержания ремиссии не рекомендуется из-за их ассоциации с более длительными побочными эффектами (например, остеопороз и переломы, инфекции, катаракта, более медленное заживление ран и подавление продукции гормонов надпочечниками). Системные иммунодепрессанты, такие как азатиоприн, циклоспорин и метотрексат, имеют медленное начало действия и умеренную эффективность у пациентов, имеющих средней тяжести и тяжелый UC, но длительное применение может быть проблематичным из-за последствий длительной системной иммуносупрессии (например, повышенный риск инфекций и лимфома). Анти-TNF α антитела (например, инфликсимаб и адалимумаб), хотя они и дорогостоящие и требуют подкожного или внутривенного введения, являются эффективными приблизительно у 60-70% пациентов, имеющих средней тяжести и тяжелый UC. Однако у почти одной трети пациентов отсутствует адекватный ответ, тогда как еще у одной трети пациентов, которые сначала отвечали на лечение, развивается привыкание к препарату в течение нескольких недель (Allez et al., *Colitis, J. Crown*, 2010, 4, 355-366; Rutgeerts et al., *N Engl J Med*, 2005, 353, 2462-2476). Совсем недавно одобренная UC терапия, ведолизумаб, антитело против интегрина $\alpha_4\beta_7$, эффективна у пациентов с UC от средней тяжести до тяжелого, хотя парентеральный путь является субоптимальным, и последствия длительной иммуносупрессии через этот механизм еще предстоит определить. Несмотря на возможные в настоящее время терапевтические лечения, примерно для 10-20% пациентов с UC по-прежнему требуется колэктомия в течение 10 лет после диагноза (Targownik et al., *Am J Gastroenterol*, 2012, 107, 1228-1235). Очевидно, что остается неудовлетворенная медицинская потребность в эффективной терапии для промотирования и поддержания ремиссии UC от средней тяжести до тяжелого без проблем безопасности, вызываемых хронической системной иммуносупрессией.

Хотя механизм, лежащий в основе язвенного колита, не полностью выяснен, считается, что факторы окружающей среды у генетически восприимчивых субъектов вызывают неадекватную (чрезмерную) реакцию иммунной системы на микробиоту кишечника, приводящую к воспалению толстой кишки, повреждению ткани и связанным с этим симптомам, характерным для заболевания.

Хотя точный патогенез UC неясен, очевидно, что провоспалительные цитокины играют ключевую роль в иммунологическом ответе (Strober et al., *Gastroenterol*, 2011, 140, 1756-1767). Многие из провоспалительных цитокинов, уровень которых наиболее часто повышен при UC (например, IL-4, IL-6, IL-13, IL-15, IL-23, IL-24, IFN γ и лептин), зависят от JAK семейства тирозинкиназ (т.е. JAK1, JAK2, JAK3 и Tyk2) для передачи сигнала. Связывание цитокина с JAK-зависимым цитокиновым рецептором индуцирует димеризацию рецептора, что приводит к фосфорилированию тирозиновых остатков на JAK киназе, осуществляя активацию JAK. Фосфорилированные JAK, в свою очередь, связывают и фосфорилируют различные STAT белки, которые димеризуются, интернализуются в ядре клетки и непосредственно модулируют транскрипцию гена, приводя, среди прочих эффектов, к нисходящим эффектам, ассоциированным с воспалительным заболеванием. JAK обычно объединяются в пару с цитокиновыми рецепторами в виде гомодимеров или гетеродимеров. Специфические цитокины связаны со специфическими спариваниями JAK.

Атопический дерматит (AD) является распространенным хроническим воспалительным заболеванием кожи, которое поражает примерно 14 млн человек только в Соединенных Штатах. По оценкам, AD поражает 10-20% детей и 1-3% взрослых в развитых странах (Bao et al., *JAK STAT*, 2013, 2, e24137), и он все больше распространяется. Повышение уровня провоспалительных цитокинов, которые используют пути JAK-STAT, в частности IL-4, IL 5, IL-10, IL-12, IL 13, IFN γ и TSLP, связывают с AD (Bao et al.,

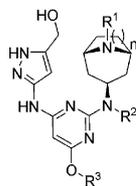
Leung et al., Journal of Clinical Investigation, 2004, 113, 651-657). Кроме того, было показано, что повышенная регуляция IL-31, другого цитокина, который передает сигнал через JAK спаривание, связано с зудом, ассоциированным с хроническим состоянием AD (Sunkoly et al., Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2006, 117, 411-417).

Ингибирование ферментов JAK семейства может ингибировать передачу сигналов многих ключевых провоспалительных цитокинов. Таким образом, ингибиторы JAK, вероятно, будут полезны при лечении язвенного колита и других желудочно-кишечных воспалительных заболеваний, таких как болезнь Крона и индуцированный ингибиторами иммунных контрольных точек колит, атопический дерматит и другие воспалительные кожные заболевания, аллергический ринит, астма и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ). Однако из-за модулирующего эффекта пути JAK/STAT на иммунную систему системное воздействие ингибиторов JAK может иметь неблагоприятный системный иммуносупрессивный эффект. Поэтому желательно было бы обеспечить новые ингибиторы JAK, которые проявляют свой эффект на участке действия без значительных системных эффектов. В частности, для лечения желудочно-кишечных воспалительных заболеваний, таких как язвенный колит, было бы желательно обеспечить новые ингибиторы JAK, которые можно вводить перорально и достигать терапевтически значимого воздействия в желудочно-кишечном тракте с минимальным системным воздействием. Было бы также желательно обеспечить новые ингибиторы JAK для лечения атопического дерматита, которые можно вводить местно с минимальным системным воздействием.

Сущность изобретения

В одном аспекте изобретение обеспечивает новые соединения, обладающие активностью в качестве ингибиторов JAK киназы.

Соответственно, изобретение обеспечивает соединение формулы (I)



(I)

где R¹ выбран из:

(a) -S(O)₂R⁴, где R⁴ выбран из C₁₋₄алкила, где C₁₋₄алкил необязательно замещен -CN, -OC₁₋₃ алкилом или C₃₋₆циклоалкилом, гетероциклила, содержащего 4-6 кольцевых атомов, включая один атом азота, где любой гетероциклил необязательно замещен группой -CN, C₃₋₆циклоалкила, пиридинила, где пиридинил необязательно замещен фтором, и фенила;

(b) C₁₋₄алкила, где C₁₋₄алкил необязательно замещен -CN, \times_{CN} или пиридинилом, где пиридинил необязательно замещен группой -CN; и

(c) -C(O)R⁵, где R⁵ выбран из C₁₋₄алкила, где C₁₋₄алкил необязательно замещен C₃₋₆циклоалкилом или одним или двумя атомами фтора, -OC₁₋₄алкила, C₃₋₆циклоалкила и морфолинила;

R² представляет собой водород или метил;

R³ представляет собой C₁₋₃алкил и

n имеет значение 1 или 2;

или его фармацевтически приемлемую соль или стереоизомер.

Как используется далее, фраза "соединение формулы (I)" означает соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль; т.е. эта фраза означает соединение формулы (I) в форме свободного основания или в форме фармацевтически приемлемой соли, если не указано иное.

Изобретение также обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую соединение по изобретению и фармацевтически приемлемый носитель.

В другом аспекте изобретение обеспечивает конкретное соединение формулы (I) в кристаллической форме свободного основания. Было обнаружено, что кристаллический 1-(((1R,3S,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил имеет температуру плавления в диапазоне от около 235 до около 245°C, типично между около 237 и около 242°C, и показывает изменение массы меньше чем около 0,4% при относительной влажности между около 5 и около 90% при комнатной температуре.

Изобретение также обеспечивает способ лечения желудочно-кишечного воспалительного заболевания, в частности язвенного колита, у млекопитающего, включающий введение млекопитающему соединения или фармацевтической композиции по изобретению.

Еще в одном аспекте, относящемся к способу, изобретение обеспечивает способ лечения воспалительных заболеваний или расстройств кожи, в частности атопического дерматита у млекопитающего, при этом способ включает нанесение соединения или фармацевтической композиции по изобретению на кожу млекопитающего.

В отдельных и особых аспектах изобретение также обеспечивает способы синтеза и промежуточные соединения, описанные в настоящей заявке, которые полезны для получения соединений по изобретению.

Изобретение также обеспечивает соединение по изобретению, описанное в настоящей заявке, для применения в медицинском лечении, а также применение соединения по изобретению для получения композиции или лекарственного средства для лечения желудочно-кишечного воспалительного заболевания у млекопитающего. Изобретение также обеспечивает применение соединения по изобретению для получения композиции или лекарственного средства для лечения воспалительных заболеваний кожи.

Краткое описание чертежей

Различные аспекты настоящего изобретения проиллюстрированы со ссылкой на прилагаемые чертежи.

Фиг. 1 показывает порошковую рентгеновскую дифрактограмму (PXRD) кристаллической Формы I 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрила (далее Форма I).

Фиг. 2 показывает термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) кристаллической Формы I.

Фиг. 3 показывает кривую термогравиметрического анализа (TGA) кристаллической Формы I.

Фиг. 4 показывает изотерму динамической сорбции влаги (DMS) кристаллической Формы I, которую наблюдали при температуре около 25°C

Фиг. 5 показывает порошковую рентгеновскую дифрактограмму (PXRD) кристаллической Формы II 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрила (далее Форма II).

Фиг. 6 показывает термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) кристаллической Формы II.

Фиг. 7 показывает кривую термогравиметрического анализа (TGA) кристаллической Формы II.

Фиг. 8 показывает изотерму динамической сорбции влаги (DMS) кристаллической Формы II, которую наблюдали при температуре около 25°C

Подробное описание изобретения

В числе других аспектов изобретение обеспечивает ингибиторы JAK киназы формулы (I), их фармацевтически приемлемые соли и промежуточные соединения для их получения. Следующие заместители и значения предназначены для обеспечения репрезентативных примеров различных аспектов настоящего изобретения. Эти репрезентативные значения предназначены для уточнения таких аспектов и не предназначены для исключения других значений или ограничения объема изобретения.

В одном аспекте изобретения R^1 выбран из

(a) $-S(O)_2R^4$, где R^4 выбран из C_{1-4} алкила, где C_{1-4} алкил необязательно замещен $-CN$, OC_{1-3} алкилом или C_{3-6} циклоалкилом; гетероциклила, содержащего 4-6 кольцевых атомов, включая один атом азота, где любой гетероциклил необязательно замещен группой $-CN$; C_{3-6} циклоалкила; пиридинила, где пиридинил необязательно замещен фтором; и фенила;

(b) C_{1-4} алкила, где C_{1-4} алкил необязательно замещен $-CN$, $\text{X} \text{---} \text{CN}$ или пиридинилом, где пиридинил необязательно замещен группой $-CN$; и

(c) $C(O)R^5$, где R^5 выбран из C_{1-4} алкила, где C_{1-4} алкил необязательно замещен C_{3-6} циклоалкилом или одним или двумя атомами фтора; $-OC_{1-4}$ алкила; C_{3-6} циклоалкила; и морфолинила.

В другом аспекте R^1 представляет собой $-S(O)_2R^4$, где R^4 выбран из C_{1-4} алкила, где C_{1-4} алкил необязательно замещен $-CN$, OC_{1-3} алкилом или C_{3-6} циклоалкилом; гетероциклила, содержащего 4-6 кольцевых атомов, включая один атом азота, где любой гетероциклил необязательно замещен группой $-CN$; C_{3-6} ; пиридинила, где пиридинил необязательно замещен фтором; и фенила.

Еще в одном аспекте R^1 представляет собой $-S(O)_2R^4$, где R^4 выбран из C_{1-2} алкила, где C_{1-2} алкил необязательно замещен $-CN$, $OSCH_3$ или циклопропилом; азетидинила, где азетидинил необязательно замещен группой $-CN$; пирролидинила; циклопропила; пиридинила, где пиридинил необязательно замещен фтором; и фенила.

Еще в одном аспекте R^1 представляет собой $-S(O)_2R^4$, где R^4 представляет собой метил, этил, азетидинил, пирролидинил, циклопропил, пиридинил или фенил, где этил необязательно замещен метокси, азетидинил необязательно замещен группой $-CN$ и пиридинил необязательно замещен фтором.

В одном аспекте R^1 представляет собой C_{1-4} алкил, где C_{1-4} алкил необязательно замещен $-CN$, $\text{X} \text{---} \text{CN}$ или пиридинилом, где пиридинил необязательно замещен группой $-CN$.

В другом аспекте R^1 представляет собой C_{1-2} алкил, где C_{1-2} алкил необязательно замещен $-CN$, $\text{X} \text{---} \text{CN}$ или пиридинилом, где пиридинил необязательно замещен группой $-CN$.

В одном аспекте R^1 представляет собой $-C(O)R^5$, где R^5 выбран из C_{1-4} алкила, где C_{1-4} алкил необязательно замещен C_{3-6} циклоалкилом или одним или двумя атомами фтора; $-OC_{1-4}$ алкила; C_{3-6} циклоалкила; и морфолинила.

В другом аспекте R^1 представляет собой $-C(O)R^5$, где R^5 выбран из C_{1-2} алкила, где C_{1-2} алкил необязательно замещен циклопропилем или одним или двумя атомами фтора; $-OC_{1-4}$ алкила; C_{3-6} циклоалкила; и морфолинила.

Еще в одном аспекте R^1 представляет собой $-C(O)R^5$, где R^5 представляет собой $-CHF_2$, $-CH_2$ -циклопропил, $-OCH_3$, $-O$ -изобутил, циклобутил, циклопентил или морфолинил.

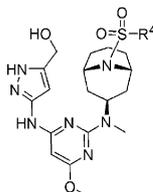
В одном аспекте R^2 представляет собой водород или метил. В конкретном аспекте R^2 представляет собой метил.

В одном аспекте R^3 представляет собой C_{1-3} алкил.

В другом аспекте R^3 представляет собой метил.

В одном аспекте n имеет значение 1 или 2. В другом аспекте n имеет значение 2.

В определенном аспекте изобретение обеспечивает соединения формулы (II)



(II)

где переменная R^4 имеет значение, определенное выше.

В одном аспекте изобретение обеспечивает соединения примеров 1-9 и табл. 1-3, представленных ниже.

В другом аспекте изобретение обеспечивает соединение, выбранное из следующих:

- 1-((1*R*, 3*s*, 5*S*)-3-(4-(5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил,
 1-((1*R*, 3*s*, 5*S*)-3-(4-(5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил,
 (3-(6-метокси-2-(метил((1*R*, 3*s*, 5*S*)-9-(метилсульфонил)-9-

азабицикло [3.3.1]нонан-3-ил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-1*H*-
 пиразол-5-ил)метанол,
 (3-((6-метокси-2-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(2-метоксиэтил)сульфонил)-
 9-азабицикло [3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)пиримидин-4-
 ил)амино)-1*H*-пиразол-5-ил)метанол,
 3-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-(4-(5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-
 ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-8-
 азабицикло [3.2.1]октан-8-ил)пропаннитрил,
 5-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-(4-(5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-
 ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)амино)-9-
 азабицикло [3.3.1]нонан-9-ил)метил)пиколинонитрил,
 5-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-(4-(5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-
 ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-
 азабицикло [3.3.1]нонан-9-ил)метил)никотинонитрил,
 изобутил (1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-(4-(5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-
 ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-
 азабицикло [3.3.1]нонан-9-карбоксилат,
 2,2-дифтор-1-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-(4-(5-(гидроксиметил)-1*H*-
 пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-
 азабицикло [3.3.1]нонан-9-ил)этан-1-он,
 (3-((2-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(азетидин-1-илсульфонил)-9-
 азабицикло [3.3.1]нонан-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-4-
 ил)амино)-1*H*-пиразол-5-ил)метанол,
 1-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-(4-(5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-
 ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)амино)-9-
 азабицикло [3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил,
 (3-((2-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(5-фторпиримидин-3-ил)сульфонил)-9-
 азабицикло [3.3.1]нонан-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-4-
 ил)амино)-1*H*-пиразол-5-ил)метанол,
 (3-((6-метокси-2-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(фенилсульфонил)-9-
 азабицикло [3.3.1]нонан-3-ил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-1*H*-
 пиразол-5-ил)метанол,
 (3-((2-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(этилсульфонил)-9-
 азабицикло [3.3.1]нонан-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-4-
 ил)амино)-1*H*-пиразол-5-ил)метанол,
 (3-((2-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(циклопропилметил)сульфонил)-9-

азабицикло [3.3.1] нонан-3-ил) амино) -6-метоксипиримидин-4-ил) амино) -1*H*-пиразол-5-ил) метанол,
 3- ((6-метокси-2-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(пиридин-3-илсульфонил)-9-азабицикло [3.3.1] нонан-3-ил) амино) пиримидин-4-ил) амино) -1*H*-пиразол-5-ил) метанол,
 3- ((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-ил) амино) -6-метоксипиримидин-2-ил) (метил) амино) -9-азабицикло [3.3.1] нонан-9-ил) -сульфонил) пропаннитрил,
 3- ((6-метокси-2-(метил ((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(пирролидин-1-илсульфонил)-9-азабицикло [3.3.1] нонан-3-ил) амино) пиримидин-4-ил) амино) -1*H*-пиразол-5-ил) метанол,
 3- ((2-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(циклопропилсульфонил)-9-азабицикло [3.3.1] нонан-3-ил) (метил) амино) -6-метоксипиримидин-4-ил) амино) -1*H*-пиразол-5-ил) метанол,
 3- ((6-метокси-2-(метил ((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(пиридин-3-илсульфонил)-9-азабицикло [3.3.1] нонан-3-ил) амино) пиримидин-4-ил) амино) -1*H*-пиразол-5-ил) метанол,
 3- ((6-метокси-2-(метил ((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(фенилсульфонил)-9-азабицикло [3.3.1] нонан-3-ил) амино) пиримидин-4-ил) амино) -1*H*-пиразол-5-ил) метанол,
 3- ((2-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(азетидин-1-илсульфонил)-9-азабицикло [3.3.1] нонан-3-ил) (метил) амино) -6-метоксипиримидин-4-ил) амино) -1*H*-пиразол-5-ил) метанол,
 3- ((2-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(циклопропилметил) сульфонил)-9-азабицикло [3.3.1] нонан-3-ил) (метил) амино) -6-метоксипиримидин-4-ил) амино) -1*H*-пиразол-5-ил) метанол,
 3- ((2-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(5-фторпиридин-3-ил) сульфонил)-9-азабицикло [3.3.1] нонан-3-ил) (метил) амино) -6-метоксипиримидин-4-ил) амино) -1*H*-пиразол-5-ил) метанол,
 4- ((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-ил) амино) -6-метоксипиримидин-2-ил) амино) -9-азабицикло [3.3.1] нонан-9-ил) метил) пиколинонитрил,
 3- ((6-метокси-2-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(пиридин-3-илметил)-9-азабицикло [3.3.1] нонан-3-ил) амино) пиримидин-4-ил) амино) -1*H*-пиразол-5-ил) метанол,
 3- ((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-

ил) амино) -6-метоксипиримидин-2-ил) (метил) амино) -9-азабицикло [3.3.1] нонан-9-ил) пропаннитрил,

1-(((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-ил) амино) -6-метоксипиримидин-2-ил) (метил) амино) -9-азабицикло [3.3.1] нонан-9-ил) метил) циклопропан-1-карбонитрил,

(3-((6-метокси-2-(метил((1*R*, 3*S*, 5*S*)-9-(пиридин-4-илметил) -9-азабицикло [3.3.1] нонан-3-ил) амино) пиримидин-4-ил) амино) -1*H*-пиразол-5-ил) метанол,

4-(((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-ил) амино) -6-метоксипиримидин-2-ил) (метил) амино) -9-азабицикло [3.3.1] нонан-9-ил) метил) пиколинонитрил,

2,2-дифтор-1-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-ил) амино) -6-метоксипиримидин-2-ил) амино) -9-азабицикло [3.3.1] нонан-9-ил) этан-1-он,

изобутил ((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-ил) амино) -6-метоксипиримидин-2-ил) (метил) амино) -9-азабицикло [3.3.1] нонан-9-карбоксилат,

метил ((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-ил) амино) -6-метоксипиримидин-2-ил) (метил) амино) -9-азабицикло [3.3.1] нонан-9-карбоксилат,

((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-ил) амино) -6-метокси-пиримидин-2-ил) (метил) амино) -9-азабицикло [3.3.1] нонан-9-ил) (морфолино) метанон,

2-циклопропил-1-((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-ил) амино) -6-метоксипиримидин-2-ил) (метил) амино) -9-азабицикло [3.3.1] нонан-9-ил) этан-1-он,

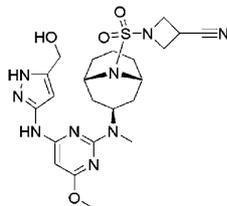
циклопентил ((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-ил) амино) -6-метоксипиримидин-2-ил) (метил) амино) -9-азабицикло [3.3.1] нонан-9-ил) метанон и

циклобутил ((1*R*, 3*S*, 5*S*)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-ил) амино) -6-метоксипиримидин-2-ил) (метил) амино) -9-азабицикло [3.3.1] нонан-9-ил) метанон,

и их фармацевтически приемлемых солей.

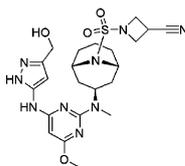
Химические структуры в настоящей заявке названы в соответствии номенклатурой IUPAC, реализуемой в программе ChemDraw (PerkinElmer, Inc., Cambridge, MA).

Например, соединение примера 2:



имеет название 1-(((1*R*,3*S*,5*S*)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1*H*-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил. Условное обозначение (1*R*, 3*S*,5*S*) описывает экзоориентацию пиримидиниламиногруппы относительно группы 9-азабицикло[3.3.1]нонана, и точно так же для соединений, содержащих 8-азабицикло[3.2.1]группу (т.е. переменная $n=1$). Все соединения по изобретению находятся в экзоориентации.

Кроме того, пиразолильная группа соединений формулы (I) существует в таутомерной форме. Например, соединение примера 2 можно равным образом представить как



В соответствии с номенклатурой IUPAC, эти изображения приводят к разной нумерации атомов пиразолильной части. Представленное выше изображение имеет название 1-(((1R,3S,5S)-3-((4-((3-(гидроксиметил)-1H-пиразол-5-ил)амино)-6-метоксипириимидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил, где подчеркивание показывает, где название отличается от названия первого изображения. Должно быть понятно, что, хотя структуры показаны, либо названы, в определенной форме, изобретение также включает их таутомер.

Соединения по изобретению содержат один или несколько хиральных центров, и поэтому такие соединения (и их промежуточные соединения) могут существовать в виде рацемических смесей; чистых стереоизомеров (т.е. энантиомеров или диастереомеров); стереоизомер-обогащенных смесей и т.п. Предполагается, что хиральные соединения, показанные или названные в настоящей заявке без определенной стереохимии по хиральному центру, включают любые или все возможные стереоизомерные варианты по стереоцентру, который не определен, если не указано иное. Изображение или название конкретного стереоизомера означает, что указанный стереоцентр имеет обозначенную стереохимию, с пониманием того, что незначительные количества других стереоизомеров также могут присутствовать, если не указано иное, при условии, что полезность изображенного или названного соединения не устраняется присутствием другого стереоизомера.

Соединения формулы (I) также содержат несколько основных групп (например, аминогруппы), и поэтому такие соединения могут существовать в виде свободного основания или в различных солевых формах, таких как моно-протонированная солевая форма, ди-протонированная солевая форма, три-протонированная солевая форма или их смеси. Все такие формы включены в объем настоящего изобретения, если не указано иное.

Настоящее изобретение также включает изотопно-меченные соединения формулы (I), то есть соединения формулы (I), где атом был заменен или обогащен атомом, имеющим такой же атомный номер, но имеющий атомную массу, отличную от атомной массы, которая преобладает в природе. Примеры изотопов, которые могут быть включены в соединение формулы (I), включают, но не ограничиваются этим, ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{35}S и ^{18}F . Особый интерес представляют соединения формулы (I), обогащенные тритием или углеродом-14, которые можно использовать, например, в исследованиях распределения ткани. Также, особый интерес представляют соединения формулы (I), обогащенные дейтерием, особенно на участке метаболизма, которые, как ожидается, будут иметь большую метаболическую стабильность. Кроме того, особый интерес представляют соединения формулы (I), обогащенные позитрон-испускающим изотопом, таким как ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O и ^{13}N , которые можно использовать, например, в позитрон-эмиссионной томографии (PET).

Определения

В описании настоящего изобретения, включая его различные аспекты и варианты осуществления, следующие термины имеют следующие значения, если не указано иное.

Термин "алкил" означает одновалентную насыщенную углеводородную группу, которая может быть линейной или разветвленной или комбинацией таких групп. Если не определено иначе, такие алкильные группы типично содержат от 1 до 10 атомов углерода. Репрезентативные алкильные группы включают, в качестве примера, метил (Me), этил (Et), n-пропил (n-Pr) или (nPr), изопропил (i-Pr) или (iPr), n-бутил (n-Bu) или (nBu), втор-бутил, изобутил, трет-бутил (t-Bu) или (tBu), n-пентил, n-гексил, 2,2-диметилпропил, 2-метилбутил, 3-метилбутил, 2-этилбутил, 2,2-диметилпентил, 2-пропилпентил и т.п.

Когда предполагается определенное количество атомов углерода для конкретного термина, это количество атомов углерода показано предшествующим термином. Например, термин " C_{1-3} алкил" означает алкильную группу, содержащую от 1 до 3 атомов углерода, где атомы углерода находятся в любой химически приемлемой конфигурации, включая линейную или разветвленную конфигурацию.

Термин "алкокси" означает одновалентную группу -O-алкил, где алкил определен выше. Репрезентативные алкоксигруппы включают, в качестве примера, метокси, этокси, пропокси, бутокси и т.п.

Термин "циклоалкил" означает одновалентную насыщенную карбоциклическую группу, которая может быть моноциклической или полициклической. Если не определено иначе, такие циклоалкильные группы типично содержат от 3 до 10 атомов углерода. Репрезентативные циклоалкильные группы включают, в качестве примера, циклопропил (cPr), циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил, адамантил и т.п.

Термин "гетероциклил", "гетероцикл", "гетероциклический" или "гетероциклическое кольцо" означает одновалентную насыщенную или частично ненасыщенную циклическую неароматическую группу, содержащую в общей сложности от 3 до 10 кольцевых атомов, где кольцо содержит от 2 до 9 углеродных

кольцевых атомов и от 1 до 4 кольцевых гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы. Гетероциклические группы могут быть моноциклическими или полициклическими (т.е. конденсированными или связанными мостиковой связью). Репрезентативные гетероциклические группы включают, в качестве примера, пирролидинил, пиперидинил, пиперазинил, имидазолидинил, морфолинил, тиоморфолил, индолин-3-ил, 2-имидазолинил, тетрагидропиранил, 1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-2-ил, хинуклидинил, 7-азанорборнанил, нортропанил и т.п., где точка присоединения находится по любому доступному кольцевому атому углерода или азота. Когда из контекста ясно, где находится точка присоединения гетероциклической группы, такие группы могут альтернативно называться не-валентными группами, т.е. пирролидин, пиперидин, пиперазин, имидазол, тетрагидропиранил и т.д.

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

Термин "лечение", как он используется в настоящей заявке, означает лечение заболевания, расстройства или медицинского состояния (такого как желудочно-кишечное воспалительное заболевание) у пациента, такого как млекопитающее (в частности, человек), которое включает одно или несколько из следующих:

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

(b) улучшение заболевания, расстройства или медицинского состояния, то есть устранение или индукцию регрессии заболевания, расстройства или медицинского состояния у пациента, включая противодействие эффектам других терапевтических средств;

(c) подавление заболевания, расстройства или медицинского состояния, то есть замедление или остановка развития заболевания, расстройства или медицинского состояния у пациента; или

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

Термин "фармацевтически приемлемая соль" означает соль, приемлемую для введения пациенту или млекопитающему, такому как человек (например, соли, имеющие приемлемую безопасность для млекопитающих при данном режиме дозирования). Репрезентативные фармацевтически приемлемые соли включают соли уксусной, аскорбиновой, бензолсульфоновой, бензойной, камфорсульфоновой, лимонной, этансульфоновой, эдизиловой, фумаровой, гентизиновой, глюконовой, глюкуроновой, глутаминовой, гиппуриновой, бромистоводородной, хлористоводородной, изетионовой, молочной, лактобионовой, малеиновой, яблочной, миндальной, метансульфоновой, муциновой, нафталинсульфоновой, нафталин-1,5-дисульфоновой, нафталин-2,6-дисульфоновой, никотиновой, азотной, оротовой, памовой, пантотеновой, фосфорной, янтарной, серной, винной, п-толуолсульфоновой и ксинофоевой кислоты и т.п.

Термин "его соль" означает соединение, образованное, когда водород кислоты заменяется катионом, таким как катион металла или органический катион и т.п. Например, катион может представлять собой протонированную форму соединения формулы (I), то есть форму, в которой одна или несколько аминогрупп протонированы кислотой. Как правило, соль является фармацевтически приемлемой солью, хотя это необязательно для солей промежуточных соединений, которые не предназначены для введения пациенту.

Термин "аминозащитная группа" означает защитную группу, подходящую для предотвращения нежелательных реакций по азоту амина. Типичные аминозащитные группы включают, но не ограничиваются этим, формил; ацильные группы, например алканоильные группы, такие как ацетил и трифторацетил; алкоксикарбонильные группы, такие как трет-бутоксикарбонил (Boc); арилметоксикарбонильные группы, такие как бензилоксикарбонил (Cbz) и 9-флуоренилметоксикарбонил (Fmoc); арилметильные группы, такие как бензил (Bn), тритил (Tr) и 1,1-ди-(4'-метоксифенил)метил; силильные группы, такие как триметилсилил (TMS), триизопропилсилил (TIPS), трет-бутилдиметилсилил (TBS или TBDMS), [2-(триметилсилил)этокси]метил (SEM) и т.п. Различные защитные группы и их введение и удаление описаны в T.W. Greene and P.G.M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Third Edition, Wiley, New York

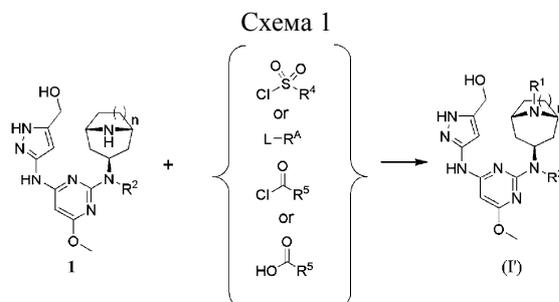
Общие процедуры синтеза

Соединения по настоящему изобретению и их промежуточные соединения можно получить в соответствии со следующими общими способами и процедурами с использованием коммерчески доступных или полученных рутинными способами исходных веществ и реагентов. Заместители и переменные (например, R¹, R², R³, R⁴ и т.д.), используемые в следующих схемах, имеют такие же значения, как те, которые определены в настоящей заявке, если не указано иное. Кроме того, соединения, содержащие кислотный или основной атом или функциональную группу, можно использовать или можно получить в виде соли, если не указано иное (в некоторых случаях использование соли в конкретной реакции может потребовать преобразования соли в не-солевую форму, например, в форму свободного основания с использованием рутинных процедур до осуществления реакции).

Хотя конкретный вариант осуществления настоящего изобретения может быть показан или описан в следующих процедурах, специалистам в данной области будет понятно, что другие варианты осуществления или аспекты настоящего изобретения также могут быть получены с использованием таких проце-

дур или с использованием других способов, реагентов и исходных веществ, известных специалистам в данной области. В частности, должно быть понятно, что соединения по изобретению можно получить различными способами, в которых взаимодействующие вещества сочетают в разном порядке с получением разных промежуточных соединений на пути получения конечных продуктов.

В общем способе получения конечных соединений по изобретению используют ключевое промежуточное соединение 1, как проиллюстрировано на схеме 1. Переменные R^1 , R^2 , R^4 , R^5 и n имеют значение, определенное в формуле (I), R^A представляет собой необязательно замещенный C_{1-4} алкил и L представляет собой удаляемую группу. Схема показывает соединения, в которых переменная R^3 представляет собой метил. Соединения, в которых R^3 представляет собой C_{2-3} алкил, можно получить аналогичным образом.



Сульфонамидные соединения, в которых R^1 определен как $S(O)_2R^4$, как в варианте (а), обычно получают путем контактирования промежуточного соединения 1 с от около 1 до около 1,1 экв. сульфонилхлорида формы $Cl-S(O)_2R^4$ в присутствии избыточного количества основания при температуре порядка $0^\circ C$. Реакцию типично осуществляют в пределах времени от около 1 до около 24 ч или вплоть до, по существу, полного завершения реакции.

Для получения соединений, в которых R^1 представляет собой необязательно замещенную алкильную группу, как определено в варианте (b), в реакции алкилирования типично используют галогеновую удаляемую группу L , преимущественно хлор или бром. Реакцию типично осуществляют путем контактирования промежуточного соединения 1 с избыточным количеством реагента $L-R^A$ в инертном разбавителе в присутствии избыточного количества основания. Реакцию типично осуществляют при температуре между около 20 и около $60^\circ C$ в пределах времени от около 10 до около 24 ч или вплоть до, по существу, полного завершения реакции.

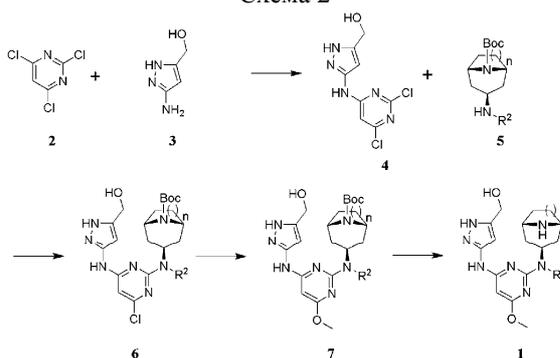
Альтернативно, реакцию присоединения по Михаэлю можно использовать для получения соединений, в которых R^1 представляет собой цианозильную группу. Например, как описано в примерах ниже, для получения соединения, в котором R^1 представляет собой $-(CH_2)_2CN$, промежуточное соединение 1 подвергают контактированию с от около 1 до около 1,5 экв. акрилонитрила в присутствии избыточного количества основания, например диизопропилэтиламина или диазобициклоундецена. Реакцию типично осуществляют при комнатной температуре в пределах времени от около 3 до около 24 ч или вплоть до, по существу, полного завершения реакции.

Соединения, в которых R^1 определен как $-C(O)R^5$, можно получить с использованием карбонилхлорида формы $Cl-C(O)R^5$, например хлорформиата, когда R^5 определен как $-OC_{1-4}$ алкил. Типично, промежуточное соединение 1 подвергают контактированию с примерно одним эквивалентом карбонилхлорида в присутствии избыточного количества основания при температуре порядка $0^\circ C$. Реакцию типично осуществляют в пределах времени от около 1 до около 3 ч или вплоть до, по существу, полного завершения реакции.

Альтернативно, соединения, в которых R^1 определен как $C(O)R^5$, можно получить путем контактирования промежуточного соединения 1 с небольшим избытком карбоновокислотного реагента $HO-C(O)-R^5$ в типичных условиях амидного связывания. Реакцию типично осуществляют в присутствии избыточного количества основания с использованием активирующего агента, такого как N,N,N',N' -тетраметил- O -(7-азабензотриазол-1-ил)уроний гексафторфосфат (НАТУ). Реакцию типично осуществляют при комнатной температуре в пределах времени от около 3 до около 24 ч или вплоть до, по существу, полного завершения реакции.

Пример реакции для получения промежуточного соединения 1, в котором переменная R^3 представляет собой метил, проиллюстрирован на схеме 2.

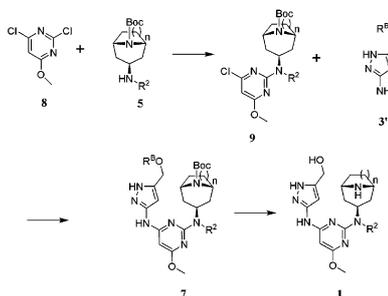
Схема 2



В реакции ароматического замещения стадии 1 трихлорпиримидин 2 подвергают взаимодействию с избыточным количеством аминопиразолметанольного промежуточного соединения 3 в присутствии основания с получением промежуточного соединения 4. Вос-защищенное промежуточное аминоазабигло соединение 5 затем подвергают взаимодействию с промежуточным соединением 4 с получением промежуточного соединения 6. Например, промежуточное соединение 4 объединяют с от около 1 до около 1,5 экв. промежуточного азабигло соединения 5 в присутствии избыточного количества основания, такого как диизопропилэтиламин. Реакцию типично осуществляют при повышенной температуре, между около 85 и около 120°C, в пределах времени от около 6 до около 12 ч или вплоть до, по существу, полного завершения реакции. Реакцию промежуточного соединения 6 с метоксидом натрия дает промежуточное соединение 7. Реакцию типично осуществляют в герметично закрытой пробирке при повышенной температуре между около 85 и около 120°C в пределах времени от около 4 до около 10 ч или вплоть до, по существу, полного завершения реакции. На последней стадии Вос группу можно удалить с использованием стандартной процедуры обработки кислотой, типично хлористоводородной кислотой, с получением промежуточного соединения 1.

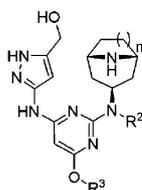
Альтернативно, промежуточное соединение 1 можно получить с использованием последовательности стадий, проиллюстрированной на схеме 3.

Схема 3



где R^B представляет собой водород или силильную кислород-защитную группу, такую как триизопропилсилил (TIPS) или трет-бутилдиметилсилил (TBS). Вос-защищенную аминоазабигло группу 5 соединяют с дихлорметоксиимидазопиридиновым промежуточным соединением 8 с образованием промежуточного соединения 9. Реакцию типично осуществляют при повышенной температуре в присутствии основания. Промежуточное соединение 9 затем подвергают взаимодействию с аминопиразольным промежуточным соединением 3' в стандартных условиях Бухвальда с получением промежуточного соединения 7. Например, промежуточное соединение 9 объединяют с от около 1 до около 1,5 экв. пиразольного промежуточного соединения 3' в присутствии основания, такого как карбонат цезия или карбонат калия, и палладиевого катализатора. Реакцию типично осуществляют при повышенной температуре, между около 80 и около 110°C, в пределах времени от около 8 и около 24 ч или вплоть до, по существу, полного завершения реакции. На конечной стадии защитную группу Вос удаляют, как на схеме 2. Когда R^B представляет собой силильную защитную группу, силильную и Вос группы можно удалять одновременно.

Соответственно в одном аспекте, относящемся к способу, изобретение обеспечивает способ для получения соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, включающий взаимодействие соединения формулы (III)



(III)

с

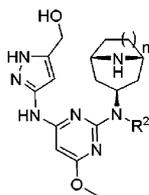
(i) $\text{Cl-S(O)}_2\text{R}^4$,(ii) соединением формулы L-R^A , где L представляет собой удаляемую группу и R^A представляет со-бой C_{1-4} алкил, где C_{1-4} алкил необязательно замещен $-\text{CN}$, $\text{C}(\text{CN})_2$ или пиридином, где пиридинил необязательно замещен группой $-\text{CN}$;(iii) Cl-C(O)R^5 или(iv) HO-C(O)R^5 где $\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5$ и n имеют значения, определенные выше, и

необязательно образование фармацевтически приемлемой соли, с получением соединения формулы

(I) или его фармацевтически приемлемой соли.

В отдельных и особых аспектах изобретение также обеспечивает соединение формулы (III), где переменные принимают любое из значений, описанных выше, и соединение формулы (III), где R^2 и R^3 , каждый, представляет собой метил и n имеет значение 1 или 2.

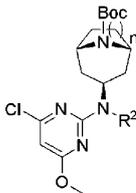
В другом аспекте, относящемся к способу, изобретение обеспечивает способ для получения соединения формулы 1



1

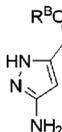
где R^2 и n имеют значения, определенные выше, при этом способ включает:

(a) взаимодействие соединения формулы 9



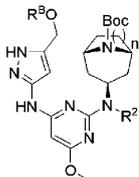
9

с соединением формулы 3



3'

где R^B представляет собой водород или силильную кислород-защитную группу, с образованием соединения формулы 7



7

и (b) удаление защитной группы или групп из соединения формулы 7 с получением соединения формулы 1.

Кристаллические формы

В другом аспекте изобретение обеспечивает 1-(((1R,3s,5S)-3-(((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабicyclo[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил (см. Примеры 2 и 10-13) в кристаллической форме свободного основания, Форме I и Форме II.

В одном аспекте кристаллическая Форма I свободного основания характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой (PXRD), имеющей характерные дифракционные пики, наряду с другими пиками, при 2θ значениях $8,89\pm 0,20$, $12,99\pm 0,20$, $13,44\pm 0,20$ и $20,16\pm 0,20$. Форма I может дополнительно характеризоваться PXRD-картиной, имеющей два или более дополнительных дифракционных пика, в том числе три или более и четыре или более дополнительных дифракционных пика при 2θ значе-

ниях, выбранных из 10,64±0,20, 10,99±0,20, 15,02±0,20, 15,74±0,20, 16,47±0,20, 20,93±0,20, 22,22±0,20 и 26,25±0,20. В другом аспекте Форма I характеризуется PXRD-картиной, имеющей дифракционные пики при 2θ значениях 8,89±0,20, 10,64±0,20, 10,99±0,20, 12,99±0,20, 13,44±0,20, 15,02±0,20, 15,74±0,20, 16,47±0,20, 20,16±0,20, 20,93±0,20, 22,22±0,20 и 26,25±0,20.

Как хорошо известно в области порошковой рентгеновской дифракции, положения пиков на PXRD-картине относительно менее чувствительны к экспериментальным условиям, таким как условия получения образца и геометрия инструмента, чем относительная высота пиков. Таким образом, в одном аспекте кристаллическая Форма I характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, на которой положения пиков по существу соответствуют положениям, показанным на фиг. 1.

В другом аспекте кристаллическая Форма I характеризуется поведением при воздействии на нее высокой температуры. Как продемонстрировано на фиг. 2, кривая дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC), полученная при скорости нагрева 10°C в минуту, демонстрирует пик в эндотермическом тепловом потоке, идентифицированный как переход в расплав, от около 235 до около 245°C, включая от около 237 до около 242°C. Кривая термогравиметрического анализа (TGA) на фиг. 3 демонстрирует начало потери массы, соответствующее разложению после достижения температуры плавления.

Было продемонстрировано, что кристаллическая Форма I имеет обратимый профиль сорбции/десорбции с исключительно малой склонностью к гигроскопичности. Форма I продемонстрировала меньше чем около 0,4% увеличение массы при влажности в диапазоне 5-90% относительной влажности. Никакого гистерезиса не наблюдали в двух циклах сорбции и десорбции. Форма I считается негигроскопичной.

Кроме того, было продемонстрировано, что кристаллическая Форма I является стойкой к измельчению. Никакой разницы не наблюдали между порошковой рентгеновской дифрактограммой вещества, которое не было тонкоизмельченным, и дифрактограммой вещества Формы I после тонкого измельчения.

Кристаллическая Форма II свободного основания характеризуется PXRD-картиной, показанной на фиг. 5, и также характеризуется поведением при воздействии на нее высокой температуры. Как продемонстрировано на фиг. 6, кривая дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC), полученная при скорости нагрева 10°C в минуту, демонстрирует широкий пик в эндотермическом тепловом потоке в диапазоне от около 205 до около 240°C, что вместе с кривой термогравиметрического анализа (TGA), показанной на фиг. 7, можно интерпретировать как объединенный переход в расплав и разложение. Форма II представляет собой слегка гигроскопичное твердое вещество, которое продемонстрировало небольшой гистерезис между двумя циклами сорбции и десорбции. Форма II продемонстрировала увеличение массы около 1,2% при влажности в диапазоне 5-90% относительной влажности.

Как описано в примерах 11 и 12, Форму I можно получить путем растворения соединения в N-метилпирролидоне (NMP) или диметилформамиде (DMF) и добавления ацетона и воды в качестве антирастворителей в соотношении примерно от 1:1,5 до 1:1,75 ацетон:вода. Полученную реакционную смесь перемешивают около 4-24 ч, фильтруют, промывают смесью ацетона и воды, такой как 1:1,4 смесь ацетона и воды, и сушат с получением кристаллической Формы I. Способ для получения кристаллической Формы II описан в примере 13.

В другом аспекте изобретение обеспечивает способ получения кристаллической Формы I, включающий:

(а) растворение 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-гидроксиметил)-1H-пиазол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрила в растворителе, выбранном из N-метилпирролидона и диметилформамида, с образованием реакционной смеси;

(b) добавление к реакционной смеси ацетона и воды и

(c) выделение кристаллической Формы I из реакционной смеси.

Фармацевтические композиции

Соединения по изобретению и их фармацевтически приемлемые соли обычно используют в виде фармацевтической композиции или состава. Такие фармацевтические композиции можно вводить пациенту любым приемлемым способом введения, включая, но не ограничиваясь этим, пероральный, местный (в том числе чрескожный), ректальный, назальный, ингаляционный и парентеральный способы введения.

Соответственно, в одном из аспектов, относящихся к композициям, изобретение относится к фармацевтической композиции, включающей фармацевтически приемлемый носитель или эксципиент и соединение формулы (I), где, как определено выше, "соединение формулы (I)" означает соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль. Необязательно, такие фармацевтические композиции могут содержать другие терапевтические средства и/или агенты, используемые для формулирования препаратов, если желательно. При обсуждении композиций и их применений "соединение по изобретению" также может быть указано как "активное вещество". В контексте настоящей заявки термин "соединение по изобретению" предназначен для включения всех соединений, охватываемых формулой (I), а также соединений, воплощенных в формуле (II), и их фармацевтически приемлемых солей.

Фармацевтические композиции по изобретению обычно содержат терапевтически эффективное ко-

личество соединения по настоящему изобретению. Специалистам в данной области техники, однако, должно быть понятно, что фармацевтическая композиция может содержать больше чем терапевтически эффективное количество, то есть нерасфасованные композиции, или меньше чем терапевтически эффективное количество, то есть отдельные стандартные дозы, предназначенные для многократного введения для достижения терапевтически эффективного количества.

Типично, такие фармацевтические композиции будут содержать от около 0,1 до около 95 мас.% активного вещества; в том числе от около 5 до около 70 мас.% активного вещества.

Любой обычно используемый носитель или эксципиент можно использовать в фармацевтических композициях по изобретению. Выбор конкретного носителя или эксципиента или комбинации носителей или эксципиентов будет зависеть от способа введения, используемого для лечения конкретного пациента, или от типа медицинского состояния или болезненного состояния. Учитывая вышесказанное, получение подходящей фармацевтической композиции для конкретного способа введения находится в сфере компетенции специалистов в области фармацевтики. Кроме того, носители или эксципиенты, используемые в фармацевтических композициях по настоящему изобретению, являются коммерчески доступными. В качестве дополнительной иллюстрации, традиционные методы формулирования композиций описаны в Remington: Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); и H.C. Ansel et al., Pharmaceutical Лекарственная форма and Drug Delivery Systems, 7th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

Репрезентативные примеры веществ, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемых носителей, включают, но не ограничиваются этим, следующие: сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлоза, такая как микрокристаллическая целлюлоза и ее производные, такие как натрий карбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; порошкообразный трагакант; солод; желатин; тальк; эксципиенты, такие как масло какао и воски для суппозиторий; масла, такие как арахисовое масло, масло семян хлопчатника, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; сложные эфиры, такие как этилолеат и этилаурат; агар; буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; альгиновая кислота; апирогенная вода; изотонический солевой раствор; раствор Рингера; этиловый спирт; фосфатно-буферные растворы; и другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических композициях.

Фармацевтические композиции обычно получают путем тщательного и тесного смешивания активного вещества с фармацевтически приемлемым носителем и одним или несколькими необязательными ингредиентами. Полученную однородно смешанную смесь затем можно формовать или загружать в таблетки, капсулы, пилули и т.п., используя обычные процедуры и оборудование.

Фармацевтические композиции по изобретению предпочтительно упаковывают в виде стандартной лекарственной формы. Термин "стандартная лекарственная форма" относится к физически дискретной единице, подходящей для дозирования пациенту, то есть каждая единица содержит предварительно определенное количество активного вещества, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта либо отдельно, либо в комбинации с одной или несколькими дополнительными единицами. Например, такие стандартные лекарственные формы могут представлять собой капсулы, таблетки, пилули и т.п., или отдельные упаковки, подходящие для парентерального введения.

В одном варианте осуществления фармацевтические композиции по изобретению являются подходящими для перорального введения. Подходящие фармацевтические композиции для перорального введения могут быть в форме капсул, таблеток, пилуль, лепешек, саше, драже, порошков, гранул; или в виде раствора или суспензии в водной или неводной жидкости; или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде или вода-в-масле; или в виде эликсира или сиропа; и т.п.; при этом каждая такая форма содержит предварительно определенное количество соединения по настоящему изобретению в качестве активного ингредиента.

Когда они предназначены для перорального введения в твердой дозированной форме (то есть в виде капсул, таблеток, пилуль и т.п.), фармацевтические композиции по изобретению обычно включают активное вещество и один или несколько фармацевтически приемлемых носителей. Необязательно, такие твердые лекарственные формы могут включать: наполнители или создающие объем вещества, такие как крахмалы, микрокристаллическая целлюлоза, лактоза, дикальций фосфат, сахароза, глюкоза, маннит и/или кремниевая кислота; связующие, такие как карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и/или аравийская камедь; увлажнители, такие как глицерин; разрыхлители, такие как натрий кроскармеллоза, агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые силикаты и/или карбонат натрия; вещества, замедляющие растворение, такие как парафин; ускорители абсорбции, такие как четвертичные аммониевые соединения; смачивающие вещества, такие как цетиловый спирт и/или глицеринмоностеарат; абсорбенты, такие как каолин и/или бентонитовая глина; смазывающие вещества, такие как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия и/или их смеси; красители; и буферные агенты.

Регуляторы высвобождения, смачивающие вещества, покрывающие агенты, подсластители, отдуш-

ки и ароматизаторы, консерванты и антиоксиданты также могут присутствовать в фармацевтических композициях по изобретению. Примеры фармацевтически приемлемых антиоксидантов включают водорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, цистеин гидрохлорид, бисульфат натрия, метабисульфат натрия, сульфит натрия и т.п.; маслорастворимые антиоксиданты, такие как аскорбилпальмитат, бутилированный гидроксианизол, бутилированный гидрокситолуол, лецитин, пропилгаллат, альфа-токоферол и т.п.; и металлхелатирующие агенты, такие как лимонная кислота, этилендиаминтетрауксусная кислота, сорбит, винная кислота, фосфорная кислота и т.п. Покрывающие агенты для таблеток, капсул, пилюль и т.п. включают агенты, используемые для энтеросолюбильных покрытий, такие как ацетат-фталат целлюлозы, поливинилацетат фталат, фталат гидроксипропилметилцеллюлозы, метакриловая кислота, сополимеры сложных эфиров метакриловой кислоты, ацетат-тримеллитат целлюлозы, карбоксиметилэтилцеллюлоза, ацетат-сукцинат гидроксипропилметилцеллюлозы и т.п.

Фармацевтические композиции по изобретению также могут быть сформулированы для обеспечения медленного или контролируемого высвобождения активного вещества с использованием, например, гидроксипропилметилцеллюлозы в различных пропорциях; или других полимерных матриц, липосом и/или микросфер. Кроме того, фармацевтические композиции по изобретению, необязательно, могут содержать опалесцирующие агенты и могут быть сформулированы таким образом, чтобы они высвободили активный ингредиент только или предпочтительно в определенной части желудочно-кишечного тракта, необязательно, замедленным образом. Примеры композиций для включения в них лекарственного вещества, которые можно использовать, включают полимерные вещества и воски. Активное вещество также может быть в микроинкапсулированной форме, если необходимо, с одним или несколькими из описанных выше эксципиентов.

Подходящие жидкие лекарственные формы для перорального введения включают, в качестве иллюстрации, фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Жидкие лекарственные формы обычно содержат активное вещество и инертный разбавитель, такой как, например, вода или другие растворители, солюбилизующие вещества и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, масла (такие как хлопковое, арахисовое, кукурузное, зародышное, оливковое, касторовое и кунжутное масло), олеиновая кислота, глицерин, тетрагидрофуриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры жирных кислот сорбитана и смеси таких веществ. Альтернативно, некоторые жидкие композиции можно преобразовать, например, путем распылительной сушки в порошок, который используют для получения твердых лекарственных форм, используя обычные процедуры.

Суспензии помимо активного ингредиента могут содержать суспендирующие вещества, такие как, например, этоксилированные изостеариловые спирты, сложные эфиры полиоксиэтиленсорбита и сорбитана, микрокристаллическая целлюлоза, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант и их смеси.

Соединения по настоящему изобретению также можно вводить парентерально (например, путем внутривенной, подкожной, внутримышечной или интраперитонеальной инъекции). Для парентерального введения активное вещество обычно смешивают с подходящим носителем для парентерального введения, включая, например, стерильные водные растворы, физиологический раствор, низкомолекулярные спирты, такие как пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, растительные масла, желатин, эфиры жирных кислот, такие как этилолеат, и т.п. Композиции для парентерального введения могут также содержать один или несколько антиоксидантов, солюбилизаторов, стабилизаторов, консервантов, смачивающих веществ, эмульгаторов, буферных агентов или диспергирующих веществ. Эти композиции можно сделать стерильными с использованием стерильной инъекционной среды, стерилизующего агента, фильтрации, облучения или нагревания.

Альтернативно, фармацевтические композиции по изобретению формулируют для введения путем ингаляции. Подходящие фармацевтические композиции для введения путем ингаляции типично имеют форму аэрозоля или порошка. Такие композиции обычно вводят с использованием известных устройств доставки, таких как дозирующий ингалятор, ингалятор сухого порошка, распылитель или аналогичное устройство доставки.

При введении путем ингаляции с использованием контейнера под давлением фармацевтические композиции по изобретению обычно содержат активный ингредиент и подходящий пропеллент, такой как дихлордифторметан, трихлорфторметан, дихлортетрафторэтан, диоксид углерода или другой подходящий газ. Кроме того, фармацевтическая композиция может быть в форме капсулы или картриджа (например, из желатина), включающего соединение по изобретению и порошок, подходящий для использования в порошковом ингаляторе. Подходящие порошковые основы включают, например, лактозу или крахмал.

Соединения по изобретению также можно сформулировать для местного нанесения на кожу в виде мази или крема. Препараты мази представляют собой полутвердые препараты, имеющие основу из маслянистого или жирного вещества, которое обычно является прозрачным. Подходящие маслянистые вещества для использования в композициях мазей включают вазелин (вазелиновое масло), пчелиный воск,

масло какао, масло ши и цетиловый спирт. Необязательно, мази могут дополнительно включать смягчающие вещества и усилители проникновения, если необходимо.

Препараты, имеющие форму крема, могут быть получены в виде эмульсий, содержащих масляную фазу и водную фазу, обычно включающую очищенную воду. Компоненты композиций в форме крема могут включать: масляные основы, такие как вазелин, минеральные масла, растительные масла и животные жиры и триглицериды; основы для крема, такие как ланолиновые спирты, стеариновая кислота и цетостеариловый спирт; гелевую основу, такую как поливиниловый спирт; растворители, такие как пропиленгликоль и полиэтиленгликоль; эмульгаторы, такие как полисорбаты, стеараты, такие как глицерилстеарат, октилгидроксистеарат, полиоксистеарат, ПЭГ стеариловые эфиры, изопропилпальмитат и сорбитанмоностеарат; стабилизаторы, такие как полисахариды и сульфит натрия; смягчающие средства (например, увлажнители), такие как триглицериды со средней длиной цепи, изопропилмиристан и диметикон; вещества, повышающие жесткость смеси, такие как цетиловый спирт и стеариловый спирт; антимикробные агенты, такие как метилпарабен, пропилпарабен, феноксиэтанол, сорбиновая кислота, диазолидинилмочевина и бутилированный гидроксианизол; усилители пенетрации, такие как N-метилмас пирролидон, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль монолаурат и т.п.; и хелатирующие агенты, такие как динатрий эдетат.

Следующие неограничивающие примеры иллюстрируют репрезентативные фармацевтические композиции по настоящему изобретению.

Твердая лекарственная форма для перорального введения в виде таблетки

Соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль подвергают сухому смешиванию с микрокристаллической целлюлозой, поливинилпирролидоном и натрийкроскармелозой в соотношении 4:5:1:1 и прессуют в таблетки с получением стандартной дозы, например 5, 20 или 40 мг активного вещества на таблетку.

Твердая лекарственная форма для перорального введения в виде капсулы

Соединение по изобретению или его фармацевтически приемлемую соль объединяют с микрокристаллической целлюлозой, поливинилпирролидоном и натрийкроскармелозой в соотношении 4:5:1:1 путем мокрого гранулирования и загружают в капсулы из желатина или гидроксипропилметилцеллюлозы с получением стандартной дозы, например 5, 20 или 40 мг активного вещества на капсулу.

Жидкая лекарственная форма

Жидкую лекарственную форму, включающую соединение по изобретению (0,1%), воду (98,9%) и аскорбиновую кислоту (1,0%), получают путем добавления соединения по изобретению к смеси воды и аскорбиновой кислоты.

Лекарственная форма для перорального введения с энтеросолюбильным покрытием

Соединение по изобретению растворяют в водном растворе, содержащем поливинилпирролидон, и наносят путем распыления на гранулы из микрокристаллической целлюлозы или сахара в соотношении 1:5 мас./мас. активное вещество:гранулы и затем наносят увеличивающее массу приблизительно на 5% энтеросолюбильное покрытие, включающее акриловый сополимер, например комбинацию акриловых сополимеров, доступных под торговыми названиями Eudragit-L® и Eudragit-S®, или ацетат-сукцинат гидроксипропилметилцеллюлозы. Гранулы с энтеросолюбильным покрытием загружают в капсулы из желатина или гидроксипропилметилцеллюлозы с получением стандартной дозы, например 30 мг активного вещества на капсулу.

Лекарственная форма для перорального введения с энтеросолюбильным покрытием

Энтеросолюбильное покрытие, включающее комбинацию Eudragit-L® и Eudragit-S® или ацетат-сукцинат гидроксипропилметилцеллюлозы, наносят на пероральную лекарственную форму в виде таблетки или капсулы, описанную выше.

Лекарственная форма в виде мази для местного введения

Соединение по изобретению объединяют с вазелином, C₈-C₁₀ триглицеридом, октилгидроксистеаратом и N-метилпирролидоном в таком соотношении, чтобы получить композицию, содержащую 0,05-5 мас.% активного вещества.

Лекарственная форма в виде мази для местного введения

Соединение по изобретению объединяют с белым вазелином, пропиленгликолем, моно- и диглицеридами, парафином, бутилированным гидрокситолуолом и динатрийкальций эдетатом в таком соотношении, чтобы получить композицию, содержащую 0,05-5 мас.% активного вещества.

Лекарственная форма в виде мази для местного введения

Соединение по изобретению объединяют с минеральным маслом, парафином, пропиленкарбонатом, белым вазелином и белым воском с получением композиции, содержащей 0,05-5 мас.% активного вещества.

Лекарственная форма для местного введения в виде крема

Минеральное масло объединяют с соединением по изобретению, пропиленгликолем, изопропилпальмитатом, полисорбатом 60, цетиловым спиртом, сорбитанмоностеаратом, полиоксил 40 стеаратом, сорбиновой кислотой, метилпарабеном и пропилпарабеном с образованием масляной фазы, которую

объединяют с очищенной водой путем смешивания со сдвигом с получением композиции, содержащей 0,05-5 мас.% активного вещества.

Лекарственная форма для местного введения в виде крема

Композиция крема, включающая соединение по изобретению, бензиловый спирт, цетиловый спирт, безводную лимонную кислоту, моно и диглицериды, олеиловый спирт, пропиленгликоль, цетостеарилсульфат натрия, гидроксид натрия, стеариловый спирт, триглицериды и воду, содержит 0,05-5 мас.% активного вещества.

Лекарственная форма для местного введения в виде крема

Композиция крема, включающая соединение по изобретению, цетостеариловый спирт, изопропилмиристал, пропиленгликоль, цетомакрогол 1000, диметикон 360, лимонную кислоту, цитрат натрия и очищенную воду, с имидомочевинной, метилпарабеном и пропилпарабеном в качестве консервантов, содержит 0,05-5 мас.% активного вещества.

Применимость

Было показано, что соединения по изобретению являются сильными ингибиторами JAK семейства ферментов: JAK1, JAK2, JAK3 и TYK2. Ингибирование JAK семейства ферментов может ингибировать передачу сигналов многих ключевых провоспалительных цитокинов. Таким образом, ожидается, что ингибиторы JAK по изобретению будут полезны для лечения воспалительных заболеваний, таких как язвенный колит, и других желудочно-кишечных воспалительных заболеваний, таких как болезнь Крона и индуцированный ингибиторами иммунных контрольных точек колит. Ожидается, что ингибиторы JAK по настоящему изобретению будут полезны для лечения атопического дерматита и других воспалительных и вызывающих зуд кожных заболеваний и для лечения респираторных состояний, таких как аллергический ринит, астма и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ).

Желудочно-кишечное воспалительное заболевание

Помимо обеспечения сильного ингибирования ферментов JAK соединения по изобретению были разработаны как плохо абсорбируемые, чтобы минимизировать системное воздействие. Выбранные соединения, испытанные на каниюлированных крысах, показали низкую пероральную биодоступность. Кроме того, соединения предназначены для обеспечения эффекта на участке их действия, например, в толстой кишке. Как описано в Анализах 6 и 7 ниже, соединение примера 2 показало пероральную биодоступность у крыс меньше чем около 5% и отношение экспозиции в толстой кишке к экспозиции в плазме при пероральном введении больше чем около 250.

Оксазолон-индуцированный колит является экспериментальной моделью, которая имеет гистологическое сходство с язвенным колитом человека. Как описано ниже, соединение примера 2 в числе других соединений по изобретению продемонстрировало активность в оксазолон-индуцированной модели колита у мышей. Кроме того, при испытании в модели иммуносупрессии у мышей, которая исследует системную функциональную активность, соединение продемонстрировало минимальный эффект иммуносупрессии при той же дозе, которая требуется для демонстрации эффективности в оксазолоновой модели. Таким образом, соединение продемонстрировало активность против колита без проявления системных эффектов в доклинических моделях.

Ожидается, что высокое отношение толстая кишка:плазма будет обеспечивать устойчивую люминально-направленную противовоспалительную активность, без связанных с этим системных побочных эффектов. Ожидается, что такие соединения будут полезны для различных воспалительных желудочно-кишечных показаний, которые включают, но не ограничиваются этим, язвенный колит (проктосигмоидит, панколит, язвенный проктит и левосторонний колит), болезнь Крона, коллагенозный колит, лимфоцитарный колит, болезнь Бехчета, целиакию, индуцированный ингибиторами иммунных контрольных точек колит, илеит, эозинофильный эзофагит, связанный с болезнью трансплантат-против-хозяина колит и инфекционный колит. Язвенный колит (Reimund et al., J Clin Immunology, 1996, 16, 144-150), болезнь Крона (Woywodt et al., Eur J Gastroenterology Hepatology, 1999, 11, 267-276), коллагенозный колит (Kumawat et al., Mol Immunology, 2013, 55, 355-364), лимфоцитарный колит (Kumawat et al., 2013), эозинофильный эзофагит (Weinbrand-Goichberg et al., Immunol Res, 2013, 56, 249-260), связанный с болезнью трансплантат-против-хозяина колит (Coghill et al., Blood, 2001, 117, 3268-3276), инфекционный колит (Stallmach et al., Int J Colorectal Dis, 2004, 19, 308-315), болезнь Бехчета (Zhou et al., Autoimmun Rev, 2012, 11, 699-704), целиакия (de Nitto et al., World J Gastroenterol, 2009, 15, 4609-4614), индуцированный ингибиторами иммунных контрольных точек колит (например, ингибитор CTLA-4-индуцированный колит; (Yano et al., J Translation Med, 2014, 12, 191), ингибитор PD-1- или PD-L1-индуцированный колит) и илеит (Yamamoto et al., Dig Liver Dis, 2008, 40, 253-259) характеризуются повышением уровней некоторых провоспалительных цитокинов. Поскольку многие провоспалительные цитокины передают сигналы через активацию JAK, соединения, описанные в настоящей заявке, могут уменьшать тяжесть воспаления и обеспечивать облегчение симптомов.

В частности, ожидают, что соединения по изобретению будут полезны для индукции и поддержания ремиссии язвенного колита и для лечения болезни Крона, индуцированного ингибиторами иммунных контрольных точек колита и желудочно-кишечных побочных эффектов при болезни трансплантат-против-хозяина.

Поэтому в одном аспекте изобретение обеспечивает способ лечения желудочно-кишечного воспалительного заболевания у млекопитающего (например, человека), включающий введение млекопитающему соединения по изобретению или фармацевтической композиции, включающей фармацевтически приемлемый носитель и соединение по изобретению.

Изобретение также обеспечивает способ лечения язвенного колита у млекопитающего, включающий введение млекопитающему соединения по изобретению или фармацевтической композиции, включающей фармацевтически приемлемый носитель и соединение по изобретению.

При использовании для лечения язвенного колита соединения по изобретению обычно вводят перорально в виде одной суточной дозы или в виде нескольких доз в день, хотя могут использоваться другие формы введения. Количество активного вещества, вводимого на дозу, или общее количество, вводимое в день, обычно определяет врач в свете соответствующих обстоятельств, включая состояние, подлежащее лечению, выбранный способ введения, конкретное вводимое соединение и его относительную активность, возраст, массу тела и ответ конкретного пациента, тяжесть симптомов пациента и т.п.

Ожидается, что подходящие дозы для лечения язвенного колита и других воспалительных заболеваний желудочно-кишечного тракта могут варьироваться от около 1 до около 400 мг/день активного вещества, в том числе от около 5 до около 300 мг/день и от около 20 до около 70 мг в день активного вещества для человека со средней массой тела 70 кг.

Комбинированная терапия

Соединения по изобретению также можно использовать в комбинации с одним или несколькими средствами, которые имеют такой же механизм действия или другие механизмы действия для лечения желудочно-кишечных воспалительных заболеваний. Полезные классы средств для комбинированной терапии включают, но не ограничиваются этим, аминосалицилаты, стероиды, системные иммунодепрессанты, анти-TNF α антитела, анти-VLA-4 антитела, антиинтегрин $\alpha_4\beta_7$ антитела, антибактериальные средства и лекарственные средства от диареи.

Аминосалицилаты, которые можно использовать в комбинации с ингибиторами JAK по настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются этим, месаламин, осалазин и сульфасалазин. Примеры стероидов включают, но не ограничиваются этим, преднизон, преднизолон, гидрокортизон, будесонид, беклометазон и флутиказон. Системные иммунодепрессанты, полезные для лечения воспалительных заболеваний, включают, но не ограничиваются этим, циклоспорин, азатиоприн, метотрексат, б-меркаптопурин и такролимус. Кроме того, анти-TNF α антитела, которые включают, но не ограничиваются этим, инфликсимаб, адалимумаб, голимумаб и цертолизумаб, можно использовать в комбинированной терапии.

Полезные соединения, имеющие другие механизмы действия, включают анти-VLA-4 антитела, такие как натализумаб, антиинтегрин $\alpha_4\beta_7$ антитела, такие как ведолизумаб, антибактериальные средства, такие как рифаксимин, и лекарственные средства от диареи, такие как лоперамид (Mozaffari et al., *Expert Biol. Ther.* 2014, 14, 583-600, Danese, *Gut*, 2012, 61, 918-932, Lam et al., *Immunotherapy*, 2014, 6, 963-971).

Поэтому в другом аспекте изобретение обеспечивает терапевтическую комбинацию для применения в лечении желудочно-кишечных воспалительных заболеваний, при этом комбинация включает соединение по изобретению и одно или несколько других терапевтических средств, полезных для лечения желудочно-кишечных воспалительных заболеваний. Например, изобретение обеспечивает комбинацию, включающую соединение по изобретению и одно или несколько средств, выбранных из аминосалицилатов, стероидов, системных иммунодепрессантов, анти-TNF α антител, анти-VLA4 антител, антиинтегрин $\alpha_4\beta_7$ антител, антибактериальных средств и лекарственных средств от диареи. Дополнительное средство (средства), если оно включено, присутствует в терапевтически эффективном количестве, то есть в любом количестве, которое обеспечивает терапевтически благоприятный эффект при совместном введении с соединением по изобретению.

Поэтому также обеспечивается фармацевтическая композиция, включающая соединение по изобретению и одно или несколько других терапевтических средств, полезных для лечения желудочно-кишечных воспалительных расстройств.

Кроме того, в одном аспекте, относящемся к способу, изобретение обеспечивает способ лечения желудочно-кишечных воспалительных расстройств, включающий введение млекопитающему соединения по изобретению и одного или нескольких других терапевтических средств, полезных для лечения желудочно-кишечных воспалительных расстройств.

При использовании в комбинированной терапии средства можно сформулировать в виде одной фармацевтической композиции, как описано выше, или средства могут быть представлены в отдельных композициях, которые вводят одновременно или в разное время, одним и тем же или разными способами введения. При введении отдельно, средства вводят достаточно близко по времени, чтобы обеспечить желаемый терапевтический эффект. Такие композиции могут быть упакованы отдельно или могут быть упакованы вместе в виде набора. Два или более терапевтических средств в наборе можно вводить одним и тем же путем введения или разными путями введения.

Воспалительное кожное заболевание

Атопический дерматит, например, связывают с повышением уровня провоспалительных цитокинов, использующих JAK-STAT путь, в частности, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 и IFN γ . Поскольку соединения по изобретению демонстрируют сильное ингибирование в отношении всех четырех JAK ферментов, ожидают, что они будут сильно ингибировать провоспалительные цитокины, характерные для атопического дерматита и других воспалительных кожных заболеваний. В частности, соединение 1-(((1R,3s,5S)-3-(((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил, раскрытое в примере 2, продемонстрировало IC₅₀ значения 50 нМ или меньше для ингибирования IL-4, IL-13 и IFN γ в клеточных анализах, описанных в Анализах 4, 2, и 5 соответственно. Соединение также продемонстрировало доза- и концентрация-зависимый эффект в модели ТРА-индуцированного раздражающего контактного дерматита у мышей. Кроме того, модельные композиции соединения примера 2 в форме крема и мази продемонстрировали устойчивые уровни в коже по меньшей мере в течение 2 дней у мышей и по меньшей мере 7 дней у мини-свинок без обнаруживаемой экспозиции в плазме.

Ожидают, что устойчивые уровни в коже ингибиторов JAK в отсутствие значительных системных уровней приведут к сильной локальной противовоспалительной и противозудной активности в коже без побочных эффектов, вызванных системным воздействием. Ожидается, что такие соединения будут полезны при некоторых кожных воспалительных или связанных с зудом состояниях, которые включают, но не ограничиваются этим, атопический дерматит, гнездную алопецию, витилиго, кожную Т-клеточную лимфому, узелковую чесуху, красный плоский лишай, первичный локализованный кожный амилоидоз, буллезный пемфигоид, кожные проявления болезни трансплантат-против-хозяина, пемфигоид, дискоидную волчанку, кольцевидную гранулему, простой хронический лишай, зуд наружных женских половых органов/мошонки/перианальный, склеротический лишай, зуд после невралгии при опоясывающем лишае, плоский фолликулярный лишай и разрушающий волосы фолликулит. В частности, атопический дерматит (Bao et al., JAK-STAT, 2013, 2, e24137), гнездная алопеция (Xing et al., Nat Med. 2014, 20, 1043-1049), витилиго (Craiglow et al., JAMA Dermatol (Netchiporouk et al., Cell Cell, 2014, 13, 3331-3335), узелковая чесуха (Sonkoly et al., J Allergy Clin Immunol., 2006, 117, 411-417), красный плоский лишай (Welz-Kubiak et al., J Immunol Res. 2015, ID: 854747), первичный локализованный кожный амилоидоз (Tanaka et al., Br J Dermatol., 2009, 161, 1217-1224), буллезный пемфигоид (Feliciani et al., Int J Immunopathol Pharmacol, 1999, 12, 55-61) и кожные проявления болезни трансплантат-против-хозяина (Okiyama et al., J Invest Dermatol., 2014, 134, 992-1000) характеризуются повышением уровня некоторых цитокинов, которые передают сигналы через активацию JAK. Соответственно соединения по изобретению могут облегчать связанные с этими цитокинами кожные воспаления или зуд. В частности, ожидают, что соединения по изобретению будут полезны для лечения атопического дерматита и других воспалительных кожных заболеваний.

Поэтому в одном аспекте изобретение обеспечивает способ лечения воспалительного кожного заболевания у млекопитающего (например, человека), включающий нанесение фармацевтической композиции, включающей соединение по изобретению и фармацевтический носитель, на кожу млекопитающего. В одном аспекте воспалительное кожное заболевание представляет собой атопический дерматит.

Соединения по изобретению также можно использовать в комбинации с грамположительными антибиотиками, такими как мупироцин и фузидовая кислота, для лечения воспалительного кожного заболевания. В одном аспекте изобретение поэтому обеспечивает способ лечения воспалительного кожного заболевания у млекопитающего, включающий нанесение соединения по изобретению и грамположительного антибиотика на кожу млекопитающего. В другом аспекте изобретение обеспечивает фармацевтическую композицию, включающую соединение по изобретению, грамположительный антибиотик и фармацевтически приемлемый носитель.

Соединения по изобретению продемонстрировали, что они являются сильными ингибиторами JAK1, JAK2, JAK3 и TYK2 ферментов в анализах связывания фермента и обладают высокой функциональной активностью без цитотоксичности в клеточных анализах, как описано в следующих примерах.

Примеры

Следующие примеры синтеза и биологические примеры представлены для иллюстрации изобретения, и их не следует рассматривать как каким-либо образом ограничивающие объем изобретения. В примерах, представленных ниже, следующие аббревиатуры имеют следующие значения, если не указано иное. Аббревиатуры, не определенные ниже, имеют общепринятые значения.

ACN=ацетонитрил
 CPME=циклопентилметилловый эфир
 d=день (дни)
 VIPeA=N,N-диизопропилэтиламин
 DMF=N,N-диметилформамид
 DMSO=диметилсульфоксид
 EtOAc=этилацетат

EtOH= этиловый спирт

ч=час(часы)

НАТУ=N,N,N',N'-тетраметил-О-(7-азабензотриазол-1-ил)уроний гексафторфосфат

IPA=изопропиловый спирт

MeOH=метанол

min=минута (мин)

NMP=N-метилпирролидон

RT=комнатная температура

TEA=триэтиламин

THF=тетрагидрофуран

TFA=трифторуксусная кислота

Xantphos=4,5-бис(дифенилфосфино)-9,9-диметилксантен

Xrphos=дициклогексилфосфино-2',4',6'-триизопропилбифенил

XrphosPd G2=хлор(2-дициклогексилфосфино-2',4',6'-триизопропил-1,1'-бифенил)[2-(2'-амино-1,1'-бифенил)]палладий(II)

Реагенты и растворители приобретали у коммерческих поставщиков (Aldrich, Fluka, Sigma и т.д.) и использовали без дальнейшей очистки. Развитие реакции контролировали тонкослойной хроматографией (ТСХ), аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографией (анал. ВЭЖХ) и масс-спектрометрией. Реакционные смеси обрабатывали, как описано конкретно в каждой реакции; обычно их очищали экстракцией и другими способами очистки, такими как зависящая от температуры и растворителя кристаллизация и осаждение. Кроме того, реакционные смеси обычно очищали колоночной хроматографией или препаративной ВЭЖХ, как правило, с использованием колонок с насадками C18 или BDS и обычных элюентов. Типичные условия препаративной ВЭЖХ описаны ниже.

Характеризацию продуктов реакции обычно осуществляли при помощи масс-спектрометрии и ¹H ЯМР-спектрометрии. Для ЯМР анализа образцы растворяли в дейтерированном растворителе (таком как CD₃OD, CDCl₃ или d₆-DMSO) и ¹H-ЯМР спектры получали на устройстве Varian Gemini 2000 (400 МГц) в стандартных условиях наблюдения. Масс-спектрометрическую идентификацию соединений осуществляли методом электрораспылительной ионизации (ESMS) с использованием устройства API 150 EX API Applied Biosystems (Foster City, CA) или устройства 3100 Waters (Milford, MA), соединенных с системами автоматической очистки.

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

Колонка:	C18, 5 мкм 21,2×150 мм или C18, 5 мкм 21×250 мм или C14, 5 мкм 21×150 мм
Температура колонки:	Комнатная температура
Скорость потока:	20,0 мл/мин
Подвижные фазы:	A=Вода+0,05% TFA B=ACN+0,05% TFA,
Объем вводимой пробы:	(100–1500 мкл)
Длина волны детектора:	214 нм

Неочищенные соединения растворяли в 1:1 смеси вода:уксусная кислота при около 50 мг/мл. 4-мин испытание в аналитическом масштабе осуществляли с использованием 2,1×50 мм C18 колонки, с последующим 15- или 20-мин испытанием в препаративном масштабе с использованием объема вводимой пробы 100 мкл, с градиентом, основанным на % B удерживания в испытании в аналитическом масштабе. Точные градиенты зависели от образца. Образцы с близко выходящими примесями проверяли на 21×250 мм C18 колонке и/или 21×150 мм C14 колонке для лучшего разделения. Фракции, содержащие желаемый продукт, идентифицировали при помощи масс-спектрометрического анализа.

Условия аналитической ВЭЖХ

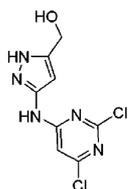
Способ А.

Колонка:	LUNA C18 (2), 150×4,60 мм, 3 мкм
Температура колонки:	37°C
Скорость потока:	1,0 мл/мин
Объем вводимой пробы:	5 мкл
Получение образца:	Растворяют в 1:1 смеси ACN:вода
Подвижные фазы:	A=Вода:ACN:TFA (98:2:0,05) B=Вода:ACN:TFA (2:98:0,05)
Длина волны детектора:	250 нм
Градиент:	32 мин всего (время (мин)/% B): 0/2, 10/20, 24/90, 29/90, 30/2, 32/2

Способ В.

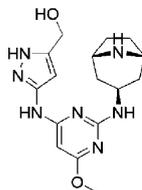
Колонка:	LUNA C18 (2), 150×4,60 мм, 3 мкм
Температура колонки:	37°C
Скорость потока:	1,0 мл/мин
Объем вводимой пробы:	10 мкл
Получение образца:	Растворяют в 1:1 смеси ACN:вода
Подвижные фазы:	A=Вода:ACN:TFA (98:2:0,05) B=Вода:ACN:TFA (10:90:0,05)
Длина волны детектора:	254 нм
Градиент:	35 мин всего (время (мин)/% B): 0/2, 20/25, 23/90, 26/90, 27/2, 35/2

Получение 1: (3-((2,6-Дихлорпиримидин-4-ил)амино)-1Н-пиразол-5-ил)метанол



К смеси 2,4,6-трихлорпиримидина (8,0 г, 4 3,7 ммоль) и (3-амино-1Н-пиразол-5-ил) метанола (7,4 г, 65,4 ммоль) в EtOH (80 мл) добавляли DIPEA (11,3 г, 87,2 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 20°C в течение 12 ч и фильтровали с получением указанного в заголовке промежуточного соединения (6,5 г, 57% выход) в виде белого твердого вещества. (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₈H₇Cl₂N₅O 260,00 найдено 260,0.

Получение 2: (3-((2-(((1R,3s,5S)-8-азабицикло[3,2,1]октан-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1Н-пиразол-5-ил)метанол



(а) трет-бутил (1R,3s,5S)-3-((4-хлор-6-((5-(гидроксиметил)-1Н-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат

Смесь (3-((2,6-дихлорпиримидин-4-ил)амино)-1Н-пиразол-5-ил)метанола (6,0 г, 23,1 ммоль), трет-бутил (1R,3s,5S)-3-амино-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (6,3 г, 27,7 ммоль) и DIPEA (6,0 г, 46,2 ммоль) в DMSO (60 мл) перемешивали при 100°C в течение 12 ч. Реакционную смесь объединяли с продуктом, полученным в опытном масштабе, и выливали в воду (800 мл). Осадок фильтровали и сушили в вакууме. Остаток перекристаллизовывали из EtOAc (500 мл) и петролейного эфира (500 мл) с получением указанного в заголовке промежуточного соединения (5,6 г, 50% выход) в виде серого твердого вещества. Структура подтверждена при помощи ЯМР.

(b) трет-бутил (1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1Н-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат

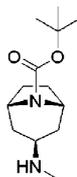
К раствору метоксида натрия (2,4 г, 44,5 ммоль) в MeOH (30 мл) добавляли продукт с предыдущей

стадии (2,0 г, 4,45 ммоль) при 20°C. Реакционную смесь перемешивали в герметично закрытой пробирке при 100°C в течение 8 ч. Реакционную смесь объединяли с продуктом, полученным в опытном масштабе, выливали в воду (30 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc (3×50 мл). Органический слой промывали насыщенным соевым раствором (2×30 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали в вакууме. Остаток очищали препаративной ВЭЖХ (Daiso 250×50 мм 10 мкм, 80 мл/мин, 30-55% ACN+0,1% TFA/ACN) с получением указанного в заголовке промежуточного соединения (0,7 г, 32% выход) в виде белого твердого вещества, (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₁H₃₁N₇O₄ 446,24; найдено 446,2.

(с) (3-((2-(((1R,3s,5S)-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пирозол-5-ил)метанол

Раствор продукта с предыдущей стадии (0,7 г, 1,57 ммоль) в 4 М HCl в EtOAc (20 мл) перемешивали при 20°C в течение 2 ч и концентрировали в вакууме с получением HCl соли указанного в заголовке соединения (0,6 г, 99% выход) в виде белого твердого вещества. (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₁₆H₂₃N₇O₂ 346,19; найдено 346,2.

Получение 3: трет-Бутил (1R,3s,5S)-3-(метиламино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат



(а) трет-Бутил (1R,3s,5S)-3-(((бензилокси)карбонил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат

Раствор трет-бутил (1R,3s,5S)-3-амино-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (5,21 г, 23,00 ммоль), DMF (115 мл) и триэтиламина (6,41 мл, 46,0 ммоль) перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Добавляли по каплям бензилхлорформиат (3,56 мл, 25,3 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч, гасили водой и экстрагировали при помощи EtOAc (4×20 мл). Объединенные органические фракции промывали насыщенным соевым раствором (2×20 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением желтого масла, которое очищали колоночной хроматографией (колонка 120 г; 0-70% EtOAc в гексане), с получением указанного в заголовке промежуточного соединения в виде густого прозрачного масла (3,79 г, 36% выход; чистота 79%).

(m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₀H₂₈N₂O₄ 361,20; найдено 361,2.

(b) трет-Бутил (1R,3s,5S)-3-(((бензилокси)карбонил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат

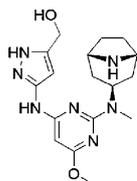
Раствор продукта с предыдущей стадии (2,99 г, 8,29 ммоль) в DMF (41,5 мл) охлаждали до 0°C и добавляли гидрид натрия (60% дисперсия в минеральном масле, 0,398 г, 16,58 ммоль) одной порцией. Полученную суспензию перемешивали при 0°C в течение 15 мин и затем добавляли по каплям иодметан (1,03 мл, 16,58 ммоль) и полученную мутную бледно-желтую смесь перемешивали при 0°C в течение 15 мин, нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь гасили водой и экстрагировали при помощи EtOAc (4×20 мл). Объединенные органические фракции промывали насыщенным соевым раствором (2×20 мл), сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали с получением прозрачного бледно-желтого масла, которое очищали колоночной хроматографией (колонка 80 г; 0-70% EtOAc в гексане), с получением указанного в заголовке промежуточного соединения в виде прозрачного бесцветного густого масла (2,07 г, 65% выход; чистота 97%). (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₁H₃₀N₂O₄ 375,22 найдено 375,5.

(с) трет-Бутил (1R,3s,5S)-3-(метиламино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат

В 100-мл колбу добавляли палладий, 10 мас.%, на углеводе (0,577 г, 0,542 ммоль). Смесь помещали в атмосферу азота и затем медленно добавляли раствор продукта с предыдущей стадии (1,015 г, 2,71 ммоль) в MeOH (54,2 мл) через пипетку. Подсоединяли баллон с газообразным водородом. Колбу вакуумировали и снова заполняли водородом три раза перед открытием и помещением в атмосферу H₂. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч, фильтровали через слой Целита® и концентрировали с получением прозрачного масла, которое очищали колоночной хроматографией (колонка 40 г; 0-100% MeOH в DCM), с получением продукта в виде прозрачного масла. Колонку промывали смесью 10:1 MeOH:TEA. Фильтрат концентрировали с получением густого прозрачного масла с белым твердым веществом, которое растворяли в EtOAc, фильтровали, объединяли с прозрачным маслянистым продуктом и концентрировали с получением указанного в заголовке промежуточного соединения (0,559 г, 86% выход)

(m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₁₃H₂₄N₂O₂ 241,18; найдено 241,3.

Получение 4: (3-((2-(((1R,3s,5S)-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пирозол-5-ил)метанол



(a) трет-Бутил (1R,3s,5S)-3-((4-хлор-6-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)(метил)амино)-8-азабикакло[3.2.1]октан-8-карбоксилат

Раствор (3-((2,6-дихлорпиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанола (200 мг, 0,77 ммоль), трет-бутил (1R,3s,5S)-3-(метиламино)-8-азабикакло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (194 мг, 0,81 ммоль) и ТЕА (0,29 мл, 1,92 ммоль) перемешивали в DMSO (5 мл) в течение ночи при 60°C. Реакционную смесь концентрировали в вакууме. Неочищенный остаток очищали обращенно-фазовой хроматографией с получением указанного в заголовке промежуточного соединения (143 мг, 0,31 ммоль, 40% выход), которое использовали непосредственно на следующей стадии.

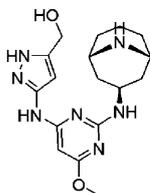
(b) (3-((2-(((1H,3s,5S)-8-азабикакло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-6-хлорпиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол

К продукту с предыдущей стадии (143 мг, 0,31 ммоль), растворенному в ACN (3,0 мл), добавляли 4 N HCl в диоксане (1,156 мл 4,62 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Реакционную смесь концентрировали в вакууме с получением HCl соли указанного в заголовке промежуточного соединения, которую использовали без очистки на следующей стадии.

(c) (3-((2-(((1R,3s,5S)-8-азабикакло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол

К перемешиваемому раствору продукта с предыдущей стадии (112 мг, 0,280 ммоль) в MeOH (5 мл) добавляли 50% раствор метоксида натрия в MeOH (0,960 мл, 8,39 ммоль). Реакционную смесь нагревали в герметично закрытом сосуде при 80°C в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и неочищенный остаток очищали обращенно-фазовой хроматографией с получением указанного в заголовке продукта (27 мг, 0,057 ммоль, 20% выход).

Получение 5: (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-азабикакло[3.3.1]нонан-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол



(a) трет-Бутил (1R,3s,5S)-3-((4-хлор-6-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)амино)-9-азабикакло[3.3.1]нонан-9-карбоксилат

К смеси (3-((2,6-дихлорпиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанола (3,7 г, 14,2 ммоль) и трет-бутил (1R,3s,5S)-3-амино-9-азабикакло[3.3.1]нонан-9-карбоксилата (4,1 г, 17,0 ммоль) в DMSO (37 мл) добавляли DIPEA (3,7 г, 28,4 ммоль) в атмосфере азота. Реакционную смесь перемешивали при 120°C в течение 12 ч, выливали в воду (80 мл), экстрагировали при помощи EtOAc (3×100 мл), сушили и концентрировали с получением неочищенного продукта, который промывали при помощи EtOAc (20 мл), с получением указанного в заголовке промежуточного соединения (3,8 г, 56% выход) в виде белого твердого вещества.

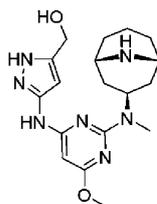
(b) трет-Бутил (1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)амино)-9-азабикакло[3.3.1]нонан-9-карбоксилат

Осуществляли параллельно четыре реакции. Смесь продукта с предыдущей стадии (0,95 г, 2,0 ммоль) в растворе метоксида натрия в MeOH (10 мл) перемешивали при 120°C в течение 3 ч в герметично закрытой пробирке. Реакционную смесь добавляли в воду (50 мл) и экстрагировали при помощи EtOAc (3×50 мл). Органические слои промывали насыщенным солевым раствором (30 мл), сушили над Na₂SO₄ и концентрировали в вакууме. Остаток очищали препаративной ВЭЖХ (Luna C18 250×50 мм 10 мкм, ACN+0,1% TFA/ACN) с получением указанного в заголовке промежуточного соединения (1,2 г объединенного продукта, 28% выход) в виде коричневого твердого вещества. (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₂H₃₃N₇O₄ 460,26; найдено 460,3.

(c) (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-азабикакло[3.3.1]нонан-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол

К продукту с предыдущей стадии (1,2 г, 2,5 ммоль) добавляли 4 M HCl в EtOAc (50 мл). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 2 ч. Остаток объединяли с продуктом получения в масштабе 1,5 ммоль и концентрировали с получением указанного в заголовке промежуточного соединения (2,0 г, 100% выход) в виде светло-желтого твердого вещества. (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₁₇H₂₅N₇O₂ 360,43; найдено 360,4.

Получение 6: (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол



(a) трет-Бутил (1R,3s,5S)-3-((4-хлор-6-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-карбоксилат

К смеси (3-((2,6-дихлорпиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанола (6,5 г, 24,9 ммоль), трет-бутил (1R,3s,5S)-3-(метиламино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-карбоксилата (6,9 г, 27,4 ммоль) в DMSO (80 мл) добавляли DIPEA (6,4 г, 49,8 ммоль) в атмосфере азота. Реакционную смесь перемешивали при 120°C в течение 8 ч, выливали в воду (80 мл), экстрагировали при помощи EtOAc (500 мл), сушили и концентрировали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт объединяли с продуктом отдельного получения в таком же масштабе и очищали препаративной ВЭЖХ (Daiso 150×25 мм 5 мкм, 80 мл/мин, 35-60% ACN+0,1% TFA/ACN) с получением указанного в заголовке промежуточного соединения (16,0 г, 64% выход) в виде светло-желтого твердого вещества. (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₂H₃₂ClN₇O₃ 478,23; найдено 478,2.

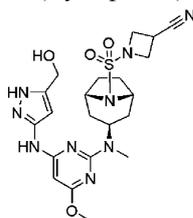
(b) трет-Бутил (1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-карбоксилат

К смеси продукта с предыдущей стадии (2,0 г, 4,19 ммоль) в MeOH (20 мл) добавляли метоксид натрия (2,2 г, 41,9 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 120°C в течение 6 ч в герметично закрытой пробирке в течение 12 ч, выливали в воду (100 мл), разбавляли при помощи EtOAc (800 мл), промывали насыщенным соевым раствором (50 мл), сушили и концентрировали с получением неочищенного продукта. Неочищенный продукт объединяли с продуктом отдельного получения в масштабе 2 ммоль и очищали препаративной ВЭЖХ (Synergi Max-RP, 250×50 мм 10 мкм, 80 мл/мин, 25-50% ACN+0,1% TFA/ACN) с получением указанного в заголовке промежуточного соединения (2,1 г, 71% выход) в виде белого твердого вещества.

(c) (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол

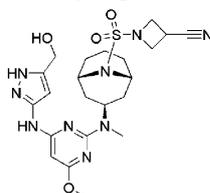
К смеси продукта с предыдущей стадии (2,1 г, 4,43 ммоль) в EtOAc (20 мл) добавляли 4 M HCl в EtOAc (20 мл) и реакционную смесь перемешивали при 20°C в течение 3 ч и концентрировали с получением HCl соли продукта (2,0 г, 100% выход) в виде белого твердого вещества, (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₁₈H₂₇N₇O₂ 374,22; найдено 374,1.

Пример 1. 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(Гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил



К раствору (3-((2-(((1R,3s,5S)-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанола (15 мг, 0,042 ммоль) в DMF (4,0 мл) добавляли DIPEA (0,022 мл, 0,125 ммоль) с последующим добавлением 3-циано-1-азетидинсульфонилхлорида (7,54 мг, 0,042 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Растворитель удаляли в вакууме и неочищенный остаток очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ с получением TFA соли указанного в заголовке соединения (3,2 мг). (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₁H₂₉N₉O₄S 504,21; найдено 504,1.

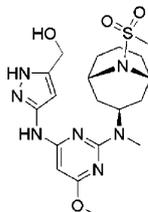
Пример 2. 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(Гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил



К раствору (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-

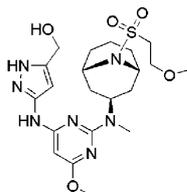
4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанола HCl (150 мг, 0,402 ммоль) и DIPEA (0,351 мл, 2,008 ммоль) в DMF (3 мл) при 0°C добавляли 3-циано-1-азетидинсульфонилхлорид (72,5 мг, 0,402 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 10 мин и затем при комнатной температуре в течение 15 ч. Реакционную смесь концентрировали в вакууме с получением красной жидкости, которую очищали препаративной ВЭЖХ, с получением TFA соли указанного в заголовке соединения (72,4 мг, 0,115 ммоль, 28,5% выход) в виде белого твердого вещества, (m/z) : [M+H]⁺ рассчитано для C₂₂H₃₁N₉O₄S 518,22; найдено 518.

Пример 3. (3-((6-Метокси-2-(метил((1R,3s,5S)-9-(метилсульфонил)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол



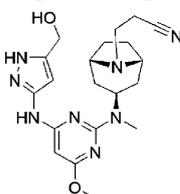
Раствор (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанола HCl (250 мг, 0,669 ммоль) в DMF (7,0 мл) охлаждали до 0°C и добавляли одной порцией DIPEA (0,35 мл, 2,008 ммоль) с последующим добавлением по каплям метансульфонилхлорида (0,053 мл, 77 мг, 0,676 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, растворяли в 1:1 смеси уксусная кислота:вода (6 мл), фильтровали и очищали препаративной ВЭЖХ с получением TFA соли указанного в заголовке соединения (94 мг, 31% выход) в виде белого порошка. (m/z) : [M+H]⁺ рассчитано для C₁₉H₂₉N₇O₄S 452,15; найдено 452,2.

Пример 4. (3-((6-Метокси-2-(((1R,3s,5S)-9-((2-метоксиэтил)сульфонил)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол



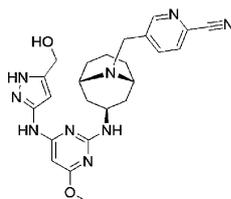
Раствор (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанола HCl (250 мг, 0,703 ммоль) в DMF (7,0 мл) охлаждали до 0°C и добавляли одной порцией DIPEA (0,35 мл, 2,008 ммоль) с последующим добавлением по каплям 2-метоксиэтансульфонилхлорида (111 мг, 0,676 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи, растворяли в 1:1 смеси уксусная кислота:вода (6 мл), фильтровали и очищали препаративной ВЭЖХ с получением TFA соли указанного в заголовке соединения (41 мг, 12% выход) в виде белого твердого вещества, (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₁H₃₃N₇O₅S 496,23; найдено 496,2.

Пример 5. 3-((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(Гидрокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-ил)пропаннитрил



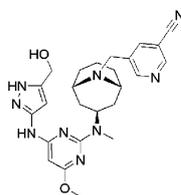
К раствору (3-((2-(((1R,3s,5S)-8-азабицикло[3.2.1]октан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанола (15 мг, 0,042 ммоль) в MeOH (4,0 мл) добавляли DIPEA (0,022 мл, 0,125 ммоль) с последующим добавлением акрилонитрила (2,70 мкл, 0,042 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, концентрировали в вакууме и очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ с получением TFA соли указанного в заголовке соединения (4,3 мг). (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₀H₂₈N₈O₂ 413,23; найдено 413,2.

Пример 6. 5-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(Гидрокси)метил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)метил)пиколинонитрил



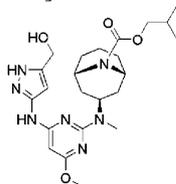
Диизопропиламин (0,032 мл, 0,225 ммоль) (0,256 мл) добавляли к 0,15 М раствору (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанола (29,8 мг, 0,075 ммоль) в DMF и раствор перемешивали с завихрением для растворения всех веществ. К этому раствору добавляли 0,23 М раствор 4-(хлорметил)пиколинонитрила (0,5 мл, 34 мг, 0,113 ммоль) в DMF и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли полистиролтиофенольную смолу (0,115 г, 0,150 ммоль), реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч и фильтровали. Реакционный сосуд промывали при помощи DMF (0,5 мл) и промывки объединяли, концентрировали на роторном испарителе, растворяли в 1:1 смеси уксусная кислота:вода, фильтровали и очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ с получением TFA соли указанного в заголовке соединения (6,4 мг). (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₄H₂₉N₉O₂ 476,24; найдено 476,1.

Пример 7. 5-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(Гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)метил)никотинитрил



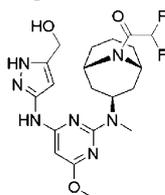
Раствор (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанола HCl (20 мг, 0,054 ммоль), 5-(бромметил)никотинитрила (10,55 мг, 0,054 ммоль) и карбоната калия (22,20 мг, 0,161 ммоль) перемешивали в DMF (6,0 мл) при 60°C в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ с получением TFA соли указанного в заголовке промежуточного соединения (3,7 мг). (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₅H₃₁N₉O₂ 490,26; найдено 490,2.

Пример 8. Изобутил ((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)карбоксилат



К раствору (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанола HCl (25 мг, 0,061 ммоль) и DIPEA (42,6 мкл, 0,244 ммоль) в DMF (305 мкл) при 0°C добавляли изобутилхлорформиат (10 мг, 0,073 ммоль) в DMF (305 мкл) по каплям. Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 5 мин и затем давали нагреться до комнатной температуры. Через 24 ч реакционную смесь концентрировали, растворяли в 1:1 смеси ACN:вода и очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ с получением TFA соли указанного в заголовке соединения (6,4 мг). (m/z): [M+H]⁺ рассчитано для C₂₃H₃₅N₇O₄ 474,28; найдено 474,2.

Пример 9. 2,2-Дифтор-1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)этан-1-он

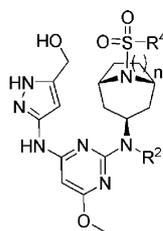


NATU (0,029 г, 0,077 ммоль) добавляли к раствору 2,2-дифторуксусной кислоты (6,72 мг, 0,070 ммоль) в DMF (3 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 мин с получением 0,14 М раствора активированной кислоты. 0,14 М раствор активированной кислоты (0,5 мл, 0,070 ммоль) добавляли к раствору (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанола HCl (29 мг, 0,070 ммоль) и DIPEA (0,049 мл, 0,280 ммоль) в DMF и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин,

концентрировали в вакууме и полученный остаток растворяли в 1:1 смеси уксусная кислота:вода и очищали обращенно-фазовой ВЭЖХ с получением TFA соли указанного в заголовке соединения (3,9 мг). (m/z): $[M+H]^+$ рассчитано для $C_{20}H_{27}N_7O_3$ 452,21; найдено 452,1.

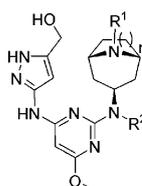
С использованием аналогичных способов синтеза получали соединения табл. 1-3.

Таблица 1



Пр. №	n	R ²	R ⁴	Формула	Рассчит. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
1-1	1	H	азетидин-1-ил	$C_{19}H_{28}N_8O_4S$	465,20	465
1-2	1	H		$C_{20}H_{27}N_9O_4S$	490,19	490
1-3	1	H	пиридин-3-ил	$C_{21}H_{26}N_8O_4S$	487,18	487,2
1-4	1	H	фенил	$C_{22}H_{27}N_7O_4S$	486,18	486,3
1-5	2	H	азетидин-1-ил	$C_{20}H_{30}N_8O_4S$	479,21	479,1
1-6	2	H		$C_{21}H_{29}N_9O_4S$	504,21	504,1
1-7	2	H	5-фторпиридин-3-ил	$C_{22}H_{27}FN_8O_4S$	519,19	519,1
1-8	2	H	фенил	$C_{23}H_{29}N_7O_4S$	500,20	500,1
1-9	2	H	-C ₂ H ₅	$C_{19}H_{29}N_7O_4S$	452,20	452,1
1-10	2	H	-CH ₂ -циклопропил	$C_{21}H_{31}N_7O_4S$	478,22	478,1
1-11	2	H	пиридин-3-ил	$C_{22}H_{28}N_8O_4S$	501,20	501,1
1-12	2	-CH ₃	-(CH ₂) ₂ CN	$C_{21}H_{30}N_8O_4S$	491,21	491
1-13	2	-CH ₃	пирролидин-1-ил	$C_{22}H_{34}N_8O_4S$	507,24	507,2
1-14	2	-CH ₃	циклопропил	$C_{21}H_{31}N_7O_4S$	478,22	478,1
1-15	2	-CH ₃	пиридин-3-ил	$C_{23}H_{30}N_8O_4S$	515,21	515,1
1-16	2	-CH ₃	фенил	$C_{24}H_{31}N_7O_4S$	514,22	514,1
1-17	2	-CH ₃	азетидин-1-ил	$C_{21}H_{32}N_8O_4S$	493,23	493,2
1-18	2	-CH ₃	-CH ₂ -циклопропил	$C_{22}H_{33}N_7O_4S$	492,23	492,2
1-19	2	-CH ₃	5-фторпиридин-3-ил	$C_{23}H_{29}FN_8O_4S$	533,20	533,1

Таблица 2



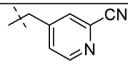
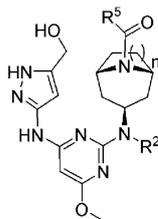
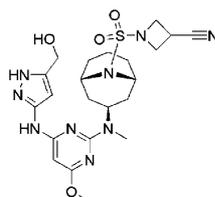
Пр. №	n	R ²	R ¹	Формула	Рассчит. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
2-1	1	H	-CH ₂ -пиридин-4-ил	C ₂₂ H ₂₈ N ₈ O ₂	437, 23	437
2-2	2	H	-CH ₂ -пиридин-4-ил	C ₂₃ H ₃₀ N ₈ O ₂	451, 25	451, 2
2-3	2	H		C ₂₄ H ₂₉ N ₉ O ₂	476, 24	476, 2
2-4	2	H	-CH ₂ -пиридин-3-ил	C ₂₃ H ₃₀ N ₈ O ₂	451, 25	451, 2
2-5	2	-CH ₃	-(CH ₂) ₂ CN	C ₂₃ H ₃₀ N ₈ O ₂	427, 25	427
2-6	2	-CH ₃		C ₂₃ H ₃₂ N ₈ O ₂	453, 27	453
2-7	2	-CH ₃	-CH ₂ -пиридин-4-ил	C ₂₄ H ₃₂ N ₈ O ₂	465, 27	465, 1
2-8	2	-CH ₃		C ₂₅ H ₃₁ N ₉ O ₂	490, 26	490, 2

Таблица 3

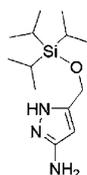


Пр. №	n	R ²	R ⁵	Формула	Рассчит. [M+H] ⁺	Найдено [M+H] ⁺
3-1	2	H	-CHF ₂	C ₁₉ H ₂₅ F ₂ N ₇ O ₃	438, 20	438, 1
3-2	2	-CH ₃	-O-изобутил	C ₂₃ H ₃₅ N ₇ O ₄	474, 28	474, 2
3-3	2	-CH ₃	-OCH ₃	C ₂₀ H ₂₉ N ₇ O ₄	432, 23	432, 2
3-4	2	-CH ₃	морфолин-1-ил	C ₂₃ H ₃₄ N ₈ O ₄	487, 27	487, 2
3-5	2	-CH ₃	-CH ₂ -циклопропил	C ₂₃ H ₃₃ N ₇ O ₃	456, 26	456, 2
3-6	2	-CH ₃	-CH ₃	C ₂₀ H ₂₉ N ₇ O ₃	416, 23	416, 1
3-7	2	-CH ₃	циклопентил	C ₂₄ H ₃₅ N ₇ O ₃	470, 28	470, 2
3-8	2	-CH ₃	циклобутил	C ₂₃ H ₃₃ N ₇ O ₃	456, 26	456, 2

Пример 10. 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(Гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил



(а) 5-(((триизопропилсилил)окси)метил)-1H-пиразол-3-амин (3')



3'

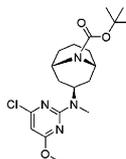
В 100-мл колбу добавляли (3-амино-1H-пиразол-5-ил)метанол (5,8 г, 51,3 ммоль), 1-метил-2-пирролидинон (58,0 мл) и имидазол (4,54 г, 66,7 ммоль) с последующим добавлением триизопропилсилхлорида (11,95 мл, 56,4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 22°C в течение ночи и затем добавляли EtOAc (145 мл) и воду (145 мл). Слои разделяли и органический слой промывали водой (145 мл) и насыщенным соевым раствором (15%, 100 мл), сушили над Na₂SO₄ и упаривали при пониженном давлении с получением указанного в заголовке промежуточного соединения (13,33 г, 49,5 ммоль, 96% выход)

ВЭЖХ

Способ А

Время удерживания 19,00 мин.

(b) трет-бутил (1R,3s,5S)-3-((4-хлор-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-карбоксилат (9')



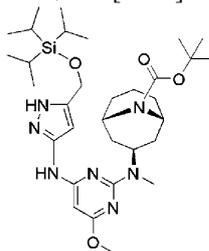
9'

К смеси 2,4-дихлор-6-метоксипиримидина (20 г, 112 ммоль) и (1R,3s,5S)-трет-бутил 3-(метиламино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-карбоксилата (36,9 г, 145 ммоль) в THF (300 мл) добавляли DIPEA (39,0 мл, 223 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 20-25°C в течение ночи. Добавляли дополнительное количество (1R,3s,5S)-трет-бутил 3-(метиламино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-карбоксилата (4,26 г, 16,76 ммоль) и реакционную смесь нагревали до 55°C, перемешивали в течение 2,5 ч, охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение 2 дней. Добавляли гептан (400 мл) в течение 30 мин и реакционную смесь фильтровали. Жидкую фазу подвергали азеотропной перегонке с IPA (300 мл, затем 200 мл) до около 200-300 мл, перемешивали при 5°C в течение ночи и фильтровали с получением указанного в заголовке промежуточного соединения (29,2 г, 71,4 ммоль, 63,9% выход).

ВЭЖХ

Способ А: Время удерживания 28,27 мин.

(c) трет-бутил (1R,3s,5S)-3-((4-метокси-6-((5-(((триизопропилсилил)окси)метил)-1H-пиразол-3-ил)амино)пиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-карбоксилат (7')



7'

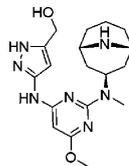
В 250-мл колбу добавляли продукт с предыдущей стадии (9') (8 г, 20,16 ммоль), продукт стадии (a) (3') (6,79 г, 25,2 ммоль), Cs₂CO₃ (13,13 г, 40,3 ммоль), Xphos Pd G2 (0,793 г, 1,008 ммоль) и XPhos (0,480 г, 1,008 ммоль), реакционную смесь дегазировали три раза и добавляли 1,4-диоксан (80 мл) и воду (8,00 мл) с получением суспензии. Реакционную смесь дегазировали три раза в вакууме и азоте и нагревали до 100°C, кипятили с обратным холодильником в течение ночи и охлаждали до 35°C. Добавляли SiliaMetS® тиол-функционализированный силикагель (4 г) и реакционную смесь нагревали до 65°C, перемешивали в течение 2 ч, охлаждали до 50°C и фильтровали через Целит® (5 г). Добавляли воду (200 мл) и изопропилацетат (200 мл), слои разделяли и органический слой промывали 20% раствором NaHSO₃. Слои разделяли и органический слой промывали насыщенным соевым раствором. Слои снова разделяли и водный слой экстрагировали при помощи EtOAc (300 мл). Объединенные органические слои сушили над Na₂SO₄ и упаривали с получением неочищенного продукта (около 20 г). Добавляли метанол (50 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре, фильтровали и промывали метанолом (10 мл) для удаления твердого вещества с получением указанного в заголовке соединения в виде мета-

нольного раствора, который использовали непосредственно на следующей стадии.

ВЭЖХ

Способ А: Время удерживания 16,05 мин.

(d) (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол (1)



1

В 250-мл колбу добавляли неочищенный продукт с предыдущей стадии (7') в метаноле (50 мл) (12,68 г, 20,136 ммоль) и 3 М HCl в CPME (67,1 мл, 201 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и фильтровали с получением неочищенной 3 HCl соли указанного в заголовке соединения (4,8 г, 9,94 ммоль, 49,4% выход).

В колбу добавляли полученную неочищенную 3 HCl соль (2 г, 4,14 ммоль), с последующим добавлением воды (30 мл) и SiliaMetS тиол-функционализированного силикагеля 40% мас./мас. (0,8 г, 4,14 ммоль) и реакционную смесь нагревали до 65°C, перемешивали в течение 16 ч, фильтровали через Целит и промывали водой (1,5 мл). Добавляли ацетон (120 мл) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, фильтровали, промывали ацетоном (10 мл) и сушили в вакууме при 50°C с получением очищенной 3 HCl соли указанного в заголовке соединения (1,05 г, 2,175 ммоль, 52,5% выход).

ВЭЖХ

Способ А: Время удерживания 10,09 мин.

(e) 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(Гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил

В сосуд добавляли продукт с предыдущей стадии (1) (0,83 г, 1,719 ммоль) и NMP (8,3 мл), с последующим добавлением ТЕА (1,44 мл, 10,31 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 5-10 мин. Добавляли 3-цианоазетидин-1-сульфонилхлорид (0,466 г, 2,58 ммоль) при 22°C. Через 2 ч добавляли воду (25 мл) в течение 30 мин и реакционную смесь перемешивали в течение 22 ч. Реакционную смесь фильтровали и промывали водой (2 мл) с получением указанного в заголовке продукта (0,9 г, 1,704 ммоль, 99% выход) в виде белого твердого вещества.

ВЭЖХ

Способ А: Время удерживания 16,18 мин.

Пример 11. Кристаллический 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил (Форма I)

В 100-мл колбу добавляли 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((3-(гидроксиметил)-1H-пиразол-5-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил (1 г, 1,932 ммоль) и DMF (3,00 мл) с последующим добавлением ацетона (4 мл). Затем добавляли воду (6 мл) в течение 5 мин и реакционную смесь перемешивали в течение ночи и фильтровали и твердое вещество промывали водой и ацетоном и сушили в течение 30 мин с получением указанного в заголовке соединения (0,94 г, 1,816 ммоль, 94% выход).

ВЭЖХ

Способ А: Время удерживания 16,30 мин.

Пример 12. Кристаллический 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил (Форма I)

В 20-л колбу добавляли (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол (1) (1,20 кг, 2,69 моль), NMP (4,8 кг) и ТЕА (1,36 кг, 13,45 моль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Затем добавляли NMP (2,4 кг) и реакционную смесь перемешивали и охлаждали до 5-10°C в течение примерно 1 ч. 3-Цианоазетидин-1-сульфонилхлорид (0,58 кг, 3,23 моль) добавляли тремя партиями, добавляемыми через каждые 0,5 ч, и реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч и нагревали до комнатной температуры. Добавляли метанол (4,2 кг), реакционную смесь перемешивали в течение 0,5 ч. Добавляли воду (21,6 кг) в течение 3 ч и реакционную смесь перемешивали в течение 0,5 ч и фильтровали. Твердое вещество промывали метанолом (1,0 кг) с получением неочищенного указанного в заголовке соединения (1,33 кг), 1,20 кг которого растворяли в NMP (3,6 кг). Добавляли ацетон (3,8 кг), раствор фильтровали и фильтрат нагревали до 45-55°C при перемешивании. Добавляли воду (6,6 кг) в течение 6 ч и смесь перемешивали, охлаждали до 25-30°C и фильтровали. Твердое вещество промывали 4:5,5 смесью

ацетон:вода (1,5 л) и сушили с получением указанного в заголовке соединения (1,21 кг, чистота 99%, выход 85%)

ВЭЖХ

Способ В: Время удерживания 15,23 мин.

Продукт измельчали с использованием воздушной мельницы с получением следующего распределения размеров частиц: $X_{10}=0,70$ мкм, $X_{50}=2,17$ мкм и $X_{90}=6,15$ мкм, где X_n определен как процент частиц меньше чем $n\%$.

Пример 13. Кристаллический 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил (Форма II)

В колбу добавляли 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил (16 г, 30,9 ммоль) и DMF (160 мл) и реакционную смесь фильтровали. К раствору добавляли воду (480 мл) в течение 30 мин и реакционную смесь нагревали до 65°C, перемешивали в течение ночи, охлаждали до комнатной температуры, перемешивали в течение 20 ч и фильтровали. Твердое вещество сушили в течение ночи с получением указанного в заголовке промежуточного соединения (11,8 г, 22,80 ммоль, 73,8% выход).

ВЭЖХ

Способ А: Время удерживания 16,19 мин.

Примеры 14-16. Свойства твердых форм по изобретению

Образцы Формы I и Формы II кристаллического свободного основания 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрила примеров 12 и 13 соответственно анализировали при помощи порошковой рентгеновской дифракции (PXRD), дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC), термогравиметрического анализа (TGA) и динамической сорбции влаги (DMS).

Пример 14. Порошковая рентгеновская дифракция

Порошковые рентгеновские дифрактограммы фиг. 1 и 5 получали при помощи рентгеновского дифрактометра Bruker D8-Advance с использованием Cu-K α излучения ($\lambda=1,54051$ Å) с напряжением на выходе 45 кВ и током 40 мА. Устройство работало в геометрии Брэгга-Брентано с входной щелью, щелями расходимости и рассеивания, установленными для максимизации интенсивности на образце. Для измерения небольшое количество порошка (5-25 мг) осторожно уплотняли на держателе для образцов с образованием ровной поверхности и подвергали рентгеновскому облучению. Образцы сканировали в режиме 2 θ -2 θ от 2 до 35° в 2 θ с размером шага 0,02° и скоростью сканирования 0,30° секунд на шаг. Сбор данных контролировали при помощи программы измерений Bruker DiffraSuite и анализировали при помощи программы Jade (версия 7.5.1). Устройство калибровали с использованием корундового стандарта, в пределах $\pm 0,02^\circ$ угла два-тета. Наблюдаемые PXRD 2 θ положения пиков и d-расстояния показаны в табл. 4 и 5 соответственно, для кристаллической Формы I и кристаллической Формы II. Положения два-тета пиков микронизированного вещества Формы I, перечисленные в табл. 4, сравнивали с положениями пиков немикронизированного образца, полученного таким же способом синтеза. Максимальная разница, наблюдаемая в положениях пиков два-тета составила 0,04°.

Таблица 4. PXRD данные для кристаллической Формы I

2-Тета	d (Å)	Площадь	A%
8,89	9,94	460823	100
10,64	8,31	75783	16,4
10,99	8,05	116893	25,4
12,99	6,81	153914	33,4
13,44	6,59	156394	33,9
14,54	6,09	66952	14,5
14,76	6,00	85164	18,5
15,02	5,89	133090	28,9
15,74	5,63	59537	12,9
16,25	5,45	75492	16,4
16,47	5,38	85726	18,6
20,16	4,40	443759	96,3
20,39	4,35	207159	45,0
20,93	4,24	66277	14,4
21,81	4,07	52296	11,3

22,22	4,00	79031	17,1
23,36	3,81	62926	13,7
23,56	3,77	92923	20,2
24,99	3,56	70165	15,2
25,27	3,52	124788	27,1
26,25	3,39	98075	21,3
26,84	3,32	77303	16,8

Таблица 5. PXRD данные для кристаллической Формы II

2-Тета	d (Å)	Площадь	A%
8,87	9,96	342177	100
10,64	8,31	61376	17,9
11,01	8,03	86511	25,3
12,88	6,87	105843	30,9
13,47	6,57	107366	31,4
14,51	6,10	45973	13,4
14,72	6,01	45739	13,4
15,04	5,88	77441	22,6
15,58	5,69	32094	9,4
16,51	5,36	48996	14,3
16,88	5,25	18790	5,5
19,02	4,66	23117	6,8
20,00	4,44	190640	55,7
20,42	4,35	63067	18,4
20,73	4,28	56902	16,6
21,67	4,10	26834	7,8
22,30	3,98	47801	14
22,93	3,87	20999	6,1
23,32	3,81	40192	11,7
25,28	3,52	57929	16,9
25,99	3,43	28870	8,4

Пример 15. Термальный анализ

Дифференциальную сканирующую калориметрию (DSC) осуществляли с использованием модуля TA Instruments Модель Q-100 с контроллером Thermal Analyst. Данные собирали и анализировали с использованием программы Thermal Analysis TA Instruments. Образец каждой кристаллической формы точно взвешивали в закрытой алюминиевой чаше. После 5-минутного периода изотермического уравновешивания при 5°C образец нагревали с использованием линейного повышения температуры 10°C/мин от 0 до 300°C. Репрезентативная DSC термограмма Формы I и Формы II кристаллического свободного основания по изобретению показана на фиг. 2 и 6 соответственно.

Термогравиметрический анализ (TGA) осуществляли с использованием модуля TA Instruments Модель Q-50 с высокой разрешающей способностью. Данные собирали с использованием контроллера Thermal Analyst TA Instruments и анализировали с использованием программы Universal Analysis TA Instruments. Взвешенный образец помещали на платиновую чашу и сканировали со скоростью нагрева 10°C от температуры окружающей среды до 300°C. Весы и камеры печи продували потоком азота при использовании. Репрезентативная TGA термограмма Формы I и Формы II кристаллического свободного основания по изобретению показана на фиг. 3 и 7.

Пример 16. Оценка методом динамической сорбции влаги

Анализ динамической сорбции влаги (DMS) осуществляли с использованием атмосферных микровесов VTI, системы SGA-100 (VTI Corp., Hialeah, FL 33016). Использовали взвешенный образец и по возможности наиболее низкое значение влажности (близкое к 0% RH) в начале анализа. DMS анализ состоял из начальной стадии сушки (0% RH) в течение 120 мин, с последующими двумя циклами сорбции и десорбции, при скорости сканирования 5% RH/стадия в диапазоне влажности от 5% RH до 90% RH. DMS анализ осуществляли в изотермическом режиме при 25°C. Репрезентативная DMS кривая для Формы I и Формы II кристаллического свободного основания по изобретению показана на фиг. 4 и 8 соответственно.

Биологические анализы

Соединения по изобретению были охарактеризованы в одном или нескольких из следующих биоло-

гических анализов.

Анализ 1. Биохимические анализы JAK и нецелевых киназ

Панель из четырех LanthaScreen JAK биохимических анализов (JAK1, 2, 3 и Tyk2) осуществляли в обычном буфере для киназной реакции (50 мМ HEPES, pH 7,5, 0,01% Brij-35, 10 мМ MgCl₂ и 1 мМ EGTA). Рекомбинантные GST-меченные JAK ферменты и GFP-меченный STAT1 пептидный субстрат получали от Life Technologies.

Серийно разведенные соединения предварительно инкубировали с каждым из четырех JAK ферментов и субстратом в белых 384-луночных микропланшетах (Corning) при температуре окружающей среды в течение 1 ч. Затем добавляли АТФ для иницирования киназных реакций в общем объеме 10 мкл с 1% DMSO. Конечные концентрации фермента для JAK1, 2, 3 и Tyk2 составляли 4,2, 0,1, 1 и 0,25 нМ соответственно; соответствующие используемые K_m АТФ концентрации были 25, 3, 1,6 и 10 мМ; тогда как концентрация субстрата была 200 нМ для всех четырех анализов. Киназным реакциям давали осуществиться в течение 1 ч при температуре окружающей среды, затем добавляли 10 мкл полученного раствора EDTA (конечная концентрация 10 мМ) и Tb-анти-pSTAT1 (pTyg701) антитела (Life Technologies, конечная концентрация 2 нМ) в TR-FRET буфере для разведения (Life Technologies). Планшеты оставляли для инкубации при температуре окружающей среды в течение 1 ч, затем считывали на считывающем устройстве Envision (Perkin Elmer). Отношение сигналов эмиссии (520 нм/495 нм) регистрировали и использовали для расчета процента ингибирования на основании DMSO и фонового контролей.

Для анализа доза-ответ данные, представляющие процент ингибирования, наносили на график vs. концентраций соединения и IC₅₀ значения определяли при помощи модели робастной подгонки с 4 параметрами с использованием программы Prism (Программа GraphPad). Результаты выражали как pIC₅₀ (отрицательный логарифм IC₅₀) и затем преобразовывали в pKi (отрицательный логарифм константы диссоциации, Ki) с использованием уравнения Ченга-Пруссоффа.

Испытываемые соединения, имеющие более высокое pKi значение в каждом из четырех JAK анализов, показывают большее ингибирование JAK активности. Соединения по изобретению, испытанные в этом анализе, типично демонстрировали pKi значения между около 7,5 и около 10,3.

Панель анализов нецелевых тирозинкиназ (ABL1, Flt3, RET, FGFR2, NTRK1 и pDGFRβ) разрабатывали с использованием такой же методики, с рекомбинантными ферментами, полученными от Life Technologies, и биотинилированными пептидными субстратами, синтезированными в AnaSpec. Все анализы осуществляли при температуре окружающей среды, с конечной концентрацией АТФ 100 мМ. Реагенты для детекции, включая Eu-анти-фосфотирозин (pY20) антитело и SureLight-APC-SA, закупили у Perkin Elmer. Отношение сигналов эмиссии (665 нм/615 нм) регистрировали и использовали для анализа данных и конечные результаты выражали как pIC₅₀. Выбранные соединения, испытанные в этом анализе, типично демонстрировали pIC₅₀ значения между около 5 и около 6,5.

Анализ 2. Клеточный анализ активности JAK: ингибирование IL-13

Активность испытываемых соединений для ингибирования JAK-зависимого цитокинового интерлейкина-13 (IL-13) оценивали путем измерения IL-13 (IL-13, R&D Systems)-индуцированного STAT6 фосфорилирования в человеческих клетках колоректальной аденокарциномы HT-29 (ATCC).

Анти-STAT6 антитело (Cell Signaling Technologies) конъюгировали с AlphaScreen акцепторными шариками (Perkin Elmer), тогда как анти-pSTAT6 (pTyg641) антитело (Cell Signaling Technologies) биотинилировали с использованием EZ-Link Sulfo-NHS-Биотин (Thermo Scientific).

HT-29 клетки выращивали при 37°C в 5% CO₂ увлажненном инкубаторе в 5а модифицированной среде Мак-Коя (ATCC), дополненной 10% FBS (Hyclone), 100 Ед/мл пенициллина, 100 мг/мл стрептомицина (Life Technologies) и 2 мМ GlutaMAX (Life Technologies). В день 1 анализа клетки высевали при плотности 7500 клеток/луночка в белые покрытые поли-Д-лизином 384-луночные планшеты (Corning) с 25 мкл среды и оставляли для адгезии в течение ночи в инкубаторе. В день 2 анализа среду удаляли и заменяли 12 мл аналитического буфера (сбалансированный солевой раствор Хэнкса/HBSS, 25 мМ HEPES и 1 мг/мл бычьего сывороточного альбумина/BSA), содержащего доза-ответы испытываемых соединений. Соединения серийно разводили в DMSO и затем разбавляли еще 1000-кратно в среде для доведения конечной концентрации DMSO до 0,1%. Клетки инкубировали с испытываемыми соединениями при 37°C в течение 1 ч, с последующим добавлением 12 мкл предварительно нагретого IL-13 (12 нг/мл в аналитическом буфере) для стимуляции. После инкубации при 37°C в течение 30 мин аналитический буфер (содержащий соединение и IL-13) удаляли и добавляли 10 мкл буфера для лизиса клеток (25 мМ HEPES, 0,1% SDS, 1% NP-40, 5 мМ MgCl₂, 1,3 мМ EDTA, 1 мМ EGTA и дополненный полным коктейлем ингибиторов протеаз Ultra mini и PhosSTOP от Roche Diagnostics). Планшеты встряхивали при температуре окружающей среды в течение 30 мин перед добавлением реагентов для детекции. Сначала добавляли смесь биотин-анти-pSTAT6 и анти-STAT6 конъюгированных акцепторных шариков и инкубировали при температуре окружающей среды в течение 2 ч, с последующим добавлением стрептавидин-конъюгированных донорных шариков (Perkin Elmer). После минимум 2 ч инкубации аналитические планшеты считывали на планшет-ридере Envision. AlphaScreen сигналы люминесценции регистрировали и использовали для расчета процента ингибирования на основании DMSO и фонового контролей.

Для анализа доза-ответ данные, представляющие процент ингибирования, наносили на график vs. концентраций соединения и определяли IC_{50} значения с использованием модели робастной подгонки с 4 параметрами и программы Prism. Результаты выражали как отрицательный логарифм IC_{50} значения, pIC_{50} .

Испытываемые соединения, имеющие более высокое pIC_{50} значение в этом анализе, показывают большее ингибирование IL-13-индуцируемого фосфорилирования STAT6. Соединения по изобретению, испытанные в этом анализе, типично демонстрировали pIC_{50} значения между около 6,0 и около 7,8.

Анализ 3: JAK анализ цитотоксичности

CellTiter-Glo люминесцентный анализ клеточной жизнеспособности/цитотоксичности осуществляли в человеческих эпителиальных клетках легкого BEAS-2B (ATCC) в условиях нормального роста.

Клетки выращивали при 37°C в 5% CO_2 увлажненном инкубаторе в 50% DMEM/50% F-12 среде (Life Technologies), дополненной 10% FBS (Hyclone), 100 Ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина (Life Technologies) и 2 мМ GlutaMAX (Life Technologies). В день 1 анализа клетки высевали при плотности 500 клеток/лунка в белые 384-луночные планшеты для тканевых культур (Corning) с 25 мкл среды и оставляли для адгезии в течение ночи в инкубаторе. В день 2 анализа добавляли 5 мкл среды, содержащей доза-ответы испытываемых соединений, и инкубировали при 37°C в течение 48 ч. Затем добавляли 30 мкл раствора для детекции CellTiter-Glo (Promega), смешивали на орбитальном встряхивателе в течение 5 мин и инкубировали еще в течение 10 мин, затем считывали на считывающем устройстве Envision. Сигналы люминесценции регистрировали и рассчитывали процент от DMSO контроля.

Для анализа доза-ответ данные, представляющие процент от DMSO контроля, наносили на график vs. концентраций соединения для получения кривых доза-ответ на основании линии, соединяющей каждую точку на графике. Концентрацию, при которой каждая кривая пересекает 15% порог ингибирования, определяли как CC_{15} . Результаты выражали как отрицательный логарифм CC_{15} значения, pCC_{15} .

Ожидают, что испытываемые соединения, демонстрирующие более низкое pCC_{15} значение в этом анализе, будут иметь меньшую вероятность цитотоксичности. Соединения по изобретению, испытанные в этом анализе, типично демонстрировали pCC_{15} значения между меньше чем 5 и около 6.

Результаты анализов in vitro

Все соединения примеров 1-9 и табл. 1-3 были испытаны в одном или нескольких анализах, описанных выше. Поскольку было обнаружено и понято, что активность JAK1 фермента прогнозирует активность в клетках, описанную в Анализе 2, ферментативная характеристика некоторых соединений была ограничена JAK1 ферментом.

В табл. 6 ниже для JAK1, JAK 2, JAK3 и TYK2 ферментных анализов, А представляет собой pK_i значение ≥ 10 ($K_i \leq 0,1$ нМ), В представляет собой pK_i значение между 9 и 10 (K_i между 1 нМ и 0,1 нМ), С представляет собой pK_i значение между 8 и 9 (K_i между 10 нМ и 1 нМ) и D представляет собой pK_i значение между 7,5 и 8 (K_i между 31,6 нМ и 10 нМ). Для анализа TNP-1 активности А представляет собой pIC_{50} значение $\geq 7,5$ ($IC_{50} \leq 32$ нМ), В представляет собой pIC_{50} значение между 6,7 и 7,5 (IC_{50} между 200 и 32 нМ) и С представляет собой pIC_{50} значение между 6 и 6,7 (IC_{50} между 1 мкм и 200 нМ).

Таблица 6

Пример №	JAK 1 (pK_i)	JAK 2 (pK_i)	JAK 3 (pK_i)	Тук 2 (pK_i)	НТ-29 (pIC_{50})
1	А	А	С	В	В
2	А	А	В	В	В
3	В	А	С	В	В
4	В	А	С	В	В
5	В	В	Д	С	С
6	В				
7	А	А	В	В	В
8	В	В	С	В	В
9	В	В	Д	В	В
Таблица 1					
1-1	С				В
1-2	В				С
1-3	С				С
1-4	Д				
1-5	В				В
1-6	А				В
1-7	В				

1-8	А				А
1-9	В				В
1-10	В				
1-11	В				В
1-12	В	В	С	В	
1-13	А	А	В	В	А
1-14	В	А	С	В	А
1-15	В	А	С	В	В
1-16	В	В	С	В	В
1-17	В	А	С	В	А
1-18	В				
1-19	В				А
Таблица 2					
2-1	С				С
2-2	В				В
2-3	В				В
2-4	В				В
2-5	В	В	Д	С	
2-6	В	В	С	В	
2-7	В				В
2-8	В				В
Таблица 3					
3-1	В				
3-2	В	В		В	
3-3	В	В		С	
3-4	В	В		В	
3-5	В	В		В	
3-6	В	В		С	
3-7	В	В		В	
3-8	В	В		В	

Анализ 4: Клеточный анализ JAK активности: ингибирование

IL-4-стимулированного pSTAT6 в CD3+ Т клетках

Активность испытываемых соединений для ингибирования интерлейкин-4 (IL-4)-стимулированного STAT6 фосфорилирования измеряли в CD3-положительных (CD3+) Т-клетках в мононуклеарных клетках периферической крови человека (PBMCs), выделенных из цельной крови человека (Stanford Blood Center), с использованием проточной цитометрии. Поскольку IL-4 передает сигналы через JAK, этот анализ обеспечивает измерение клеточной активности JAK.

CD3+ Т-клетки идентифицировали с использованием фикоэритробилин (PE)-конъюгированного анти-CD3 антитела (Клон UCST1, BD Biosciences), при этом Alexa Fluor 647-конъюгированное анти-pSTAT6 антитело (pY641, Clone 18/P, BD Biosciences) использовали для детекции STAT6 фосфорилирования.

Мононуклеарные клетки человеческой периферической крови (PBMC) выделяли из человеческой цельной крови здоровых доноров с использованием градиента фиколла. Клетки культивировали в 37°C, 5% CO₂ увлажненном инкубаторе в RPMI (Life Technologies), дополненной 10% термоинактивированной фетальной бычьей сывороткой (FBS, Life Technologies), 2 mM Glutamax (Life Technologies), 25 mM HEPES (Life Technologies) и 1X пенициллин/стрептомицин (Life Technologies). Клетки высевали при 250000 клеток/лунка в среду (200 мкл), культивировали в течение 1 ч и затем ресуспендировали в среде для анализа (50 мкл) (RPMI, дополненной 0,1% бычьего сывороточного альбумина (Sigma), 2 mM Glutamax, 25 mM HEPES и 1X Penstrep), содержащей различные концентрации испытываемых соединений. Соединения серийно разводили в DMSO и затем разбавляли еще 500-кратно (до 2х конечной анализируемой концентрации) в среде для анализа. Испытываемые соединения (50 мкл) инкубировали с клетками при 37°C, 5% CO₂ в течение 1 ч, с последующим добавлением 50 мкл IL-4 (R&D Systems; конечная концентрация 20 нг/мл) в предварительно нагретой среде для анализа в течение 30 мин. После цитокиновой стимуляции клетки фиксировали предварительно нагретым фиксирующим раствором (100 мкл) (BD Biosciences) в течение 10 минут при 37°C, 5% CO₂, промывали два раза FACS буфером (1 мл) (2% FBS в DPBS) и ресуспендировали в 1000 мкл ледяного Perm Буфера III (BD Biosciences) в течение 30 мин при 4°C. Клетки промывали два раза FACS буфером и затем ресуспендировали в 100 мкл FACS буфера, содержащего анти-CD3 PE (1:50 разведение) и анти-pSTAT6 Alexa Fluor 647 (1:5 разведение), в течение 60 мин при комнатной температуре в темноте. После инкубации клетки промывали два раза в FACS буфере, затем анализировали с использованием LSRII проточного цитометра (BD Biosciences).

Для определения ингибирующей активности испытываемых соединений в ответ на IL-4 измеряли среднюю интенсивность флуоресценции (MFI) pSTAT6 в CD3+ Т-клетках. IC₅₀ значения определяли из полученных в анализе ингибирования кривых MFI vs концентрации соединения. Данные выражали как pIC₅₀ (отрицательный десятичный логарифм IC₅₀) значения (среднее значение ± стандартное отклонение). Соединение примера 2 продемонстрировало pIC₅₀ значение около 7,3 в этом анализе.

Анализ 5. Клеточный анализ JAK активности: ингибирование IFN γ -индуцируемого pSTAT1

Активность испытываемых соединений для ингибирования интерферон гамма (IFN γ)-стимулируемого STAT1 фосфорилирования измеряли в CD14-положительных (CD14+) моноцитах, выделенных из человеческой цельной крови (Stanford Blood Center), с использованием проточной цитометрии. Поскольку IFN γ передает сигналы через JAK, этот анализ обеспечивает измерение клеточной активности JAK.

Моноциты идентифицировали с использованием флуоресцеинизотиоцианат (FITC)-конъюгированного анти-CD14 антитела (Clone RM052, Beckman Coulter), и Alexa Fluor 647-конъюгированное анти-pSTAT1 антитело (pY701, Клон 4a, BD Biosciences) использовали для детекции STAT1 фосфорилирования.

Мононуклеарные клетки периферической крови человека (PBMC) выделяли из человеческой цельной крови здоровых доноров с использованием градиента фиколла. Клетки культивировали в 37°C, 5% CO₂ увлажненном инкубаторе в RPMI (Life Technologies), дополненной 10% фетальной бычьей сывороткой (FBS, Life Technologies), 2 mM Glutamax (Life Technologies), 25 mM HEPES (Life Technologies) и 1X пенициллин/стрептомицин (Life Technologies). Клетки высевали при 250000 клеток/лунка в среду (200 мкл), культивировали в течение 2 ч и ресуспендировали в среде для анализа (50 мкл) (RPMI, дополненной 0,1% бычьего сывороточного альбумина (Sigma), 2 mM Glutamax, 25 mM HEPES и 1X Penstrep), содержащей различные концентрации испытываемых соединений. Соединения серийно разводили в DMSO и затем разбавляли еще 1000-кратно в среде для доведения конечной концентрации DMSO до 0,1%. Испытываемые соединения инкубировали с клетками при 37°C, 5% CO₂ в течение 1 ч, с последующим добавлением предварительно нагретого IFN γ (R&D Systems) в среде (50 мкл) при конечной концентрации 0,6 нг/мл в течение 30 мин. После цитокиновой стимуляции клетки фиксировали предварительно нагретым фиксирующим раствором (100 мкл) (BD Biosciences) в течение 10 мин при 37°C, 5% CO₂, промывали два раза FACS буфером (1 мл) (1% BSA в PBS), ресуспендировали в 1:10 анти-CD14 FITC:FACS буфер (100 мкл) и инкубировали при 4°C в течение 15 мин. Клетки промывали один раз и затем ресуспендировали в ледяном Perm Буфере III (BD Biosciences) (100 мкл) в течение 30 мин при 4°C. Клетки про-

мывали два раза FACS буфером и затем ресуспендировали в 1:10 анти-pSTAT1 Alexa Fluor 647:FACS буфер (100 мкл) в течение 30 мин при комнатной температуре в темноте, промывали два раза в FACS буфере и анализировали с использованием LSRII проточного цитометра (BD Biosciences).

Для определения ингибирующей активности испытываемых соединений среднюю интенсивность флуоресценции (MFI) pSTAT1 измеряли в CD14+ моноцитах. IC₅₀ значения определяли из полученных в анализе ингибирования кривых MFI vs концентрации соединения. Данные выражали как pIC₅₀ (отрицательный десятичный логарифм IC₅₀) значения (среднее значение ± стандартное отклонение). Соединение примера 2 продемонстрировало pIC₅₀ значение около 7,6 в этом анализе.

Анализ 6: Определение абсорбции у канюлированных крыс

Пероральную биодоступность (F%), абсорбированную фракцию (F_a%) и фракцию, обходящую печеночный клиренс (F_h%), определяли у Sprague Dawley крыс в следующих двух испытаниях:

(1) Фармакокинетика у крыс после в/в дозы испытываемого соединения: После в/в дозирования образцы плазмы, как правило, собирали через 0-6 ч. Уровни лекарственного средства определяли с использованием метода ЖХ-МС-МС. Полученные уровни лекарственного средства использовали для расчета в/в фармакокинетических параметров: AUC в/в и Доза в/в.

(2) Крысам, которым вводили канюлю в портальную вену (PV) и также в яремную вену (JV), вводили перорально испытываемое соединение. После перорального введения образцы плазмы обычно собирали через 0-6 ч как из портальной вены, так и из яремной вены. Уровни лекарственного средства определяли с использованием метода ЖХ-МС-МС. Полученные уровни лекарственного средства использовали для расчета следующих фармакокинетических параметров: AUC п/о PV, AUC п/о JV и Доза п/о.

С использованием данных, полученных в описанных выше испытаниях, пероральную биодоступность F% и количества F_a% и F_h% рассчитывали из следующих формул:

$$F\% = (AUC \text{ п/о JV} / AUC \text{ в/в}) \times (Доза \text{ в/в} / Доза \text{ п/о}) \times 100$$

$$F_a\% = (AUC \text{ п/о PV} / AUC \text{ в/в}) \times (Доза \text{ в/в} / Доза \text{ п/о}) \times 100$$

$$F_h\% = AUC \text{ п/о JV} / AUC \text{ п/о PV}$$

где

AUC п/о JV = Площадь под кривой после пероральной дозы, и плазма, собранная из яремной вены

AUC п/о PV = Площадь под кривой после пероральной дозы и плазма, собранная из портальной вены

AUC в/в = Площадь под кривой после внутривенной дозы

Доза в/в = Внутривенная доза в мг/кг

Доза п/о = пероральная доза в мг/кг

Соединения примеров 1-4 были испытаны в этом анализе и продемонстрировали пероральную биодоступность (F%) меньше чем около 25%. В частности, соединения примеров 1, 2 и 4 продемонстрировали F% значения меньше чем около 5%. Кроме того, соединения примеров 1 и 2 продемонстрировали абсорбцию при введении в портальную вену (F_a%) меньше чем около 25%, тогда как соединения примеров 3 и 4 продемонстрировали значение F_a% больше чем 40%.

Анализ 7: Фармакокинетика в толстой кишке крыс

Испытываемое соединение формулировали в 0,5% растворе метилцеллюлозы в воде и вводили через желудочный зонд при 3,2 и 100 мг/кг крысам Sprague Dawley. В различных точках времени (типично 0,5, 1, 3, 6, 24 ч) после введения брали образцы крови через сердечную пункцию и у крыс вырезали интактные толстые кишки. Образцы крови центрифугировали при 1500×g в течение 15 мин для сбора плазмы. Толстые кишки промывали ледяным фосфатно-солевым буферным раствором (PBS), взвешивали и гомогенизировали при разведении 1:10 в PBS. Уровни испытываемого соединения в плазме и в толстой кишке определяли при помощи ЖХ-МС анализа против аналитических стандартов встроенных в стандартную кривую в тестовой матрице. Отношение толстой кишки к плазме определяли как отношение AUC толстой кишки к AUC плазмы в мкг·ч/г. Соединение примера 2 продемонстрировало отношение толстой кишки к плазме больше чем около 250 при 5 мг/кг и больше чем около 1200 при 100 мг/кг.

Анализ 8: Мышиная модель оксазолон-индуцированного колита

Оксазолон-индуцированный колит представляет собой экспериментальную модель, имеющую гистологическое сходство с язвенным колитом человека (Heller et al. *Immunology*, 2002, 17, 629-638). В этом анализе использовали взрослых BALB/C мышей от Harlan. В день 1 животных слегка анестезировали изофлураном и волосы между лопатками осторожно удаляли перед медленным нанесением раствора оксазолон (4%, 150 мкл, композиция 4:1 ацетон:оливковое масло) или носителя для сенсibilизации кожи. Через семь дней после сенсibilизации кожи мыши голодали в течение ночи, их анестезировали ингаляцией изофлураном и 1 мл шприц, снабженный 3,5-F катетером, заполненный раствором оксазолон, осторожно вводили примерно на 4 см в толстую кишку мыши. После введения шприца 50 мкл раствора оксазолон (1%, композиция 1:1 этанол:вода) вводили очень медленно (в течение 30 с с использованием впрыскивающего насоса) в толстую кишку. Катетер удаляли и мышью держали вертикально (головой вниз) в течение 2 мин, чтобы раствор оксазолон полностью остался внутри толстой кишки. Обработку лекарственным средством (п/о, BID или TID) или носителем начинали за день до интратекальной (и/т) стимуляции оксазолоном. Через два дня после интратекальной стимуляции оксазолоном индекс активно-

сти заболевания (DAI) оценивали экспериментаторы, не осведомленные о лечении, для каждой мыши в соответствии с критериальной оценкой: оценка консистенции стула (0=нормальный; 2=жидкий; 4=диарея), общая оценка кровотечения (0=отсутствие; 2=слегка кровянистый; 4=присутствие) и оценка потери массы (0=нет; 1=1%-5%; 2=5%-10%; 3=10%-20%; 4=больше чем 20%); DAI=среднее от (оценка консистенции стула+общая оценка кровотечения+оценка потери массы).

Выбранные соединения по изобретению были испытаны в этом анализе. Эффективность в модели подтверждалась снижением DAI оценки по сравнению с оценкой, полученной для обработанных носителем животных. Соединения примеров 2 и 4 продемонстрировали статистически значимое уменьшение DAI оценки по сравнению с оценкой, полученной для обработанных носителем животных, в оксазолон-овой модели при дозе 1, 3 и/или 10 мг/кг BID, тогда как соединение Примера 1 не показало статистически значимое снижение при дозах вплоть до 10 мг/кг BID, испытанных в этом анализе.

Анализ 9: Эффекты иммуносупрессии в мышинных природных киллерных (NK) клетках селезенки

Истощение мышинных клеток селезенки представляет собой экспериментальную модель иммуносупрессии (Kudlacz et al., *Am. J. of Transplantation*, 2004, 4, 51-57). Соединение примера 2 оценивали в клеточной модели селезенки мыши, следуя такой же парадигме лечения, которую использовали в модели оксазолон-индуцированного колита (Анализ 8).

Для этого испытания использовали взрослых самцов Balb/C мышей (возраст 12-14 недель) от Harlan. Соединение (1, 10 и 100 мг/кг, BID) и тофацитиниб (30 и 60 мг/кг, BID) в качестве положительно-го контроля вводили перорально в течение трех дней ранее не получавшим лечение мышам. Селезенки собирали через 1 ч после последней дозы и сразу измельчали для окрашивания клеточных подтипов. Перед фиксацией флуорофор-меченные антитела для CD19 (FITC; В-клетки), CD3ε (PE; рaп Т-клетки) и DX5 (APC; NK-клетки) инкубировали с образцами спленоцитов от каждого животного, чтобы обеспечить возможность одновременного анализа % множества подтипов на проточном цитометре. Количество всех клеток селезенки для каждого животного измеряли с использованием портативного автоматического счетчика клеток Scepter™ 2.0.

Абсолютное количество популяции подтипов лимфоцитов (например, В, Т и NK клеток селезенки) рассчитывали по проценту каждого подтипа, умноженному на общее количество клеток селезенки для каждого животного. Односторонний анализ ANOVA, с апостериорным критерием Даннетта, использовали для сравнения количества лимфоцитов селезенки в группе введения носителя и группах введения испытываемых соединений. Уровень α был установлен при $p < 0,05$. Данные представляли как среднее значение \pm SEM для каждой группы.

Положительный контроль тофацитиниб (30 и 60 мг/кг; п/о, BID) дозозависимым и значительным образом уменьшал количество NK-клеток селезенки. В этом же испытании соединение примера 2 никак не влияло на количество NK-клеток селезенки при п/о (BID) дозах вплоть до 100 мг/кг (максимальная испытываемая доза). Никакого эффекта обработки не наблюдали для В- и Т-клеточных популяций с любым соединением.

Эти данные, вместе с 1 мг/кг минимальной дозой, которая вызывала существенный эффект против колита в мышинной модели оксазолон-индуцированного колита (Анализ 8), позволяют получить функциональный терапевтический индекс >100 , который может быть рассчитан для соединения примера 2.

Анализ 10: Фармакокинетика в коже мышей и мини-свинок

Целью этого анализа было определение фармакокинетики испытываемого соединения в эпидермисе, коже и плазме после 24 ч воздействия на кожу интактных мышей или мини-свинок.

Соединение, полученное в примере 12, 1-(((1R,3s,5S)-3-(((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пирозол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил, было сформулировано в виде 0,5% (мас./мас.) крема или мази, описанных как Композиция А или Композиция В, соответственно, в табл. 7.

За 24 ч до введения сбривали волосы со спины у 25 г самцов Balb/c мышей, обнажая площадь по меньшей мере 6 см² (около 10% площади поверхности тела) и в отдельном эксперименте у 10 кг мини-свинок Gottingen, обнажая площадь по меньшей мере 450 см² (около 10% площади поверхности тела). Во время ноль, после анестезии изофлураном, испытываемое соединение наносили на спину мышей или мини-свинок при дозе 25 мкл/см². Кожи покрывали адгезивным покрытием для предотвращения потери соединения в клетке или на подстилке.

После воздействия в течение 24 ч спины осторожно промывали мылом и водой для удаления неабсорбированного лекарственного средства и вытирали насухо. Сразу после этой промывки брали кровь путем сердечной пункции у мышей и через венепункцию у мини-свинок. Внешний слой кожи (роговой слой эпидермиса) затем удаляли путем отслаивания при помощи адгезивной ленты. После обнажения эпидермиса брали 0,5 см щипковую биопсию. Эпидермис и дерму быстро разделяли, взвешивали и быстро замораживали. Аналогичные образцы получали через 48 ч после введения у мышей и через 48, 94 и 168 ч (7 дней) после введения у мини-свинок.

Образцы эпидермиса и дермы гомогенизировали в 1:10 (мас./об) воде с использованием ультразвукового гомогенизатора Covaris. Образцы экстрагировали в 3 объема ацетонитрила и количественно оце-

нивали против стандартной кривой с использованием ЖХ-МС анализа. Как видно из фармакокинетических параметров AUC_{0-t} для плазмы, эпидермиса и дермы, показанных в табл. 8 ниже, существенная экспозиция соединения была обнаружена в слоях эпидермиса и дермы, тогда как экспозиция в плазме была незначительной у мышей и ниже предела количественного определения у мини-свинок.

Таблица 7

Композиция А		Композиция В	
Соединение Примера 12	0,5%	Соединение Примера 12	0,5%
Стеариновая кислота	5%	Октилгидроксистеарат	5%
Цетостеариловый спирт	5%	С8-С10 Триглицерид	5%
Изопропилпальмитат	4%	Вазелин (петрлатум)	79,5%
Октилгидроксистеарат	2%	N-Метилпирролидон	10%
BR1J S2 (ПЭГ 2 стеариловый эфир)	1,08%		
BR1J S20 (ПЭГ 20 стеариловый эфир)	6,92%		
N-Метилпирролидин	10%		
ПЭГ400	10%		
RO Вода	55,5%		

Таблица 8

	Плазма AUC_{0-t} (мкгхч/мл)	Эпидермис AUC_{0-t} (мкгхч/г)	Дерма AUC_{0-t} (мкгхч/г)
Мышь Композиция А	0,014	718	61
Мышь Композиция В	0,006	2830	296
Мини-свинка Композиция А	<0,001	988	71
Мини-свинка Композиция В	<0,001	4030	114

Анализ 11: Модель индуцированного местным введением ТРА раздражающего контактного дерматита у мышей

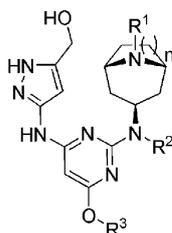
Целью этого анализа была оценка противовоспалительного эффекта испытываемых соединений в модели острого дерматита, оцениваемых для воспалительных состояний кожи, таких как атопический дерматит (Dong et al., J Pharmacol Exp Ther, 2013, 344, 436-446).

Местное нанесение на кожу мышей форболового эфира 12-0-тетрадеканоилфорбол-13-ацетата (ТРА) вызывает воспалительный ответ, который характеризуется отеком и притоком нейтрофилов в ранней фазе (2-24 ч) и эпидермальной клеточной пролиферацией в поздней фазе (24-48 ч) (Griffiths et al., Agents and Actions, 1988, 25, 344-351). Самкам Balb/c мышей местно вводили либо носитель (1:7 DMSO:ацетон), либо 20 мкл раствора ТРА (2,5 мкг) в носителе, которые наносили на каждое ухо. За 30 мин до и 15 мин после ТРА введения либо носитель, либо соединение примера 2 при дозах 30, 100, 300, 1000 и 3000 мкг в носителе наносили местно на каждое ухо. Степень воспаления оценивали как изменение толщины уха через 6 ч после нанесения ТРА. Соединение примера 2 продемонстрировало доза- и концентрация-зависимое ингибирование ТРА-индуцированного увеличения толщины уха. Максимальным статистически значимым эффектом было 41% ингибирование, наблюдаемое при дозе 1000 мкг.

Хотя настоящее изобретение было описано со ссылкой на конкретные аспекты или варианты его осуществления, специалистам в данной области техники будет понятно, что возможны различные изменения или эквивалентные замены без отступления от действительной сущности и объема изобретения. Кроме того, в той степени, в которой это разрешено применимыми патентными уставами и правилами, все публикации, патенты и патентные заявки, приведенные в настоящей заявке, включены в настоящую заявку посредством ссылки во всей их полноте в той же степени, как если бы каждый документ был включен отдельно посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I)



(I)

где

R^1 выбран из:

(a) $-S(O)_2R^4$, где R^4 выбран из C_{1-4} алкила, где C_{1-4} алкил необязательно замещен $-CN$, $-OC_{1-3}$ алкилом или C_{3-6} циклоалкилом,

гетероцикла, содержащего 4-6 кольцевых атомов, включая один атом азота, где любой гетероцикл необязательно замещен группой $-CN$,

C_{3-6} циклоалкила,

пиридинила, где пиридинил необязательно замещен фтором, и фенила;

(b) C_{1-4} алкила, где C_{1-4} алкил необязательно замещен $-CN$, $\text{---}\text{CN}$ или пиридинилом, где пиридинил необязательно замещен группой $-CN$; и

(c) $-C(O)R^5$, где R^5 выбран из C_{1-4} алкила, где C_{1-4} алкил необязательно замещен C_{3-6} циклоалкилом или одним или двумя атомами фтора,

$-OC_{1-4}$ алкила,

C_{3-6} циклоалкила и

морфолинила;

R^2 представляет собой водород или метил;

R^3 представляет собой C_{1-3} алкил и

n имеет значение 1 или 2;

или его фармацевтически приемлемая соль или стереоизомер.

2. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^3 представляет собой метил.

3. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^2 представляет собой метил.

4. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где n имеет значение 2.

5. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R^1 выбран из:

(a) $S(O)_2R^4$, где R^4 выбран из

C_{1-2} алкила, где C_{1-2} алкил необязательно замещен $-CN$, $-OCH_3$, или циклопропилем,

азетидинила или пирролидинила, где азетидинил необязательно замещен группой $-CN$,

циклопропила,

пиридинила, где пиридинил необязательно замещен фтором, и

фенила;

(b) C_{1-4} алкила, где C_{1-4} алкил необязательно замещен $-CN$, $\text{---}\text{CN}$ или пиридинилом, где пиридинил необязательно замещен группой $-CN$; и

(c) $C(O)R^5$, где R^5 выбран из

C_{1-2} алкила, где C_{1-2} алкил необязательно замещен циклопропилем или одним или двумя атомами фтора,

$-OC_{1-4}$ алкила,

C_{3-6} циклоалкила,

морфолинила.

6. Соединение по п.1, выбранное из следующих:

1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил,

1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил,

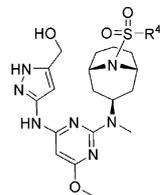
(3-(((6-метокси-2-(метил((1R,3s,5S)-9-(метилсульфонил)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол,

(3-(((6-метокси-2-(((1R,3s,5S)-9-(2-метоксиэтил)сульфонил)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол,

3-((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-ил)пропаннитрил,

циклобутил((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)метанон
и их фармацевтически приемлемых солей.

7. Соединение по п.1, где соединение представляет собой соединение формулы (II)



(II)

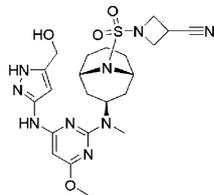
или его фармацевтически приемлемую соль.

8. Соединение по п.7 или его фармацевтически приемлемая соль, где R⁴ представляет собой метил, этил, азетидинил, пирролидинил, циклопропил, пиридинил или фенил, где этил необязательно замещен метокси, азетидинил необязательно замещен группой -CN и пиридинил необязательно замещен фтором.

9. Соединение по п.7, выбранное из следующих:

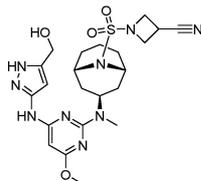
- 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрил,
 - (3-((6-метокси-2-(метил((1R,3s,5S)-9-(метилсульфонил)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол,
 - (3-((6-метокси-2-(((1R,3s,5S)-9-(2-метоксиэтил)сульфонил)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол,
 - 3-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)пропаннитрил,
 - (3-((6-метокси-2-(метил((1R,3s,5S)-9-(пирролидин-1-илсульфонил)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол,
 - (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-(циклопропилсульфонил)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол,
 - (3-((6-метокси-2-(метил((1R,3s,5S)-9-(пиридин-3-илсульфонил)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол,
 - (3-((6-метокси-2-(метил((1R,3s,5S)-9-(фенилсульфонил)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)амино)пиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол,
 - (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-(азетидин-1-илсульфонил)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол,
 - (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-(циклопропилметил)сульфонил)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол и
 - (3-((2-(((1R,3s,5S)-9-(5-фторпиридин-3-ил)сульфонил)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-3-ил)(метил)амино)-6-метоксипиримидин-4-ил)амино)-1H-пиразол-5-ил)метанол
- и их фармацевтически приемлемых солей.

10. Соединение формулы



или его фармацевтически приемлемая соль.

11. Соединение формулы



12. Кристаллическая форма 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрила, где кристаллическая форма характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, включающей дифракционные пики при 2θ значениях 8,89±0,20, 12,99±0,20, 13,44±0,20 и 20,16±0,20.

13. Кристаллическая форма по п.12, где порошковая рентгеновская дифрактограмма дополнительно характеризуется тем, что имеет два или более дополнительных дифракционных пиков при 2θ значениях, выбранных из 10,64±0,20, 10,99±0,20, 15,02±0,20, 15,74±0,20, 16,47±0,20, 20,93±0,20, 22,22±0,20 и

26,25±0,20.

14. Кристаллическая форма по п.12, где кристаллическая форма характеризуется порошковой рентгеновской дифрактограммой, на которой положения пиков по существу соответствуют положениям пиков на дифрактограмме, показанной на фиг. 1.

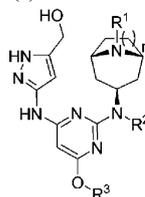
15. Кристаллическая форма по п.12, где кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, записанной при скорости нагрева 10°C в минуту, которая показывает максимум в эндотермическом тепловом потоке при температуре между 235 и 245°C.

16. Кристаллическая форма по п.15, где кристаллическая форма характеризуется кривой дифференциальной сканирующей калориметрии, по существу, соответствующей кривой, показанной на фиг. 2.

17. Фармацевтическая композиция для лечения желудочно-кишечного воспалительного заболевания или воспалительного заболевания кожи, включающая терапевтически эффективное количество соединения по любому из пп.1-16 и фармацевтически приемлемый носитель.

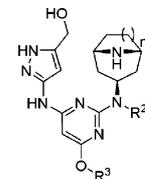
18. Фармацевтическая композиция по п.17 для лечения желудочно-кишечного воспалительного заболевания, дополнительно включающая терапевтически эффективное количество одного или нескольких других терапевтических средств, полезных для лечения желудочно-кишечного воспалительного заболевания, выбранных из аминсалицилатов, стероидов, системных иммунодепрессантов, анти-TNFα антител, анти-VLA 4 антител, антиинтегрин α₄β₇ антител, антибактериальных средств и лекарственных средств от диареи.

19. Способ получения соединения формулы (I) по п.1



(I)

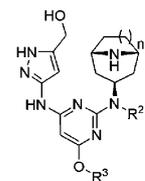
где R¹ представляет собой -S(O)₂R⁴, включающий взаимодействие соединения формулы (III)



(III)

с Cl-S(O)₂R⁴,
где R², R³, R⁴ и n имеют значения, определенные в п.1.

20. Соединение формулы (III)



(III)

где R², R³ и n имеют значения, определенные в п.1.

21. Соединение по п.20, где R² и R³, каждый, представляет собой метил.

22. Способ получения кристаллической формы 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрила по п.12, включающий:

(a) растворение 1-(((1R,3s,5S)-3-((4-((5-(гидроксиметил)-1H-пиразол-3-ил)амино)-6-метоксипиримидин-2-ил)(метил)амино)-9-азабицикло[3.3.1]нонан-9-ил)сульфонил)азетидин-3-карбонитрила в растворителе, выбранном из N-метилпирролидона и диметилформамида, с образованием реакционной смеси;

(b) добавление ацетона и воды к реакционной смеси и

(c) выделение кристаллической формы из реакционной смеси.

23. Применение соединения по любому из пп.1-16 для лечения желудочно-кишечного воспалительного заболевания у млекопитающего.

24. Применение по п.23, где желудочно-кишечное воспалительное заболевание представляет собой язвенный колит.

25. Применение по п.23, где соединение предназначено для использования в комбинации с одним или несколькими другими терапевтическими средствами, полезными для лечения желудочно-кишечного

воспалительного заболевания, выбранными из аminosалицилатов, стероидов, системных иммунодепрессантов, анти-TNF α антител, анти-VLA 4 антител, антиинтегрин $\alpha_4\beta_7$ антител, антибактериальных средств и лекарственных средств от диареи.

26. Применение соединения по любому из пп.1-16 для получения лекарственного средства для лечения желудочно-кишечного воспалительного заболевания у млекопитающего.

27. Применение по п.26, где желудочно-кишечное воспалительное заболевание выбирают из группы, состоящей из язвенного колита, болезни Крона и целиакии.

28. Применение соединения по любому из пп.1-16 для лечения воспалительного заболевания кожи у млекопитающего.

29. Применение по п.28, где воспалительное заболевание кожи представляет собой атопический дерматит.

30. Применение соединения по любому из пп.1-16 для получения лекарственного средства для лечения воспалительного заболевания кожи у млекопитающего.

31. Применение по п.30, где воспалительное заболевание кожи представляет собой атопический дерматит.

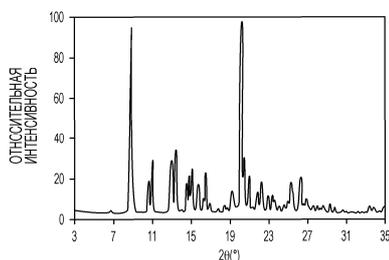
32. Способ лечения желудочно-кишечного воспалительного заболевания у млекопитающего, включающий введение млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-16 и фармацевтически приемлемого носителя.

33. Способ по п.32, где способ дополнительно включает введение одного или нескольких других терапевтических средств, полезных для лечения желудочно-кишечного воспалительного заболевания, выбранных из аminosалицилатов, стероидов, системных иммунодепрессантов, анти-TNF α антител, анти-VLA 4 антител, антиинтегрин $\alpha_4\beta_7$ антител, антибактериальных средств и лекарственных средств от диареи.

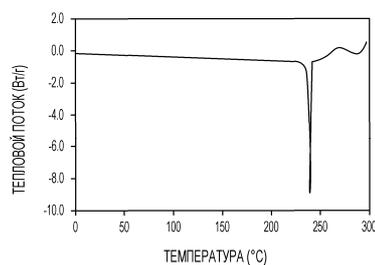
34. Способ по п.32, где желудочно-кишечное воспалительное заболевание выбирают из группы, состоящей из язвенного колита, болезни Крона и целиакии.

35. Способ лечения воспалительного заболевания кожи у млекопитающего, включающий нанесение фармацевтической композиции по п.17 на кожу млекопитающего.

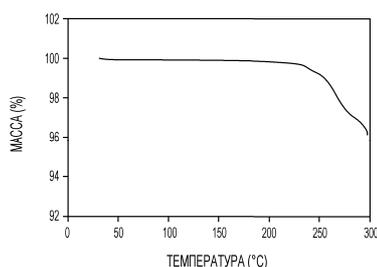
36. Способ по п.35, где воспалительное заболевание кожи представляет собой атопический дерматит.



Фиг. 1

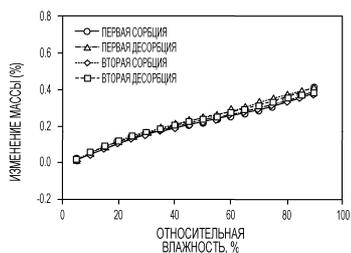


Фиг. 2

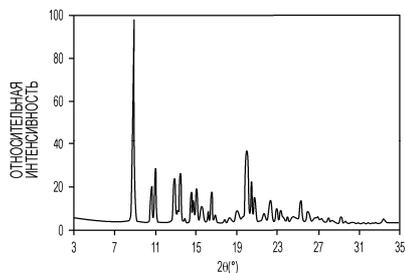


Фиг. 3

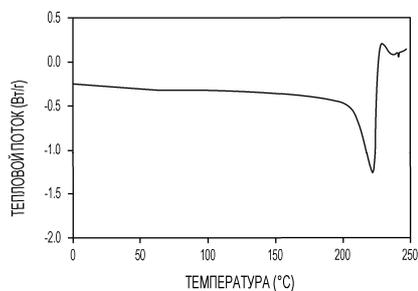
035226



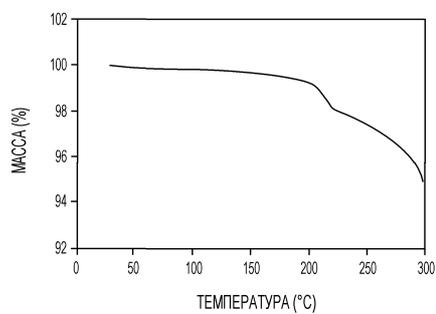
Фиг. 4



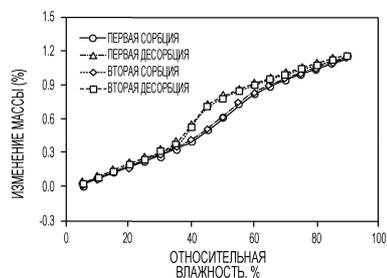
Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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