

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(11) 036448

(13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента

2020.11.11

(21) Номер заявки

201592199

(22) Дата подачи заявки

2014.05.16

(51) Int. Cl. C07D 403/14 (2006.01)
A61K 31/4155 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

(54) ПРОИЗВОДНЫЕ БИПИРАЗОЛА В КАЧЕСТВЕ ИНГИБИТОРОВ JAK

(31) 61/824,683

(56) WO-A1-2012177606

(32) 2013.05.17

(33) US

(43) 2016.05.31

(86) PCT/US2014/038388

(87) WO 2014/186706 2014.11.20

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

ИНСАЙТ КОРПОРЕЙШН (US)

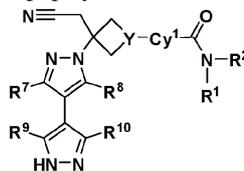
(72) Изобретатель:

Ли Юнь-Лун, Чжо Цзиньцун, Цянь
Дин-Цюань, Мей Сун, Цао Ганьфэн,
Пань Юнчунь, Ли Цюнь, Цзя
Чжунцзян (US)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) В изобретении предложены соединения формулы I



или их фармацевтически приемлемые соли, где значения радикалов определены в формуле изобретения. Изобретение также относится к композициям, содержащим соединения формулы I, и способам их применения для ингибирования активности Янус-киназы (JAK) и лечения заболеваний, связанных с активностью JAK, включая воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания, раковые заболевания и другие заболевания.

B1

036448

036448

B1

Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США 61/824683, поданной 17 мая 2013 г., содержание которой включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки.

Область техники

В настоящем изобретении предложены производные бипиразола, а также их композиции и способы их применения, которые модулируют активность Янус-киназы (JAK) и подходят для применения для лечения заболеваний, связанных с активностью JAK, включая, например, воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания, раковые заболевания и другие заболевания.

Уровень техники

Протеинкиназы (PK) регулируют разнообразные биологические процессы, включая клеточный рост, выживаемость, дифференциацию, формирование органов, морфогенез, неоваскуляризацию, восстановление ткани, а также регенерацию, среди прочего. Протеинкиназы также играют особую роль в ряде заболеваний человека, включая раковые заболевания. Цитокины, низкомолекулярные полипептиды или гликопротеины регулируют многие сигнальные пути, участвующие в воспалительном ответе носителя на сепсис. Цитокины влияют на дифференцировку, пролиферацию и активацию клеток и могут модулировать провоспалительные и противовоспалительные ответы для того, чтобы позволить организму носителя соответствующим образом реагировать на патогены. Передача сигналов большого ряда цитокинов включает семейства Янус-киназы (JAK) протеин-тирозинкиназ и преобразователи сигнала и активаторы транскрипции (STAT). Существуют четыре известных JAK млекопитающих: JAK1 (Янус-киназа-1), JAK2, JAK3 (также известная как Янус-киназа лейкоцита; JAKL и L-JAK) и TYK2 (протеин-тирозинкиназа 2).

Стимулированные цитокинами иммунные и воспалительные ответы влияют на патогенез заболеваний: такие патологии, как тяжелый комбинированный иммунодефицит (SCID) возникает в ответ на подавление иммунной системы, в то время как гиперактивный или неадекватный иммунный/воспалительный ответ влияет на патологию аутоиммунных заболеваний (например, астмы, системной красной волчанки, тиреоидита, миокардита) и таких болезней, как склеродермия и остеоартрит (Ottmann, R.A., T. Cheng и др. (2000) *Arthritis Res* 2(1): 16-32).

Недостаточная экспрессия JAK ассоциирована со многими болезненными состояниями. Например, мыши *Jak1*^{-/-} рождаются с дефицитом веса, не берут грудь и умирают в перинатальном возрасте (Rodig, S.J., M.A. Meraz и др. (1998) *Cell* 93(3): 373-83). Эмбрионы мышей *Jak2*^{-/-} являются анемичными и умирают примерно на 12,5 день после спаривания в связи с отсутствием окончательного эритропоэза.

Сигнальный путь JAK/STAT и, в частности, все четыре JAK, вероятно, играют роль в патогенезе астматического ответа, хронической обструктивной болезни легких, бронхита и других воспалительных заболеваний нижних дыхательных путей.

Многочисленные цитокины, которые передают сигналы посредством JAK, связывают с воспалительными заболеваниями/состояниями верхних дыхательных путей, например, поражающими нос и пазухи (например, ринит и синусит), как являющимися обычными аллергическими реакциями, так и нет. Путь JAK/STAT также вовлечен в воспалительные заболевания/состояния глаза и хронические аллергические реакции.

Активация JAK/STAT при раковых заболеваниях может происходить путем стимуляции цитокинов (например, IL-6 или GM-CSF) или путем ослабления эндогенных супрессоров JAK-сигналинга, таких как SOCS (супрессор сигналинга цитокинов) или PIAS (белок-ингибитор активированного STAT) (Boudny, V. и Kovarik, J., *Neoplasms* 49:349-355, 2002). Активацию сигналинга STAT так же, как и других путей, расположенных ниже JAK по каскаду регуляторных взаимодействий (например, Akt), соотносят с неблагоприятным прогнозом при многих типах раковых заболеваний (Bowman, T. и др. *Oncogene* 19:2474-2488, 2000). Повышенные уровни циркулирующих цитокинов, которые передают сигнал через JAK/STAT, играют решающую роль в кахексии и/или хронической усталости. Соответственно ингибирование JAK может быть полезным для пациентов с раковыми заболеваниями по причинам, которые выходят за пределы потенциальной противоопухолевой активности.

Тирозинкиназа JAK2 может быть полезной для пациентов с миелопролиферативными нарушениями, например истинной полицитемией (ИП), эссенциальной тромбоцитемией (ЭТ), миелоидной метаплазией с миелофиброзом (МММ) (Levin и др., *Cancer Cell*, vol. 7, 2005: 387-397). Ингибирование киназы JAK2V617F уменьшает пролиферацию гематopoэтических клеток, что наводит на мысль об использовании JAK2 в качестве потенциальной мишени для фармакологического ингибирования у пациентов с ИП, ЭТ и МММ.

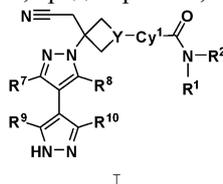
Ингибирование JAK может помочь пациентам, страдающим от иммунных заболеваний кожи, таких как псориаз и увеличение чувствительности кожи. Считается, что сохранение псориаза как болезненного состояния зависит от ряда воспалительных цитокинов в дополнение к различным хемокинам и факторам роста (JCI, 113:1664-1675), многие из которых передают сигнал через JAK (*Adv Pharmacol.* 2000; 47:113-74).

Таким образом, существует постоянная потребность в новых или улучшенных агентах, которые ингибируют такие киназы, как JAK, для разработки новых и более эффективных фармацевтических

средств, которые направлены на усиление или подавление иммунных и воспалительных сигнальных путей (таких как иммуносупрессивные агенты, использующиеся при трансплантации органов), а также агентов для профилактики и лечения аутоиммунных заболеваний, заболеваний, включающих гиперактивный воспалительный ответ (например, экземы), аллергии, раковых заболеваний (например, рака простаты, лейкоза, множественной миеломы) и некоторых иммунных ответов (например, кожной сыпи или контактного дерматита, или диареи), вызванных другими терапевтическими средствами. Соединения согласно настоящему изобретению так же, как и их композиции и способы, описанные в настоящей заявке, направлены на эти и другие потребности.

Краткое описание изобретения

В настоящем изобретении предложены, среди прочего, соединения формулы I



и их фармацевтически приемлемые соли, где Y, Cy¹, R¹, R², R⁷, R⁸, R⁹ и R¹⁰ определены ниже.

В настоящем изобретении дополнительно предложены композиции, содержащие соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

В настоящем изобретении дополнительно предложены способы модулирования активности JAK1, включающие приведение JAK1 в контакт с соединением формулы I или его фармацевтически приемлемой солью.

В настоящем изобретении дополнительно предложены способы лечения заболевания или нарушения, связанного с нарушенной экспрессией или активностью киназы у пациента путем введения пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли.

В настоящем изобретении дополнительно предложены способы лечения аутоиммунного заболевания, ракового заболевания, миелопролиферативного нарушения, миелодиспластического синдрома (МДС), воспалительного заболевания, заболевания с резорбцией кости или отторжения трансплантированного органа у пациента, нуждающегося в этом, включающие введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы I или его фармацевтически приемлемой соли.

В настоящем изобретении также предложены соединения формулы I или их фармацевтически приемлемые соли, описанные в настоящей заявке, для применения для лечения аутоиммунных заболеваний, раковых заболеваний, миелопролиферативных нарушений, миелодиспластических синдромов (МДС), воспалительных заболеваний, заболеваний с резорбцией кости или отторжения трансплантированного органа.

В настоящем изобретении также предложены соединения формулы I, описанные в настоящей заявке, или их фармацевтически приемлемых соли для применения для модулирования JAK1.

В настоящем изобретении также предложено применение соединений формулы I, описанных в настоящей заявке, или их фармацевтически приемлемых солей для получения лекарственных средств для применения в способах модулирования JAK1.

Описание чертежей

На фиг. 1 показана XRPD (порошковая рентгеновская дифрактограмма), характерная для соли из примера 14.

На фиг. 2 показана XRPD, характерная для соли из примера 15.

На фиг. 3 показана XRPD, характерная для соли из примера 16.

На фиг. 4A показана DSC (дифференциальная сканирующая калориметрия) термограмма, характерная для соли из примера 17.

На фиг. 4B показаны данные TGA (термовесовой анализ), характерные для соли из примера 17.

На фиг. 4C показана XRPD, характерная для соли из примера 17.

На фиг. 5A показана DSC термограмма, характерная для соли из примера 18.

На фиг. 5B показаны данные TGA, характерные для соли из примера 18.

На фиг. 5C показана XRPD, характерная для соли из примера 18.

На фиг. 6 показана XRPD, характерная для соли из примера 19.

На фиг. 7A показана DSC термограмма, характерная для соли из примера 20.

На фиг. 7B показаны данные TGA, характерные для соли из примера 20.

На фиг. 7C показана XRPD, характерная для соли из примера 20.

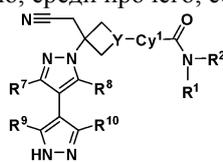
На фиг. 8A показана DSC термограмма, характерная для соли из примера 21.

На фиг. 8B показана XRPD, характерная для соли из примера 21.

На фиг. 9 показана XRPD, характерная для соли из примера 22.

Подробное описание изобретения

В настоящем изобретении предложено, среди прочего, соединение формулы I



I

или его фармацевтически приемлемая соль,

где X представляет собой CR⁴ и W представляет собой CR⁶ или X представляет собой N и W представляет собой N;

Y представляет собой N;

R¹ представляет собой C₁₋₆ алкил или C₁₋₆ галогеналкил, где указанный C₁₋₆ алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из фтора, -CF₃ и метила;

R² представляет собой H или метил;

R³ представляет собой H или F;

R⁴ представляет собой H или F;

R⁵ представляет собой H или F;

R⁶ представляет собой H или F;

R⁷ представляет собой H, метил или HO-CH₂-;

R⁸ представляет собой H или метил;

R⁹ представляет собой H, метил или этил и

R¹⁰ представляет собой H, метил, этил или HO-CH₂-.

В некоторых вариантах реализации в соединении формулы (I) X представляет собой N и W представляет собой N.

В некоторых вариантах реализации в соединении формулы (I) X представляет собой CR⁴ и W представляет собой CR⁶.

В некоторых вариантах реализации в соединении формулы (I) R⁴ представляет собой F.

В некоторых вариантах реализации в соединении формулы (I) R⁶ представляет собой F.

В некоторых вариантах реализации в соединении формулы (I) R² представляет собой H.

В некоторых вариантах реализации в соединении формулы (I) R¹ представляет собой изопропил, этил, 1-метилпропил, 2,2,2-трифтор-1-метилэтил, 2,2,2-трифторэтил или 2,2-дифторэтил.

В некоторых вариантах реализации в соединении формулы (I) R¹ представляет собой изопропил, этил, 1-метилпропил или 2,2,2-трифтор-1-метилэтил.

В некоторых вариантах реализации в соединении формулы (I) R⁸ представляет собой H.

В некоторых вариантах реализации в соединении формулы (I) R⁹ представляет собой H.

В некоторых вариантах реализации в соединении формулы (I) R⁹ представляет собой метил.

В некоторых вариантах реализации в соединении формулы (I) R¹⁰ представляет собой H.

В некоторых вариантах реализации в соединении формулы (I) R¹⁰ представляет собой метил.

В некоторых вариантах реализации в соединении формулы (I) R¹⁰ представляет собой этил.

В некоторых вариантах реализации в соединении формулы (I) R¹⁰ представляет собой HO-CH₂-.

В некоторых вариантах реализации соединение формулы (I) выбрано из

5-[3-(цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид;

5-[3-(цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид;

4-[3-(цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилбензамид;

4-[3-(цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид;

4-[3-(1H,1'H-4,4'-Бипиразол-1-ил)-3-(цианометил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида;

5-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида;

4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида;

5-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида;

5-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамида;

5-[3-(цианометил)-3-(3-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида;

5-[3-цианометил)-3-(3'-этил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамида;

4-{3-(цианометил)-3-[3'-(гидроксиметил)-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида;

4-{3-(цианометил)-3-[3-(гидроксиметил)-3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида;

или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах реализации соединение формулы (I) представляет собой 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах реализации соль выбрана из соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты;

соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и хлористоводородной кислоты;

соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и бромистоводородной кислоты и

соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и серной кислоты.

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к композиции для ингибирования активности JAK1, содержащая соединение формулы (I) или его соль, и фармацевтически приемлемый носитель.

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу ингибирования активности JAK1, включающий приведение JAK1 в контакт с соединением формулы (I) или его солью.

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу ингибирования активности JAK1, отличающийся тем, что указанное соединение или соль селективны в отношении JAK1 по сравнению с JAK2.

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения аутоиммунного заболевания, ракового заболевания, миелопролиферативного нарушения или отторжения трансплантированного органа у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемой соли, где указанное аутоиммунное заболевание связано с аномальной экспрессией или активностью JAK1, и заболевание выбирают из атопического дерматита, псориаза, увеличения чувствительности кожи, раздражения кожи, кожной сыпи, контактного дерматита, аллергического контактного дерматита, рассеянного склероза, ревматоидного артрита, псориатического артрита, ювенильного артрита, диабета I типа, волчанки, системной красной волчанки, воспалительного заболевания кишечника, болезни Крона, миастении, иммуноглобулиновых нефропатий, миокардита и аутоиммунного нарушения щитовидной железы;

указанное раковое заболевание связано с аномальной экспрессией или активностью JAK1, и заболе-

вание выбирают из солидной опухоли, рака простаты, рака почки, рака печени, рака молочной железы, рака легкого, рака щитовидной железы, саркомы Капоши, болезни Кастлемана, рака поджелудочной железы, лимфомы, лейкоза, множественной миеломы, истинной полицитемии (ИП), эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ), первичного миелофиброза (ПМФ), миелофиброза, вызванного истинной полицитемией (Пост-ИП/ЭТ МФ), миелофиброза, вызванного эссенциальной тромбоцитемией (Пост-ЭТ МФ), хронического миелогенного лейкоза (ХМЛ), хронического миеломоноцитарного лейкоза (ХММЛ), гиперэозинофильного синдрома (ГЭС), идиопатического миелофиброза (ИМФ) и системного мастоцитоза (СМЦ); и

указанное отторжение трансплантированного органа связано с аномальной экспрессией или активностью JAK1, и заболевание выбирают из отторжения аллотрансплантата и болезни "трансплантат против хозяина".

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения заболевания кожи, рассеянного склероза, ревматоидного артрита, псориазического артрита, ювенильного артрита, диабета I типа, волчанки, системной красной волчанки, воспалительного заболевания кишечника, болезни Крона, тяжелой миастении, иммуноглобулиновых нефропатий, миокардита или аутоиммунного нарушения щитовидной железы.

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения ревматоидного артрита.

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения атопического дерматита, псориаза, увеличения чувствительности кожи, раздражения кожи, кожной сыпи, контактного дерматита или сенсibilизации, обусловленной контактом с аллергеном.

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения солидной опухоли.

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения рака простаты, рака почки, рака печени, рака молочной железы, рака легкого, рака щитовидной железы, саркомы Капоши, болезни Кастлемана или рака поджелудочной железы.

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения лимфомы, лейкоза или множественной миеломы.

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения истинной полицитемии (ИП), эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ), первичного миелофиброза (ПМФ), хронического миелогенного лейкоза (ХМЛ), хронического миеломоноцитарного лейкоза (ХММЛ), гиперэозинофильного синдрома (ГЭС), идиопатического миелофиброза (ИМФ) или системного мастоцитоза (СМЦ).

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения миелофиброза.

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения первичного миелофиброза (ПМФ).

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения миелофиброза, вызванного истинной полицитемией (Пост-ИП/ЭТ МФ).

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения миелофиброза, вызванного эссенциальной тромбоцитемией (Пост-ЭТ МФ).

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения истинной полицитемии (ИП).

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения отторжения аллотрансплантата.

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения болезни "трансплантат против хозяина".

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения системной красной волчанки.

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения диабета I типа.

В некоторых вариантах реализации изобретение относится к способу лечения миелодиспластического синдрома (МДС) у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества соединения по формуле (I) или его фармацевтически приемлемой соли, где указанный миелодиспластический синдром связан с аномальной экспрессией или активностью JAK1, и заболевание выбирают из рефрактерной цитопении с однолинейной дисплазией (RCUD), рефрактерной анемии с кольцевыми сидеробластами (RARS), рефрактерной цитопении с мультилинейной дисплазией, рефрактерной анемии с избытком бластов-1 (RAEB-1), рефрактерной анемии с избытком бластов-2 (RAEB-2), неклассифицированного миелодиспластического синдрома (MDS-U) и миелодиспластического синдрома, ассоциированного с изолированной делецией (5q).

В некоторых вариантах реализации указанная соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты характеризуется при помощи DSC-термограммы, имеющей эндотермический пик при примерно 228°C. В некоторых вариантах реализации указанная соль фосфорной кислоты имеет DSC-термограмму, по существу, представленную на фиг. 4A. В некоторых вариантах реализации указанная соль фосфорной кислоты имеет по меньшей мере один пик XRPD в единицах 2-тета, выбранный из примерно 6,8, при-

19,6, примерно 21,3 и примерно 24,6°. В некоторых вариантах реализации указанная соль серной кислоты имеет по меньшей мере три пика XRPD в единицах 2-тета, выбранные из примерно 7,3, примерно 14,7, примерно 9,9, примерно 19,0, примерно 19,6, примерно 21,3 и примерно 24,6°. В некоторых вариантах реализации указанная соль серной кислоты имеет по меньшей мере три пика XRPD относительно 2-тета, выбранные из примерно 7,3, примерно 14,7, примерно 9,9, примерно 19,0, примерно 19,6, примерно 21,3 и примерно 24,6°. В некоторых вариантах реализации указанная соль серной кислоты имеет XRPD-профиль, по существу, показанный на фиг. 8В.

Различные кристаллические формы могут иметь различные кристаллические решетки (например, элементарные ячейки) и, как правило, в результате имеют различные физические свойства. Различные формы соли могут быть определены при помощи способов определения характеристик твердого вещества, таких как рентгеновская порошковая дифракция (XRPD). Другие способы определения характеристик, такие как дифференциальная сканирующая калориметрия (DSC), термогравиметрический анализ (TGA), динамическая сорбция пара (DVS) и другие, помогают дополнительно идентифицировать форму, а также определить стабильность и состав растворителя/воды.

Паттерн отражения (пики) XRPD обычно считается характерным признаком конкретной кристаллической формы. Хорошо известно, что относительные интенсивности пиков XRPD могут сильно варьировать в зависимости от, среди прочего, методов подготовки образцов, распределения кристаллов по размерам, различных используемых фильтров, процедуры установки образца и конкретного использованного прибора. В некоторых случаях, в зависимости от типа или настроек прибора, могут наблюдаться новые пики или исчезать существующие пики. Используемый в настоящей заявке термин "пик" относится к отражению, имеющему относительную высоту/интенсивность, составляющую по меньшей мере примерно 4% интенсивности/высоты максимального пика. Кроме того, вариации прибора и другие факторы могут влиять на значения 2-тета. Таким образом, распределение пиков, такое как описано в настоящей заявке, может варьировать в пределах плюс или минус примерно 0,2° (2-тета), и предполагается, что термин "по существу" и "примерно", используемый в контексте XRPD в данной заявке, охватывает приведенные выше вариации.

Таким же образом, данные температуры в привязке к DSC, TGA или другим температурным экспериментам могут варьировать в пределах $\pm 3^\circ\text{C}$ в зависимости от прибора, конкретных настроек, подготовки образца и т.д. Соответственно кристаллические формы, представленные в настоящей заявке, имеют DSC-термограмму, "по существу" показанную на любом из чертежей, или понимают, что термин "примерно" включает такую вариацию.

В некоторых вариантах реализации указанные соли, описанные в настоящей заявке, по существу выделены. Под термином "выделены по существу" понимают, что соединение, по меньшей мере частично или по существу, отделено от среды, в которой его получили или обнаружили. Частично разделенная форма может включать, например, композицию, обогащенную солями, описанными в настоящей заявке. Разделенные по существу формы могут включать композиции, содержащие по меньшей мере примерно 50 мас.%, по меньшей мере примерно 60 мас.%, по меньшей мере примерно 70 мас.%, по меньшей мере примерно 80 мас.%, по меньшей мере примерно 90 мас.%, по меньшей мере примерно 95 мас.%, по меньшей мере примерно 97 мас.% или по меньшей мере примерно 99 мас.% солей, описанных в настоящей заявке, или их солей. Способы выделения соединений и их солей широко известны в данной области техники.

Следует понимать, что определенные отличительные признаки изобретения, которые для большей ясности описаны в контексте отдельных вариантов реализации, также могут быть предложены в виде комбинации в одном варианте реализации (несмотря на это, предполагается, что варианты реализации могут быть объединены, как если бы они были описаны в виде множественно зависимых форм). И наоборот, различные отличительные признаки изобретения, которые для краткости описаны в контексте одного варианта реализации, также могут быть предложены по отдельности или в любой подходящей подкомбинации.

В различных местах представленного описания заместители соединений согласно настоящему изобретению раскрыты в группах или подмножествах. В частности, предполагается, что изобретение включает все и каждую отдельную подкомбинацию членов таких групп и подмножеств. Например, термин "C₁₋₆ алкил" специально предназначен для отдельного раскрытия метила, этила, C₃ алкила, C₄ алкила, C₅ алкила и C₆ алкила.

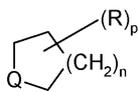
В различных местах настоящей заявки описаны линкерные заместители. Если для структуры явным образом требуется линкерная группа, то следует понимать, что линкерными группами являются переменные Маркуша, перечисленные для указанной группы. Например, если для структуры требуется линкерная группа, и определение группы Маркуша для этой переменной включает "алкил" или "арил", следует понимать, что указанный "алкил" или "арил" представляет собой линкерную алкиленовую группу или ариленовую группу соответственно.

В различных местах настоящей заявки описаны кольца (например, "пиперидиновое кольцо"). Если не указано иное, указанные кольца могут быть присоединены к остальной части молекулы при любом

члене кольца, где это позволяет валентность. Например, термин "2Н-тетрагидропирановое кольцо" может относиться к 2Н-тетрагидропиран-2-иловому, 2Н-тетрагидропиран-3-иловому, 2Н-тетрагидропиран-4-иловому кольцу и т.д.

Термин "n-членный", где n представляет собой целое число, как правило, описывает количество атомов во фрагменте, образующих кольцо, где количество атомов, образующих кольцо, составляет n. Например, 2Н-тетрагидропиран является примером 6-членного гетероциклоалкильного кольца, 1Н-1,2,4-триазол является примером 5-членного гетероарильного кольца, пиридин является примером 6-членного гетероарильного кольца, а 1,2,3,4-тетрагидронафталин является примером 10-членной циклоалкильной группы.

Для соединений согласно настоящему изобретению, в которых переменная появляется более одного раза, каждая переменная может представлять собой разные фрагменты, независимо выбранные из группы, определяющей указанную переменную. Например, когда структура описана как имеющая две R-группы, которые одновременно присутствуют в одном соединении, указанные две R-группы могут представлять собой различные фрагменты, независимо выбранные из группы, определенной для R. В другом примере, когда необязательно множественный заместитель представлен в форме



следует понимать, что заместитель R может встречаться p раз в кольце и что R может представлять собой различный фрагмент в каждом случае. Следует понимать, что каждая R-группа может замещать любой атом водорода, присоединенный к атому кольца, включая один или оба атома водорода (CH₂)_n. Кроме того, в вышеупомянутом примере, если переменная Q определена как включающая атомы водорода, например если указано, что Q представляет собой CH₂, NH и т.д., любой переменный заместитель, такой как R в примере выше, может замещать водород указанной переменной Q так же, как водород в любом другом неизменном компоненте указанного кольца.

В настоящей заявке фраза "необязательно замещенный" обозначает незамещенный или замещенный. В настоящей заявке термин "замещенный" означает, что атом водорода удален и заменен на заместитель. Следует понимать, что замещение при данном атоме ограничено его валентностью.

В настоящей заявке термин "C_{n-m} алкил", используемый отдельно или в комбинации с другими терминами, относится к насыщенному углеводородной группе, которая может быть линейной или разветвленной, содержащей от n до m атомов углерода. В некоторых вариантах реализации алкильная группа содержит от 1 до 6, от 1 до 4 или от 1 до 3 атомов углерода. Примеры алкильных фрагментов включают, без ограничения, химические группы, такие как метил, этил, n-пропил, изопропил, n-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, n-пентил, 2-метил-1-бутил, 3-пентил, n-гексил, 1,2,2-триметилпропил и т.д.

В настоящей заявке термин "алкилен", используемый сам по себе или в сочетании с другими терминами, относится к бивалентной алкиловой связывающей группе, которая может быть разветвленной или неразветвленной, и в которой указанные два заместителя могут быть присоединены в любом положении указанной алкиленовой связывающей группы. Примеры алкиленовых групп включают, без ограничения, этан-1,2-диил, пропан-1,3-диил, пропан-1,2-диил и т.д.

В настоящей заявке "C_{n-m} алкенил" относится к алкильной группе, содержащей одну или более двойных углерод-углеродных связей и от n до m атомов углерода. В некоторых вариантах реализации алкенильный фрагмент содержит от 2 до 3 атомов углерода. Примеры алкенильных групп включают, без ограничения, этенил, n-пропенил, изопроепенил, n-бутенил, втор-бутенил и т.д.

В настоящей заявке "C_{n-m} алкинил" относится к алкильной группе, содержащей одну или более тройных углерод-углеродных связей и от n до m атомов углерода. Примеры алкинильных групп включают, без ограничения, этинил, пропин-1-ил, пропин-2-ил и т.д. В некоторых вариантах реализации алкинильный фрагмент содержит от 2 до 3 атомов углерода.

В настоящей заявке термин "C₁₋₃ алкокси", используемый отдельно или в комбинации с другими терминами, относится к группе формулы -O-алкил, где алкильная группа содержит от 1 до 3 атомов углерода. Примеры алкоксигрупп включают метокси, этокси и пропокси (например, n-пропокси и изопропокси).

В настоящей заявке термин "CF₃-C₁₋₃ гидроксильный алкил" относится к группе C₁₋₃ алкил, замещенной одной группой CF₃ и одной группой OH.

Указанные C₁₋₃ группы в (C₁₋₃ алкил)₂N-, (C₁₋₃ алкил)₂N-S(=O)₂NH- и (C₁₋₃ алкил)₂N-C(=O)NH- могут быть одинаковыми или различными.

В настоящей заявке термин "карбоксил" относится к группе формулы -C(=O)OH.

В настоящей заявке термин "карбамил" относится к группе формулы -C(=O)-NH₂.

В настоящей заявке термин "C₁₋₃ алкилкарбамил" относится к группе формулы -C(=O)-NH(алкил), где алкильная группа содержит от 1 до 3 атомов углерода.

В настоящей заявке термин "ди(C₁₋₃-алкил)карбамил" относится к группе формулы -C(=O)-NH(алкил)₂, где каждая алкильная группа независимо содержит от 1 до 3 атомов углерода.

В настоящей заявке термин "НО-С_{n-m}-алкил" относится к группе формулы -алкилен-ОН, где указанная алкиленовая группа содержит от n до m атомов углерода. В некоторых вариантах реализации алкиленовая группа содержит от 1 до 3 атомов углерода.

В настоящей заявке термин "С_{o-p}-алкокси-С_{n-m}-алкил" относится к группе формулы -алкилен-О-алкил, где указанная алкиленовая группа содержит от n до m атомов углерода, и указанная алкильная группа содержит от o до p атомов углерода. В некоторых вариантах реализации каждая из групп алкила и алкилена независимо содержит от 1 до 3 атомов углерода.

В настоящей заявке "гало" или "галоген", используемый отдельно или в комбинации с другими терминами, включает фтор, хлор, бром и йод. В некоторых вариантах реализации указанная группа галогена представляет собой фтор или хлор.

В настоящей заявке термин "С_{n-m}-галогеналкил", используемый отдельно или в комбинации с другими терминами, относится к группе С_{n-m}-алкил, имеющей до {2 (от n до m)+1} атомов галогена, каждый из которых может быть одинаковым или различным. В некоторых вариантах атомы галогена представляют собой атомы фтора. В некоторых вариантах реализации алкильная группа содержит 1-6 или 1-3 атома углерода. Например, галогеналкильные группы включают CF₃, C₂F₅, CHF₂, CCl₃, CHCl₂, C₂Cl₅ и т.п. В некоторых вариантах реализации галогеналкильная группа представляет собой фторалкильную группу.

В настоящей заявке термин "С₁₋₃-фторалкил" относится к группе С₁₋₃ алкил, которая может быть полностью или частично замещена атомами фтора.

В настоящей заявке "С_{n-m}-галогеналкокси" относится к группе формулы -О-галогеналкил, содержащей от n до m атомов углерода. Примером галогеналкоксигруппы является OCF₃. В некоторых вариантах реализации галогеналкокси-группа является исключительно фторированной. В некоторых вариантах реализации алкильная группа содержит от 1 до 6 или от 1 до 4 атомов углерода.

В настоящей заявке "циано-С_{n-m}-алкил" относится к группе С_{n-m}-алкила, замещенной цианогруппой. В некоторых вариантах реализации алкильная группа содержит от 1 до 3 атомов углерода.

В настоящей заявке появление термина "моноциклический" перед названием фрагмента означает, что фрагмент содержит одно кольцо.

В настоящей заявке термин "фенилалкил" относится к группе формулы -алкиленфенил. В некоторых вариантах реализации фенилалкил представляет собой фенил-С₁₋₃ алкил.

В настоящей заявке термин "циклоалкил", используемый отдельно или в комбинации с другими терминами, относится к неароматическому циклическому углеводородному фрагменту, который может необязательно содержать одну или более алкиленовых групп в качестве части структуры кольца. Циклоалкильные группы могут включать моно- или полициклические (например, имеющую 2, 3 или 4 конденсированных, спироциклических или соединенных мостиковой группой колец) системы колец. В определение циклоалкила также включены фрагменты, содержащие одно или более ароматических колец, конденсированных (т.е. имеющих общую связь) с циклоалкильным кольцом, например бензолные производные циклопентана, циклопентена, циклогексана и т.д. Один или несколько образующих кольцо атомов углерода циклоалкильной группы могут быть окислены с образованием карбонильных связей. В некоторых вариантах реализации циклоалкил представляет собой 3-7-членный циклоалкил, который является моноциклическим или бициклическим. В некоторых вариантах реализации циклоалкил представляет собой 3-6 или 3-7 моноциклический циклоалкил. Примеры циклоалкильных групп включают 1,2,3,4-тетрагидронафталин, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклопентенил, циклогексенил, циклогексадиенил, циклогептатриенил, норборнил, норпинил, норкарнил, адамантил и т.д. В некоторых вариантах реализации циклоалкильная группа представляет собой циклопропил, циклобутил, циклопентил или циклогексил.

В настоящей заявке термин "циклоалкилалкил" относится к группе формулы -алкиленциклоалкил. В некоторых вариантах реализации циклоалкилалкил представляет собой С₃₋₇ циклоалкил-С₁₋₃ алкил, где циклоалкильная часть является моноциклической.

В настоящей заявке термин "гетероарил", используемый отдельно или в комбинации с другими терминами, относится к моноциклическому или полициклическому (например, имеющему 2, 3 или 4 конденсированных кольца) фрагменту ароматического углеводорода, содержащему один или более гетероатомов, выбранных из азота, серы и кислорода, в качестве членов кольца. В некоторых вариантах реализации гетероарил представляет собой 5-6 членный гетероарил, который является моноциклическим или бициклическим, и содержит от 1 до 5 атомов углерода и 1, 2, 3 или 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, серы и кислорода, в качестве членов кольца. Когда указанная гетероарильная группа содержит более чем один гетероатомный член кольца, гетероатомы могут быть одинаковыми или различными. Примеры гетероарильных групп включают, без ограничения, пиридин, пиримидин, пиазрин, пиадазин, пиррол, пиазол, азолил, оксазол, тиазол, имидазол, фуран, тиофен или подобные.

Пятичленное кольцо гетероарила представляет собой гетероарил, кольцо которого содержит пять атомов, где один или более (например, 1, 2 или 3) атомов в кольце независимо выбраны из N, O и S. Примерами пятичленных гетероарильных колец являются тиенил, фурил, пирролил, имидазолил, тиазолил, оксазолил, пиазолил, изотиазолил, изоксазолил, 1,2,3-триазолил, тетразолил, 1,2,3-тиадиазолил,

1,2,3-оксадиазолил, 1,2,4-триазолил, 1,2,4-тиадиазолил, 1,2,4-оксадиазолил, 1,3,4-триазолил, 1,3,4-тиадиазолил и 1,3,4-оксадиазолил.

Шестиленное кольцо гетероарила представляет собой гетероарил, в кольце которого содержится шесть атомов, где один или более (например, 1, 2 или 3) атомов в кольце независимо выбраны из N, O и S. Примерами шестиленных гетероарильных колец являются пиридил, пиразинил, пиримидинил, триазинил и пиридазинил.

В настоящей заявке термин "гетероарилалкил" относится к группе формулы -алкиленгетероарил. В некоторых вариантах реализации гетероарилалкил представляет собой 5-6 членный гетероарил- C_{1-3} алкил, в котором гетероарильная часть является моноциклической, включает от 1 до 5 атомов углерода и 1, 2, 3 или 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, серы и кислорода, в качестве членов кольца.

В настоящей заявке термин "гетероциклоалкил", используемый отдельно или в комбинации с другими терминами, относится к неароматической системе колец, которая может необязательно содержать одну или более алкениленовую или алкиниленовую группы как часть структуры кольца, и по меньшей мере один гетероатом, выбранный из азота, серы и кислорода, в качестве члена кольца. Когда указанные гетероциклоалкильные группы содержат более чем один гетероатом, указанные гетероатомы могут быть одинаковыми или различными. Гетероциклоалкильные группы могут включать моно- или полициклические (например, имеющую 2, 3 или 4 конденсированных, спироциклических или соединенных мостиковой группой кольца) системы колец. В определение гетероциклоалкила также включены фрагменты, содержащие одно или более ароматических колец, конденсированных (т.е. имеющих общую связь) с неароматическим кольцом, например 1,2,3,4-тетрагидрохиолин и т.п. Атомы углерода или гетероатомы в кольце (кольцах) указанной гетероциклоалкильной группы могут быть окислены с образованием карбонильной или сульфонильной группы (или другой окисленной связи), или атом азота может быть кватернизован. В некоторых вариантах реализации гетероциклоалкил представляет собой 4-7-членный гетероциклоалкил, являющийся моноциклическим и содержащий 2-6 атомов углерода и 1, 2, 3 или 4 гетероатома, независимо выбранных из азота, серы и кислорода, в качестве членов кольца. Примеры гетероциклоалкильных групп включают азетидин, азепан, пирролидин, пиперидин, пиперазин, морфолин, тиоморфолин, пиран и 2-оксо-1,3-оксазолидиновое кольцо.

В настоящей заявке термин "гетероциклоалкилалкил" относится к группе формулы -алкиленгетероциклоалкил. В некоторых вариантах реализации гетероциклоалкилалкил представляет собой 4-7-членный гетероциклоалкил- C_{1-3} алкил, в котором гетероциклоалкильная часть является моноциклической, включает 2-6 атомов углерода и 1, 2, 3 или 4 гетероатома, независимо выбранных из азота, серы и кислорода, в качестве членов кольца.

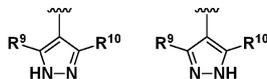
Соединения, описанные в настоящей заявке, могут быть асимметрическими (например, содержать один или более стереоцентров). Если не указано иное, подразумеваются все стереоизомеры, такие как энантиомеры и диастереомеры. Соединения согласно настоящему изобретению, содержащие асимметрически замещенные атомы углерода, можно выделять в оптически активных или рацемических формах. В данной области техники известны способы получения оптически активных форм из оптически неактивных исходных веществ, такие как разделение рацемических смесей или стереоселективный синтез. Для соединений, описанных в настоящей заявке, может существовать множество геометрических изомеров олефинов, двойных связей $C=N$ и т.д., и все указанные стабильные изомеры включены в настоящее изобретение. Описаны цис- и транс-геометрические изомеры соединений согласно настоящему изобретению, и их можно выделять в виде смеси изомеров или отдельных изомерных форм.

Разделение рацемических смесей соединений можно проводить при помощи любого из многочисленных способов, известных в данной области техники. Пример такого способа включает фракционную перекристаллизацию с использованием хиральной разделяющей кислоты, которая представляет собой оптически активную органическую кислоту, образующую соли. Подходящими разделяющими агентами для способов фракционной перекристаллизации являются, например, оптически активные кислоты, такие как D- и L-формы винной кислоты, диацетилвинной кислоты, дибензоилвинной кислоты, миндальной кислоты, яблочной кислоты, молочной кислоты или различные оптически активные камфорсульфокислоты, такие как β -камфорсульфокислота. Другие разделяющие агенты, подходящие для способов фракционной перекристаллизации, включают стереоизомерно чистые формы α -метилбензиламина (например, S- и R-формы или диастереомерно чистые формы), 2-фенилглицинола, норэфедрина, эфедрина, N-метилэфедрина, циклогексилэтиламина, 1/2-диаминоциклогексана и т.д.

Разделение рацемических смесей также можно проводить путем элюирования на колонке, заполненной оптически активным разделяющим агентом (например, динитробензоилфенилглицином). Специалисты в данной области техники могут определять подходящую композицию растворителей для элюирования.

Соединения по настоящему изобретению также включают таутомерные формы. Таутомерные формы образуются в результате перестановки одинарной связи и соседней двойной связи, сопровождающейся миграцией протона. Таутомерные формы включают прототропные таутомеры, которые представляют собой изомерные протонированные формы, имеющие одинаковую эмпирическую формулу и

суммарный заряд. Примеры прототропных таутомеров включают пары кетон-енол, пары амид-иминовая кислота, пары лактам-лактим, пары енамин-имин и кольцевые формы, где протон может занимать два или более положений гетероциклической системы, например 1Н- и 3Н-имидазол, 1Н-, 2Н- и 4Н-1,2,4-триазол, 1Н- и 2Н-изоиндол и 1Н- и 2Н-пиразол. Таутомерные формы могут существовать в равновесии или принимать одну из форм, определяемых стерическими затруднениями, при выборе соответствующего заместителя. Например, следует понимать, что следующее пиразольное кольцо может образовывать два таутомера



Предполагается, что формула изобретения охватывает оба таутомера.

Соединения согласно настоящему изобретению также могут включать все изотопы атомов, присутствующих в промежуточных или конечных соединениях. Изотопы включают атомы, имеющие одинаковые атомные номера, но различные массовые числа. Например, изотопы водорода включают тритий и дейтерий. В некоторых вариантах реализации 1, 2 или 3 CH₂-группы в азетидиновом кольце формулы I заменены на CHD или CD₂-группу. В некоторых вариантах реализации 1, 2 или 3 CH₂ или CH-группы в пиперидиновом кольце формулы I заменены на CHD, CD₂ или CD-группу соответственно. В некоторых вариантах реализации 1, 2, 3, 4 или 5 CH₂ или CH-группы в указанном пиперидиновом кольце формулы I заменены на CHD, CD₂ или CD-группу соответственно.

Подразумевается, что термин "соединение", используемый в настоящей заявке, включает все стереоизомеры, геометрические изомеры, таутомеры и изотопы изображенных структур. Кроме того, предполагается, что соединения, описанные в настоящей заявке при помощи названия или структуры как одна конкретная таутомерная форма, включают другие таутомерные формы, если конкретно не указано иное.

Все соединения и их фармацевтически приемлемые соли могут существовать совместно с другими веществами, такими как вода и растворители (например, в виде гидратов и сольватов) или могут быть выделены.

В некоторых вариантах реализации соединения согласно настоящему изобретению или их соли по существу выделены. Под "выделены по существу" понимают, что соединение, по меньшей мере частично или по существу, отделено от среды, в которой его получили или обнаружили. Частично разделенная форма может включать, например, композицию, обогащенную соединениями согласно настоящему изобретению. По существу разделенные формы могут включать композиции, содержащие по меньшей мере примерно 50, по меньшей мере примерно 60, по меньшей мере примерно 70, по меньшей мере примерно 80, по меньшей мере примерно 90, по меньшей мере примерно 95, по меньшей мере примерно 97 или по меньшей мере примерно 99 мас.% соединений согласно настоящему изобретению или их солей. Способы выделения соединений и их солей широко известны в данной области техники.

Фразу "фармацевтически приемлемый" используют в настоящей заявке для описания соединений, веществ, композиций и/или лекарственных форм, которые в рамках здравого медицинского суждения подходят для применения в контакте с тканями человека и животных, не вызывая избыточную токсичность, раздражение, аллергическую реакцию или другую проблему или осложнение, и имеют приемлемое соотношение польза/риск.

Выражения "температура окружающей среды" и "комнатная температура", используемые в настоящей заявке, являются общепринятыми в данной области техники и относятся в целом к температуре, например к температуре взаимодействия, примерно равной температуре в помещении, в котором проводят реакцию, например, к температуре от примерно 20 до примерно 30°C.

Настоящее изобретение также включает фармацевтически приемлемые соли соединений, описанных в настоящей заявке. В настоящей заявке "фармацевтически приемлемые соли" относятся к производным описанных в настоящей заявке соединений, где исходное соединение модифицировано путем превращения существующего кислотного или основного фрагмента в солевую форму. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, без ограничения, соли минеральных или органических кислот и основных остатков, таких как амины; щелочные или органические соли кислотных остатков, таких как карбоновые кислоты; и т.д. Фармацевтически приемлемые соли согласно настоящему изобретению включают нетоксичные соли исходного соединения, полученные, например, из нетоксичных неорганических или органических кислот. Фармацевтически приемлемые соли согласно настоящему изобретению можно синтезировать из исходного соединения, содержащего основной или кислотный фрагмент, при помощи традиционных химических способов. В общем случае указанные соли можно получать путем взаимодействия указанных соединений в форме свободной кислоты или основания со стехиометрическим количеством соответствующего основания или кислоты в воде или органическом растворителе или в их смеси; в целом предпочтительными являются неводные среды, такие как диэтиловый эфир, этилацетат, спирты (например, метанол, этанол, изопропанол или бутанол) или ацетонитрил (ACN). Перечень подходящих солей приведен в Remington's Pharmaceutical Sciences, 17-е изд., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, с. 1418 и Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977), содержание каждой из которых

включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации соединения, описанные в настоящей заявке, включают N-окисные формы.

Синтез.

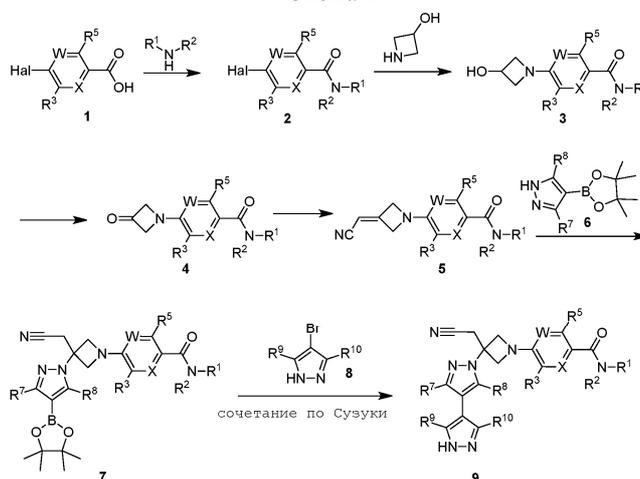
Соединения согласно настоящему изобретению, включая их соли, можно получать при помощи известных способов органического синтеза и можно синтезировать при помощи любого из различных возможных способов синтеза, наподобие тех, которые указаны в схемах ниже. Взаимодействия для получения соединений согласно настоящему изобретению можно проводить в подходящих растворителях, которые легко могут выбирать специалисты в области органического синтеза. Подходящие растворители могут по существу не взаимодействовать с исходными веществами (реагентами), промежуточными соединениями или продуктами при температурах, при которых проводят взаимодействие, например, при температурах, которые могут находиться в диапазоне от температуры замерзания растворителя до температуры кипения растворителя. Данное взаимодействие можно проводить в одном растворителе или в смеси более чем одного растворителя. Специалисты в данной области техники могут выбирать подходящие растворители для конкретной стадии взаимодействия в зависимости от конкретной стадии взаимодействия.

Получение соединений согласно настоящему изобретению может включать введение и удаление защиты различных химических групп. Специалисты в данной области техники могут легко сделать вывод о необходимости проведения и удаления защиты, а также выбрать соответствующие защитные группы. Химию защитных групп можно найти, например, в Wuts и Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 4th ed., John Wiley & Sons: New Jersey, (2007), содержание которой включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки.

За ходом реакций можно наблюдать при помощи любых подходящих способов, известных в данной области техники. Например, за образованием продукта можно наблюдать при помощи спектроскопических средств, таких как спектроскопия ядерного магнитного резонанса (например, ^1H или ^{13}C), инфракрасная спектроскопия, спектрофотометрия (например, в диапазоне УФ-видимый свет), масс-спектрометрия или при помощи хроматографических способов, таких как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) или тонкослойная хроматография (ТСХ).

Соединения формулы I могут быть синтезированы посредством методик, аналогичных приведенным в схемах ниже. Серии производных 9 бипиразола могут быть получены согласно способам, показанным на схеме 1. Ароматическая кислота 1 для удобства может быть превращена в соответствующий амид 2 с помощью амидного реагента сочетания, такого как BOP, PyOP, HATU, HBTU, EDC или CDI. Замещение уходящей группы Hal (Hal может представлять собой галоген, OTs или OTf) в 2 на 3-гидроксиазетидин для получения соединения 3 может быть достигнуто при температурных условиях в подходящем растворителе, таком как, без ограничения, ДМСО (диметилсульфоксид), диоксан, ДМФ (диметилформамид) или NMP (N-метил-2-пирролидон), в присутствии основания, такого как карбонат калия, карбонат цезия или карбонат натрия; или в условиях катализируемой медью реакции N-арилирования Ульмана с применением иодида меди (I) и карбоната калия; или в условиях катализируемой палладием реакции формирования C-N связи с применением ксантофоса, BINAP или P(o-Tol)₃ в качестве лиганда и карбонатом калия или карбонатом цезия в качестве основания, α,β -ненасыщенный нитрил 4 может быть получен при помощи реакции Виттига (Wittig) между диэтилцианометилфосфонатом и кетоном 3, который может быть получен при помощи окислением 3 по Шверну (Swern). Реакция присоединения Михаэля 6 с α,β -ненасыщенным нитрилом 5 может приводить к получению сложного эфира бороновой кислоты 7. Сочетание по Сузуки сложного эфира бороновой кислоты 7 и подходящего галида пиразола 8 может приводить к получению соответствующего производного бипиразола 9.

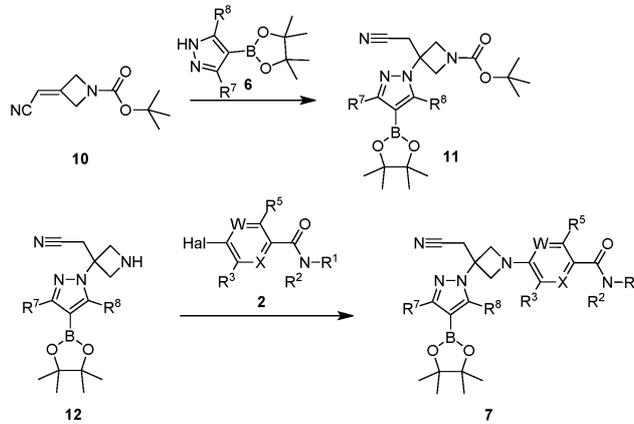
Схема 1



Некоторые производные сложного эфира бороновой кислоты 7 могут быть получены согласно ме-

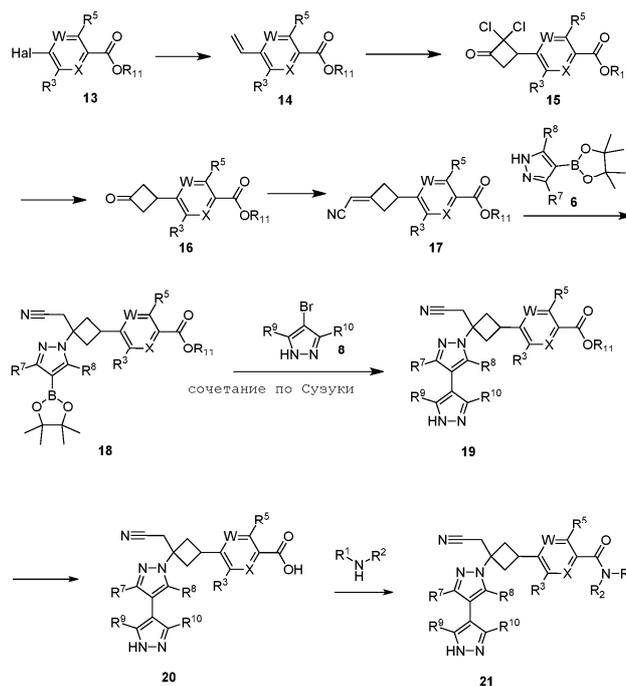
тодикам, показанным на схеме 2. Реакция присоединения Михаэля 6 с α , β -ненасыщенным нитрилом 10 может приводить к получению сложного эфира бороновой кислоты 11. Удаление Вос-группы может быть достигнуто в кислой среде с получением соответствующего амина 12. При замещении уходящей группы Hal в 2 на 12 можно получать сложный эфир бороновой кислоты 7 при температурных условиях в подходящем растворителе, таком как, без ограничения, ацетонитрил, ДМСО, диоксан, ДМФ или NMP, в присутствии основания, такого как карбонат калия, карбонат цезия, карбонат натрия, основания Хунига или DBU.

Схема 2



Некоторые производные 21 бипиразола могут быть получены согласно способам, показанным на схеме 3. Сложные галоген-ароматические эфиры 13 могут быть превращены в соответствующие алкены 14 при помощи сочетания по Сузуки сложных галоген-ароматических эфиров 13 и сложных виниловых эфиров бороновой кислоты. Алкены 14 можно подвергать взаимодействию с подходящими замещенными кетенами (такими как дихлоркетен) при 2+2 циклоприсоединении с получением дихлоркетенциклобутанонов 15. В восстанавливающих условиях (таких как цинк в уксусной кислоте при повышенной температуре) дихлоркетенциклобутаноны 15 могут быть превращены в циклобутаноны 16. α,β -Ненасыщенные нитрилы 17 могут быть образованы при помощи реакции циклобутанонов 16 с реагентом Хорнера-Уодсворта-Эммонса. Сложные эфиры 6 бороновой кислоты можно подвергать взаимодействию с α,β -ненасыщенными нитрилами 17 в условиях реакции присоединения Михаэля в присутствии агентов сочетания с получением соединений 18. Сочетание по Сузуки сложных эфиров 18 бороновой кислоты и подходящих галидов пиразола 8 может приводить к получению соответствующих производных бипиразолов 19. Гидролиз сложных эфиров 19 в основных условиях может приводить к получению кислот 20. Амиды 21 могут быть синтезированы путем сочетания кислот 20 с подходящими замещенными аминами с применением амидных агентов сочетания, таких как BOP, PyBop, HATU, HBTU, EDC или CDI.

Схема 3



Методы.

В настоящей заявке предложен способ получения солей, описанных в настоящей заявке, включающий взаимодействие 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида с кислотой, выбранной из фосфорной кислоты, хлористоводородной кислоты, бромистоводородной кислоты и серной кислоты с получением соли указанных соединений. В некоторых вариантах реализации в указанном способе используют от примерно 0,55 до 1,5 эквивалентов указанной кислоты на эквивалент 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида.

В некоторых вариантах реализации указанный способ включает взаимодействие 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида с фосфорной кислотой в компоненте-растворителе при температуре выше комнатной температуры с образованием соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты. В некоторых вариантах реализации температура составляет от примерно 40 до примерно 70°C. В некоторых вариантах реализации температура составляет от примерно 45 до примерно 55°C. В некоторых вариантах реализации компонент-растворитель содержит этанол. В некоторых вариантах реализации компонент-растворитель содержит ацетонитрил. В некоторых вариантах реализации компонент-растворитель содержит изопропанол. В некоторых вариантах реализации компонент-растворитель содержит метанол. В некоторых вариантах реализации компонент-растворитель содержит метанол и изопропанол. В некоторых вариантах реализации компонент-растворитель содержит метанол, изопропанол и н-гептан. В некоторых вариантах реализации способ дополнительно включает охлаждение смеси до комнатной температуры и фильтрацию для выделения соли. В некоторых вариантах реализации указанный способ дополнительно включает удаление части растворителя с образованием концентрированной смеси перед указанной фильтрацией. В некоторых вариантах реализации часть растворителя удаляют при помощи дистилляции.

В настоящей заявке также предложен способ получения соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты, включающий взаимодействие 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида с фосфорной кислотой в компоненте-растворителе, содержащем метанол и изопропанол, при температуре от примерно 40°C до примерно 70°C с получением смеси, включающей соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты. В некоторых вариантах реализации указанный способ дополнительно включает добавление к указанной смеси н-гептана при температуре от примерно 40 до примерно 70°C с образованием второй смеси. В некоторых вариантах реализации взаимодействие осуществляют при температуре от примерно 45 до примерно 55°C. В некоторых вариантах реализации взаимодействие осуществляют при температуре примерно 50°C.

В некоторых вариантах реализации в настоящей заявке дополнительно предложен способ получения соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты, включающий:

(а) растворение соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты в метаноле при температуре от примерно 40 до примерно 70°C с образованием первой смеси;

(б) добавление н-гептана к первой смеси при температуре от примерно 40 до примерно 70°C с образованием второй смеси и

(с) охлаждение второй смеси с получением соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты.

В некоторых вариантах реализации указанный способ согласно предшествующему варианту реализации дополнительно включает дистилляцию по меньшей мере части метанола из первой смеси перед стадией (б). В некоторых вариантах реализации указанный способ согласно предшествующему варианту реализации дополнительно включает дистилляцию по меньшей мере части метанола и/или н-гептана из второй смеси перед стадией (с). В некоторых вариантах реализации стадии (а) и (б) проводят при температуре от примерно 45 до примерно 55°C. В некоторых вариантах реализации стадии (а) и (б) проводят при температуре примерно 50°C.

В некоторых вариантах реализации указанный способ включает взаимодействие 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и хлористоводородной кислоты в компоненте-растворителе при температуре выше комнатной температуры с образованием соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и хлористоводородной кислоты. В некоторых вариантах реализации взаимодействие осуществляют при температуре, примерно

равной комнатной. В некоторых вариантах реализации компонент-растворитель содержит 2-бутанол. В некоторых вариантах реализации компонент-растворитель содержит изопропанол. В некоторых вариантах реализации компонент-растворитель содержит изопропанол и изопропилацетат. В некоторых вариантах реализации способ дополнительно включает фильтрацию для выделения соли. В некоторых вариантах реализации способ дополнительно включает промывание выделенной соли метил-трет-бутиловым эфиром.

В некоторых вариантах реализации указанный способ включает взаимодействие 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метил-этил]бензамида и бромистоводородной кислоты в компоненте-растворителе при температуре выше комнатной температуры с образованием соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и бромистоводородной кислоты. В некоторых вариантах реализации взаимодействие осуществляют при температуре, примерно равной комнатной. В некоторых вариантах реализации компонент-растворитель содержит изопропанол. В некоторых вариантах реализации компонент-растворитель содержит изопропанол и воду. В некоторых вариантах реализации способ дополнительно включает фильтрацию для выделения соли. В некоторых вариантах реализации способ дополнительно включает промывание выделенной соли метил-трет-бутиловым эфиром.

В некоторых вариантах реализации указанный способ включает взаимодействие 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и серной кислоты в компоненте-растворителе с образованием соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и серной кислоты. В некоторых вариантах реализации взаимодействие осуществляют при температуре, примерно равной комнатной температуре. В некоторых вариантах реализации компонент-растворитель содержит изопропанол. В некоторых вариантах реализации способ дополнительно включает фильтрацию для выделения соли. В некоторых вариантах реализации взаимодействие осуществляют при температуре примерно 60°C. В некоторых вариантах реализации компонент-растворитель содержит изопропанол и воду. В некоторых вариантах реализации способ дополнительно включает охлаждение смеси до комнатной температуры и фильтрацию для выделения соли. В некоторых вариантах реализации способ дополнительно включает промывание выделенной соли метил-трет-бутиловым эфиром.

Способы.

Соединения согласно настоящему изобретению являются ингибиторами JAK, и большая часть соединений согласно настоящему изобретению являются селективными ингибиторами JAK1. Селективный ингибитор JAK1 представляет собой соединение, которое ингибирует активность предпочтительно JAK1 по сравнению с другими Янус-киназами. Например, указанные соединения согласно настоящему изобретению предпочтительно ингибируют JAK1 по сравнению с одной или более из JAK2, JAK3 и TYK2. В некоторых вариантах реализации указанные соединения ингибируют предпочтительно ингибируют JAK1 по сравнению с JAK2 (например, имеют соотношение JAK1/JAK2 $IC_{50} > 1$). В некоторых вариантах реализации указанные соединения являются примерно в 10 раз более селективными по отношению к JAK1, чем к JAK2. В некоторых вариантах реализации указанные соединения являются примерно в 3, примерно в 5, примерно в 10, примерно в 15 или примерно в 20 раз более селективными по отношению к JAK1, чем к JAK2, что вычислено путем измерения IC_{50} при 1 мМ АТФ (например, см. пример А).

JAK1 играет главную роль в ряде сигнальных путей цитокинов и факторов роста, которые при нарушении регуляции могут способствовать или приводить к болезненным состояниям. Например, уровни IL-6 повышены при ревматоидном артрите, заболевании, при котором, как предполагается, это оказывает отрицательное воздействие (Fonesca, J.E. и др., *Autoimmunity Reviews*, 8:538-42, 2009). Поскольку по меньшей мере часть сигналинга IL-6 осуществляется через JAK1, ожидается, что прямое или не прямое противодействие IL-6 посредством ингибирования JAK1 обеспечит положительный клинический результат (Guschin, D., N. и др. *Embo J* 14:1421, 1995; Smolen, J.S. и др. *Lancet* 371:987, 2008). Кроме того, при некоторых раковых заболеваниях JAK1 мутирует, приводя к конститутивному нежелательному росту опухолевых клеток и их выживаемости (Mullighan C.G., *Proc Natl Acad Sci USA*. 106:9414-8, 2009; Flex E. и др. *J Exp Med*. 205:751-8, 2008). При других аутоиммунных заболеваниях и раковых заболеваниях повышенные системные уровни воспалительных цитокинов, которые активируют JAK1, могут также влиять на заболевание и/или связанные с ним симптомы. Таким образом, пациентам с такими заболеваниями может помочь ингибирование JAK1. Селективные ингибиторы JAK1 могут быть эффективными, не вызывая ненужных и потенциально нежелательных эффектов от ингибирования других JAK-киназ.

Селективные ингибиторы JAK1, относительно других JAK-киназ, могут иметь ряд терапевтических преимуществ по сравнению с менее селективными ингибиторами. Касательно селективности в отношении JAK2, сигналинг ряда важных цитокинов и факторов роста осуществляется через JAK2, включая, например, эритропоэтин (Еро) и тромбопоэтин (Тро) (Parganas E. и др. *Cell*. 93:385-95, 1998). Еро представляет собой ключевой фактор роста при производстве красных кровяных клеток; следовательно, недостаточность зависящего от Еро сигналинга может приводить к снижению числа красных кровяных клеток и анемии (Kaushansky K., *NEJM* 354:2034-45, 2006). Тро, являющийся другим примером JAK2-

зависимого фактора роста, играет главную роль в контроле пролиферации и созревания мегакариоцитов - клеток, из которых образуются тромбоциты (Kaushansky K., NEJM 354:2034-45, 2006). Соответственно уменьшение сигналинга Тро уменьшит число мегакариоцитов (мегакариоцитопения) и снизит количество циркулирующих тромбоцитов (тромбоцитопения). Это может привести к нежелательному и/или неконтролируемому кровотечению. Снижение ингибирования других JAK, таких как JAK3 и Tyk2, также может быть желательным, так как было показано, что люди, у которых отсутствует функциональная версия этих киназ, страдают от многочисленных заболеваний, таких как тяжелый комбинированный иммунодефицит или синдром гипериммунноглобулина Е (Minegishi, Y. и др. Immunity 25:745-55, 2006; Macchi P и др. Nature. 377:65-8, 1995). Таким образом, ингибитор JAK1 с уменьшенной аффинностью к другим JAK будет иметь значительные преимущества перед менее селективным ингибитором в отношении уменьшения побочных эффектов, включающих подавление иммунитета, анемию и тромбоцитопению.

Другой аспект настоящего изобретения относится к способам лечения заболевания или нарушения, связанного с JAK, у индивидуума (например, пациента) путем введения индивидууму, нуждающемуся в указанном лечении, терапевтически эффективного количества или дозы соединения согласно настоящему изобретению или его фармацевтической композиции. Заболевание, связанное с JAK, может включать любое заболевание, нарушение или состояние, которое непосредственно или косвенно связано с экспрессией или активностью JAK, включая повышенную экспрессию и/или аномальную активность. Заболевание, связанное с JAK, также может включать любое заболевание, нарушение или состояние, которое можно предотвратить, ослабить или излечить путем модуляции активности JAK.

Примеры заболеваний, связанных с JAK, включают заболевания, при которых задействована иммунная система, включая, например, отторжение трансплантированного органа (например, отторжение аллотрансплантата и болезнь "трансплантат против хозяина").

Дополнительные примеры заболеваний, связанных с JAK, включают аутоиммунные заболевания, такие как рассеянный склероз, ревматоидный артрит, ювенильный артрит, псориаз, диабет I типа, волчанка, псориаз, воспалительная болезнь кишечника, язвенный колит, болезнь Крона, тяжелая миастения, иммуноглобулиновые нефропатии, миокардит, аутоиммунные нарушения щитовидной железы, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и т.д. В некоторых вариантах реализации аутоиммунное заболевание представляет собой аутоиммунное буллезное нарушение кожи, такое как вульгарная пузырчатка (ИП) или буллезный пемфигоид (ИП).

Дополнительные примеры заболеваний, связанных с JAK, включают аллергические состояния, такие как астма, пищевые аллергии, экзематозный дерматит, контактный дерматит, атопический дерматит (атопическая экзема) и ринит.

Дополнительные примеры заболеваний, связанных с JAK, включают вирусные заболевания, такие как вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ), гепатит В, гепатит С, ВИЧ, Т-лимфотропный вирус человека 1 (HTLV 1), вирус ветряной оспы (VZV) и вирус папилломы человека (ВПЧ).

Дополнительные примеры заболеваний, связанных с JAK, включают заболевания, связанные с обновлением хряща, например подагрический артрит, септический или инфекционный артрит, реактивный артрит, рефлекторную симпатическую дистрофию, альгодистрофию, синдром Титце, артропатию ребер, деформирующий эндемический остеоартрит, болезнь Мселени, болезнь Хандигоду, дегенерацию, вызванную фибромиалгией, системную красную волчанку, склеродерму или анкилозирующий спондилит.

Дополнительные примеры заболеваний, связанных с JAK, включают врожденные дефекты хряща, включая наследственный хондролиз, хондродисплазии и псевдохондродисплазии (например, микротию, энотию и метафизическую хондродисплазию).

Дополнительные примеры заболеваний или состояний, связанных с JAK, включают нарушения кожи, такие как псориаз (например, вульгарный псориаз), атопический дерматит, кожную сыпь, раздражение кожи, увеличение чувствительности кожи (например, контактный дерматит или аллергический контактный дерматит). Например, определенные вещества, включая некоторые фармацевтические средства, при местном применении могут вызывать увеличение чувствительности кожи. В некоторых вариантах реализации совместное или последовательное введение по меньшей мере одного ингибитора JAK согласно настоящему изобретению совместно с агентом, вызывающим нежелательное увеличение чувствительности, может способствовать лечению указанного нежелательного увеличения чувствительности или дерматита. В некоторых вариантах реализации нарушение кожи подвергают лечению путем местного применения по меньшей мере одного ингибитора JAK согласно настоящему изобретению.

В дополнительных вариантах реализации заболевание, связанное с JAK, представляет собой раковое заболевание, включая заболевания, характеризующиеся солидными опухолями (например, рак простаты, рак почек, рак печени, рак поджелудочной железы, рак желудка, рак молочной железы, рак легких, раковые заболевания головы и шеи, рак щитовидной железы, глиобластома, саркому Капоши, болезнь Кастлемана, лейомиосаркому матки, меланому и т.д.), гематологические формы рака (например, лимфомы, лейкозы, такой как острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелогенный лейкоз (ОМЛ) или множественную миелому) и раковые заболевания кожи, такие как кожная Т-клеточная лимфома (КТКЛ) и кожная В-клеточная лимфома. Примеры КТКЛ включают синдром Сезари и грибовидный миелоз.

В некоторых вариантах реализации ингибиторы JAK, описанные в настоящей заявке, или их комбинации с другими ингибиторами JAK, такими как те, что описаны в заявке на патент США № 11/637545, содержание которой включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки, можно применять для лечения раковых заболеваний, связанных с воспалением. В некоторых вариантах реализации раковое заболевание связано с воспалительной болезнью кишечника. В некоторых вариантах реализации воспалительная болезнь кишечника представляет собой язвенный колит. В некоторых вариантах реализации воспалительная болезнь кишечника представляет собой болезнь Крона. В некоторых вариантах реализации раковое заболевание, связанное с воспалением, представляет собой раковое заболевание, связанное с колитом. В некоторых вариантах реализации раковое заболевание, связанное с воспалением, представляет собой рак толстой кишки или колоректальный рак. В некоторых вариантах реализации раковое заболевание представляет собой рак желудка, карциноидную опухоль желудочно-кишечного тракта, стромальную опухоль желудочно-кишечного тракта (GIST), аденокарциному, рак тонкого кишечника или рак прямой кишки.

Заболевания, связанные с JAK, могут дополнительно включать заболевания, характеризующиеся экспрессией мутантов JAK2, таких как мутанты, содержащие по меньшей мере одну мутацию домена псевдокиназы (например, JAK2V617F); мутанты JAK2, содержащие по меньшей мере одну мутацию вне домена псевдокиназы; мутанты JAK1; мутанты JAK3; мутанты рецептора эритропоэтина (EPOR); или экспрессией CRLF2 с нарушенной регуляцией.

Заболевания, связанные с JAK, могут дополнительно включать миелопролиферативные нарушения (МПН), такие как истинная полицитемия (ИП), эссенциальная тромбоцитемия (ЭТ), миелофиброз с миелоидной метаплазией (МММ), первичный миелофиброз (ПМФ), хронический миелогенный лейкоз (ХМЛ), хронический миеломоноцитарный лейкоз (ХММЛ), гиперэозинофильный синдром (ГЭС), системный мастоцитоз (СМЦ) и т.д. В некоторых вариантах реализации миелопролиферативное нарушение представляет собой миелофиброз (например, первичный миелофиброз (ПМФ) или миелофиброз, вызванный истинной полицитемией/эссенциальной тромбоцитемией (Пост-ИП/ЭТ МФ)). В некоторых вариантах реализации миелопролиферативное нарушение представляет собой миелофиброз, вызванный эссенциальной тромбоцитемией (Пост-ЭТ МФ). В некоторых вариантах реализации миелопролиферативное нарушение представляет собой миелофиброз, вызванный истинной полицитемией (Пост-ИП/ЭТ МФ)).

В некоторых вариантах реализации ингибиторы JAK, описанные в настоящей заявке, могут быть дополнительно использованы для лечения миелодиспластического синдрома (МДС) у пациента, нуждающегося в этом. В некоторых вариантах реализации, указанный пациент зависим от переливания красных кровяных клеток.

В настоящей заявке предполагается, что миелодиспластические синдромы охватывают разнородные и клональные гематопэтические расстройства, которые характеризуются неэффективным гемопоэзом по одной или более из основных миелоидных клеточных линий. Миелодиспластические синдромы связаны с недостаточностью костного мозга, цитопенией периферической крови и склонностью к развитию острого миелоидного лейкоза (ОМЛ). Кроме того, клональные цитогенетические нарушения могут быть обнаружены приблизительно в 50% случаев у пациентов с МДС. В 1997 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) в сотрудничестве с Обществом гематопатологии (SH) и Европейской ассоциацией гематопатологии (ЕАНР) предложили новые классификации для гемопоэтических опухолей (Harris и др., *J Clin Oncol* 1999; 17:3835-3849; Vardiman и др., *Blood* 2002; 100:2292-2302). Для МДС ВОЗ использовали не только морфологические критерии из Франко-Американо-Британской (FAB) классификации, но также включили известные генетические, биологические и клинические характеристики для определения подмножеств МДС (Bennett и др., *Br J Haematol* 1982; 51: 189-199). В 2008 г. ВОЗ дополнительно уточнили свою классификацию МДС (табл. 1) для обеспечения точной и прогностически актуальной подклассификации однолинейной дисплазии путем введения новой клинической и научной информации (Vardiman и др., *Blood* 2009; 114:937-951; Swerdlow и др., *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. 4th Edition. Lyon France: IARC Press; 2008:88-103; Bunn и Germing, "Myelodysplastic syndromes/neoplasms" in Chapter 5, Swerdlow, et al., eds. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*, (ed. 4th edition): Lyon, France: IARC Press; 2008:88-103).

Таблица 1

Классификация ВОЗ 2008 г. для миелодиспластического синдрома, возникающего впервые

Подтип	Кровь	Костный мозг
Рефрактерная цитопения с однолинейной дисплазией (RCUD)	Одно- или двухростковая цитопения	Дисплазия в $\geq 10\%$ из 1 клеточной линии, $< 5\%$ бластов
Рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами (RARS)	Анемия, бластов нет	$\geq 15\%$ эритроидных предшественников с кольцевыми сидеробластами, только эритроидная дисплазия, $< 5\%$ бластов
Рефрактерная анемия с мультилинейной дисплазией	Цитопения (цитопении), $< 1 \times 10^9$ /л моноцитов	Дисплазия в $\geq 10\%$ клеток в ≥ 2 гемopoэтических линий, $\pm 15\%$ кольцевых сидеробластов, $< 5\%$ бластов
Рефрактерная анемия с избытком бластов-1 (RAEB-1)	Цитопения (цитопении), $\leq 2\%$ - 4% бластов, $< 1 \times 10^9$ /л моноцитов	Однолинейная или мультилинейная дисплазия, палочек Ауэра нет, 5%-9% бластов
Рефрактерная анемия с избытком бластов-2 (RAEB-2)	Цитопения (цитопении), $\leq 5\%$ - 19% бластов, $< 1 \times 10^9$ /л моноцитов	Нелинейная или мультилинейная дисплазия, \pm палочки Ауэра, 10%-19% бластов
Миелодиспластический синдром, неклассифицированный (MDS-U)	Цитопении	Нелинейная дисплазия или отсутствие дисплазии, но характерная цитогенетика МДС, $< 5\%$ бластов
МДС, связанные с изолированной делецией (5q)	Анемия, количество тромбоцитов нормальное или	Нелинейный эритроид. Изолированная делеция (5q), $< 5\%$ бластов
	повышенное	

В некоторых вариантах реализации миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную цитопению с однолинейной дисплазией (RCUD).

В некоторых вариантах реализации миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную анемию с кольцевыми сидеробластами (RARS).

В некоторых вариантах реализации миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную цитопению с мультилинейной дисплазией.

В некоторых вариантах реализации миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную анемию с избытком бластов-1 (RAEB-1).

В некоторых вариантах реализации миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную анемию с избытком бластов-2 (RAEB-2).

В некоторых вариантах реализации миелодиспластический синдром представляет собой миелодиспластический синдром, неклассифицированный (MDS-U).

В некоторых вариантах реализации миелодиспластический синдром представляет собой миелодис-

пластический синдром, ассоциированный с изолированной делецией (5q).

В некоторых вариантах реализации миелодиспластический синдром с трудом поддается лечению при помощи стимулирующих эритропоэз агентов.

В настоящем изобретении дополнительно предложены способы лечения псориаза или других нарушений кожи путем местного применения состава, содержащего соединение согласно настоящему изобретению.

В некоторых вариантах реализации ингибиторы JAK, описанные в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения легочной артериальной гипертензии.

В настоящем изобретении дополнительно предложен способ лечения дерматологических побочных эффектов других фармацевтических средств путем введения соединения согласно настоящему изобретению. Например, различные фармацевтические агенты приводят к нежелательным аллергическим реакциям, которые могут проявляться в виде угревой сыпи или родственного дерматита. Примерами фармацевтических агентов, которые имеют такие нежелательные побочные эффекты, являются противораковые лекарственные средства, такие как gefitinib, cetuximab, erlotinib и т.п. Соединения согласно настоящему изобретению можно вводить системно или местно (например, в область, прилегающую к дерматиту) в комбинации (например, одновременно или последовательно) с указанным фармацевтическим агентом, имеющим нежелательный дерматологический побочный эффект. В некоторых вариантах реализации соединения согласно настоящему изобретению можно применять местно вместе с одним или более других фармацевтических средств, причем другие фармацевтические средства при местном применении в отсутствие соединения согласно настоящему изобретению вызывают контактный дерматит, аллергическую контактную сенсibilизацию или подобное нарушение кожи. Соответственно соединения согласно настоящему изобретению включают составы для местного применения, содержащие соединения согласно настоящему изобретению и дополнительный фармацевтический агент, который может вызывать дерматит, нарушения кожи или связанные побочные эффекты.

Дополнительные заболевания, ассоциированные с JAK, включают воспаление и воспалительные заболевания. Примеры воспалительных заболеваний включают саркоидоз, воспалительные заболевания глаз (например, ирит, увеит, склерит, конъюнктивит или родственные заболевания), воспалительные заболевания дыхательных путей (например, верхних дыхательных путей, включая нос и пазухи, такие как ринит или синусит, или нижних дыхательных путей, включая бронхит, хроническую обструктивную болезнь легких и т.д.), воспалительную миопатию, такую как миокардит, и другие воспалительные заболевания. В некоторых вариантах реализации воспалительное заболевание глаз представляет собой блефарит.

Ингибиторы JAK, описанные в настоящей заявке, также можно применять для лечения ишемического реперфузионного повреждения или заболевания или состояния, связанного с воспалительным ишемическим явлением, таким как инсульт или остановка сердца. Ингибиторы JAK, описанные в настоящей заявке, также можно применять для лечения болезненного состояния, опосредованного эндотоксинами (например, осложнений после шунтирования или хронических состояний, вызванных действием эндотоксинов, влияющих на хроническую сердечную недостаточность). Ингибиторы JAK, описанные в настоящей заявке, также можно применять для лечения анорексии, кахексии или усталости, например, вызванных или связанных с раковым заболеванием. Ингибиторы JAK, описанные в настоящей заявке, также можно применять для лечения рестеноза, склеродермии или фиброза. Ингибиторы JAK, описанные в настоящей заявке, также можно применять для лечения состояний, связанных с гипоксией или астроглиозом, таких как, например, диабетическая ретинопатия, рак или нейродегенерация; см., например, Dudley, A.C. и др. *Biochem. J.* 2005, 390(Pt 2):427-36 и Sriram, K. и др. *J. Biol. Chem.* 2004, 279(19):19936-47. Epub 2004 Mar 2, содержание которых включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылок. Ингибиторы JAK, описанные в настоящей заявке, также можно применять для лечения болезни Альцгеймера.

Ингибиторы JAK, описанные в настоящей заявке, также можно применять для лечения других воспалительных заболеваний, таких как синдром системного воспалительного ответа (SIRS) и септический шок.

Ингибиторы JAK, описанные в настоящей заявке, также можно применять для лечения подагры и увеличения размера простаты, вызванного, например, доброкачественной гипертрофией простаты или доброкачественной гиперплазией простаты.

Дополнительные заболевания, связанные с JAK, включают заболевания с резорбцией кости, такие как остеопороз, остеоартрит. Резорбция кости также может быть связана с другими состояниями, такими как гормональный дисбаланс и/или гормональная терапия, аутоиммунное заболевание (например, саркоидоз костей) или раковое заболевание (например, миелома). Снижение резорбции кости под действием ингибиторов JAK может составлять примерно 10, примерно 20, примерно 30, примерно 40, примерно 50, примерно 60, примерно 70, примерно 80 или примерно 90%.

В некоторых вариантах реализации ингибиторы JAK, описанные в настоящей заявке, также можно применять для лечения синдрома сухого глаза. Предполагается, что при использовании в настоящей заявке "синдром сухого глаза" охватывает болезненные состояния, сведенные в последнем официальном

сообщении Dry Eye Workshop (DEWS), где синдром сухого глаза определен как "многофакторное заболевание функции слезотечения и поверхности глаза, вызывающее такие симптомы, как дискомфорт, расстройство зрения и нестабильность слезной пленки, а также вероятно повреждающее поверхность глаза. Заболевание сопровождается повышенной осмолярностью слезной пленки и воспалением поверхности глаза. Источник: Lemp, "The Definition and Classification of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop", *The Ocular Surface*, 5(2), 75-92 April 2007, содержание которого включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации синдром сухого глаза выбран из синдрома сухого глаза с недостаточностью слезной жидкости (ADDE) или испарительной формы синдрома сухого глаза или их соответствующих комбинаций. В некоторых вариантах реализации синдром сухого глаза представляет собой синдром сухого глаза по типу Шегрена (SSDE). В некоторых вариантах реализации синдром сухого глаза представляет собой синдром сухого глаза нешегреновского типа (NSSDE).

Согласно дополнительному аспекту в настоящем изобретении предложен способ лечения конъюнктивита, увеита (включая хронический увеит), хориоидита, ретинита, циклита, склерита, эписклерита или ирита; лечения воспаления или боли, связанной с трансплантацией роговицы, LASIK (лазерный кератомилез *in situ*), фоторефракционной кератэктомией или LASEK (лазерный субэпителиальный кератомилез); подавления потери остроты зрения, связанной с трансплантацией роговицы, LASIK, фоторефракционной кератэктомией или LASEK; или подавления отторжения трансплантата у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения согласно настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемой соли.

Кроме того, соединения согласно настоящему изобретению или в комбинации с другими ингибиторами JAK, такими как те, что описаны в заявке на патент США № 11/637545, содержание которой включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки, можно применять для лечения дыхательной дисфункции или недостаточности, связанной с вирусной инфекцией, такой как грипп и SARS.

В некоторых вариантах реализации в настоящем изобретении предложено соединение формулы I, его фармацевтически приемлемая соль, как описано в любом из вариантов реализации в настоящем документе, для применения в способе лечения любых заболеваний или расстройств, описанных в настоящей заявке. В некоторых вариантах реализации в настоящем изобретении предложено применение соединения формулы I, как описано в любом из вариантов реализации в настоящей заявке, для получения лекарственного средства для применения в способе лечения любых заболеваний или расстройств, описанных в настоящей заявке.

В некоторых вариантах реализации в настоящем изобретении предложено соединение формулы I, описанное в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемая соль для применения в способе модуляции JAK1. В некоторых вариантах реализации в настоящем изобретении также предложено применение соединения формулы I, описанного в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства для применения в способе модуляции JAK1.

В настоящей заявке термин "приведение в контакт" относится к объединению указанных фрагментов в системе *in vitro* или в системе *in vivo*. Например, "приведение в контакт" JAK с соединением согласно настоящему изобретению включает введение соединения согласно настоящему изобретению индивидууму или пациенту, такому как человек, имеющему JAK, а также, например, введение соединения согласно настоящему изобретению в образец, содержащий клеточный или очищенный препарат, содержащий JAK.

В настоящей заявке термины "индивидуум" или "пациент", которые используют взаимозаменяемо, относятся к любым животным, включая млекопитающих, предпочтительно к мышам, крысам, другим грызунам, кроликам, собакам, кошкам, свиньям, крупному рогатому скоту, овцам, лошадям или приматам, и наиболее предпочтительно к человеку.

В настоящей заявке фраза "терапевтически эффективное количество" относится к количеству активного соединения или фармацевтического агента, которое вызывает биологический или медицинский ответ в ткани, системе, у животного, индивидуума или человека, ожидаемый исследователем, ветеринаром, врачом или другим медицинским работником. В некоторых вариантах реализации указанное терапевтически эффективное количество составляет примерно 5 до примерно 1000 мг или примерно 10 до примерно 500 мг.

В настоящей заявке термины "лечить" или "лечение" относятся к одному или более действиям, выбранным из: (1) предотвращения заболевания; например, предотвращения заболевания, состояния или нарушения у индивидуума, который может быть предрасположен к заболеванию, состоянию или нарушению, но у которого пока отсутствует или не проявилась патология или совокупность симптомов заболевания; (2) подавления заболевания; например, подавления заболевания, состояния или нарушения у индивидуума, у которого присутствует или проявилась патология или совокупность симптомов заболевания, состояния или нарушения (т.е. блокировка дополнительного развития патологии и/или совокупности симптомов); и (3) ослабления заболевания; например, ослабления заболевания, состояния или нарушения у индивидуума, у которого присутствует или проявилась патология или совокупность симптомов заболевания, состояния или нарушения (т.е. обращение вспять патологии и/или совокупности симпто-

мов), такого как снижение тяжести заболевания.

Комбинированная терапия.

Способы, описанные в настоящей заявке, могут дополнительно включать введение одного или более дополнительных терапевтических агентов. Один или более дополнительных терапевтических агентов можно вводить пациенту одновременно или последовательно.

В некоторых вариантах реализации указанный способ дополнительно включает введение дополнительного терапевтического агента, выбранного из IMiD, агента анти-IL-6, агента анти-ФНО- α , гипометилирующего агента и модификатора биологического ответа (BRM).

В целом, BRM представляют собой вещества, изготовленные из живых организмов, для лечения заболеваний, которые могут возникать в организме естественным путем, или могут быть получены в лаборатории. Примеры BRM включают IL-2, интерферон, различные типы колониестимулирующих факторов (CSF, GM-CSF, G-CSF), моноклональные антитела, такие как абциксимаб, этанерцепт, инфликсимаб, ритуксимаб, трастузумаб и высокие дозы аскорбата.

В некоторых вариантах реализации указанные агенты анти-ФНО- α представляют собой инфликсимаб и этанерцепт.

В некоторых вариантах реализации гипометилирующий агент представляет собой ингибитор ДНК-метилтрансферазы. В некоторых вариантах реализации ингибитор ДНК-метилтрансферазы выбран из 5 азацитидина и децитабина.

В целом, IMiD используют в качестве иммуномодулирующих агентов. В некоторых вариантах реализации IMiD выбран из талидомида, леналидомида, помалидомида, CC-11006 и CC-10015.

В некоторых вариантах реализации указанный способ дополнительно включает введение дополнительного терапевтического агента, выбранного из антитимоцитного глобулина, рекомбинантного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора человека (G-CSF), гранулоцитарно-моноцитарного CSF (GM-CSF), эритропоз-стимулирующего агента (ЕКА) и циклоспорина.

В некоторых вариантах реализации указанный способ дополнительно включает введение пациенту дополнительного ингибитора JAK. В некоторых вариантах реализации указанный дополнительный ингибитор JAK представляет собой тофациитиниб или руксолитиниб.

Один или более дополнительных фармацевтических агентов, таких как, например, химиотерапевтические средства, противовоспалительные агенты, стероиды, иммунодепрессанты, а также ингибиторы киназ PI3K5, mTor, Bcr-Abl, Flt-3, RAF и FAK, такие как те, что описаны в публикации WO 2006/056399, содержание которой включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки, или другие агенты можно применять в комбинации с соединениями, описанными в настоящей заявке, для лечения заболеваний, нарушений или состояний, связанных с JAK. Указанные один или более дополнительных фармацевтических агентов можно вводить пациенту одновременно или последовательно.

Примеры химиотерапевтических средств включают ингибиторы протеасомы (например, бортезомиб), талидомид, ревлимид и агенты, повреждающие ДНК, такие как мелфалан, доксорубин, циклофосфамид, винкристин, этопозид, кармустин и т.д.

Примеры стероидов включают кортикостероиды, такие как дексаметазон или преднизон.

Примеры ингибиторов Bcr-Abl включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, имеющие род и вид, раскрытые в патенте США № 5521184, WO 04/005281 и заявках на патенты США с серийным номером 60/578491, содержание всех из которых включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки.

Примеры подходящих ингибиторов Flt-3 включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, раскрытые в WO 03/037347, WO 03/099771 и WO 04/046120, содержание всех из которых включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылок.

Примеры подходящих ингибиторов RAF включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, раскрытые в WO 00/09495 и WO 05/028444, содержание всех из которых включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылок.

Примеры подходящих ингибиторов FAK включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, раскрытые в WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595 и WO 01/014402, содержание всех из которых включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылок.

В некоторых вариантах реализации одно или более соединений согласно настоящему изобретению можно применять в комбинации с одним или более другими ингибиторами киназ, включая иматиниб, в частности, для лечения пациентов с резистентностью к иматинибу или другим ингибиторам киназ.

В некоторых вариантах реализации подходящий химиотерапевтический агент может быть выбран из антиметаболитических агентов, ингибиторов топоизомеразы 1, платиносодержащих аналогов, таксанов, антрациклинов и ингибиторов EGFR, а также их сочетаний.

В некоторых вариантах реализации антиметаболитические агенты включают капецитабин, гемцитабин и фторурацил (5-FU).

В некоторых вариантах реализации таксаны включают паклитаксел, Абраксан (Abraxane®), белок-

связывающие частицы паклитаксела для инъекционной суспензии) и Таксотер (Taxotere®, доцетаксел).

В некоторых вариантах реализации платиносодержащие аналоги включают оксалиплатин, цисплатин и карбоплатин.

В некоторых вариантах реализации ингибиторы топоизомеразы I включают иринотекан и топотекан.

В некоторых вариантах реализации антрациклины включают доксорубицин или липосомные лекарственные формы доксорубицина.

В некоторых вариантах реализации указанный химиотерапевтический агент представляет собой FOLFIRINOX (5-FU, лековорин, иринотекан и оксалиплатин). В некоторых вариантах реализации указанный химиотерапевтический агент представляет собой гемцитабин и Абраксан (Abraxane®, белок-связывающие частицы паклитаксела для инъекционной суспензии).

В некоторых вариантах реализации один или более ингибиторов JAK согласно настоящему изобретению можно применять в комбинации с химиотерапевтическим средством для лечения ракового заболевания, такого как множественная миелома, что может улучшать ответ на лечение по сравнению с ответом на химиотерапевтический агент, используемый отдельно, в отсутствие обострения его токсического действия. Примеры дополнительных фармацевтических агентов, применяемых для лечения множественной миеломы, например, могут включать, без ограничений, мелфалан, мелфалан и преднизон [MP], доксорубицин, дексаметазон и Velcade (бортезомиб). Дополнительные агенты, используемые для лечения множественной миеломы, включают ингибиторы киназ Bcr-Abl, Flt-3, RAF и FAK. Аддитивное или синергическое действие является желаемым результатом объединения ингибитора JAK согласно настоящему изобретению и дополнительного агента. Кроме того, резистентность клеток множественной миеломы к агентам, таким как дексаметазон, может становиться обратимой после лечения ингибитором JAK согласно настоящему изобретению. Агенты можно объединять с соединениями согласно настоящему изобретению в лекарственной форме с однократной дозировкой или в непрерывно дозируемой лекарственной форме или же агенты можно вводить одновременно или последовательно в составе отдельных лекарственных форм.

В некоторых вариантах реализации кортикостероид, такой как дексаметазон, вводят пациенту в комбинации по меньшей мере с одним ингибитором JAK, при этом дексаметазон вводят с интервалами, но не непрерывно.

В некоторых дополнительных вариантах реализации комбинации одного или более ингибиторов JAK согласно настоящему изобретению с другими терапевтическими агентами можно вводить пациенту до, во время и/или после трансплантации костного мозга или трансплантации стволовых клеток.

В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой флуоцинолона ацетонид (Retisert®) или римексолон (AL-2178, Vexol, Alcon).

В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой циклоспорин (Restasis®).

В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой кортикостероид. В некоторых вариантах реализации кортикостероид представляет собой триамцинолон, дексаметазон, флуоцинолон, кортизон, преднизолон или флуметолон.

В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент выбран из Dehydrex™ (Holies Labs), Civamide (Opko), гиалуроната натрия (Vismed, Lantibio/TRB Chemedica), циклоспорина (ST-603, Sirion Therapeutics), ARG101(T) (тестостерон, Argentis), AGR1012(P) (Argentis), экабета натрия (Senju-Ista), гефарната (Santen), 15-(s)-гидроксизейкозатетраеновой кислоты (15(S)-НЭТЕ), цевилемина, доксициклина (ALTY-0501, Alacrity), миноциклина, iDestrin™ (NP50301, Nascent Pharmaceuticals), циклоспорина А (Nova22007, Novagali), окситетрациклина (Duramycin, MOLI1901, Lantibio), CF101 (2S,3S,4R,5R)-3,4-дигидрокси-5-[6-[(3-йодфенил)метиламино]пурин-9-ил]-N-метилоксолан-2-карбамил, Cap-Fite Biopharma), воклоспорина (LX212 или LX214, Lux Biosciences), ARG103 (Agentis), RX-10045 (синтетический аналог ресолвина, Resolvix), DYN15 (DyaHMis Therapeutics), ривоглитазона (DE011, Daiichi Sanko), TB4 (RegeneRx), OPH-01 (Opthalmis Monaco), PCS101 (Pericor Science), REV1-31 (Evolutec), Lacritin (Senju), ребамипида (Otsuka-Novartis), OT-551 (Othera), PAI-2 (университет штата Пенсильвания и университет Темпл), пилокарпина, такролимуса, пимекролимуса (AMS981, Novartis), лотепреднола этабоната, ритуксимаба, диквафозола тетраэтрия (INS365, Inspire), KLS-0611 (Kissei Pharmaceuticals), дегидроэпиандростерона, анакинра, эфализумаба, микофенолята натрия, этанерцепта (Embrel®), гидроксихлорохина, NGX267 (TogreyPines Therapeutics), актепра, гемцитабина, оксалиплатина, L-аспарагиназы или талидомида.

В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой антиангиогенный агент, холинергический агонист, модулятор рецептора TRP-1, блокатор кальциевых каналов, секретагог муцина, стимулятор MUC1, ингибитор кальциневрина, кортикостероид, агонист рецептора P2Y2, агонист мускариновых рецепторов, ингибитор mTOR, другой ингибитор JAK, ингибитор Bcr-Abl киназы, ингибитор Flt-3 киназы, ингибитор RAF киназы и ингибитор FAK киназы, такой как те, что описаны, например, в публикации WO 2006/056399, содержание которой включено в настоящую заявку

во всей полноте посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой производное тетрациклина (например, миноциклин или доксициклин). В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент связывается с FKBP12.

В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой алкилирующий агент или агент перекрестной сшивки ДНК; антиметаболит/деметилирующий агент (например, 5-фторурацил, капецитабин или азациитидин); антигормональную терапию (например, антагонисты гормональных рецепторов, СМРЭ или ингибитор ароматазы); ингибитор митоза (например, винкристин или паклитаксел); ингибитор топоизомеразы (I или II) (например, митоксантрон и иринотекан); индукторы апоптоза (например, АВТ-737); терапию с использованием нуклеиновых кислот (например, антисмысловых рибонуклеиновых кислот или интерферирующей РНК); лиганды ядерных рецепторов (например, агонисты и/или антагонисты: полностью транс-ретиноевая кислота или бексаротен); агенты направленного действия на эпигенетические метки, такие как ингибиторы деацетилазы гистонов (например, вориностат), гипометилирующие агенты (например, децитабин); регуляторы стабильности белков, такие как ингибиторы Hsp90, убиквитин и/или конъюгирующие или деконъюгирующие молекулы, подобные убиквитину; или ингибитор EGFR (эрлотиниб).

В некоторых вариантах реализации дополнительный(е) терапевтический(е) агент(ы) представляет(ют) собой глазные капли, снимающие раздражение (также известные как "искусственные слезы"), которые включают, без ограничения, композиции, содержащие поливиниловый спирт, гидроксипропилметилцеллюлозу, глицерин, полиэтиленгликоль (например, ПЭГ400) или карбоксиметилцеллюлозу. Искусственные слезы могут способствовать лечению синдрома сухого глаза за счет компенсации пониженного увлажнения и смазывания слезной пленки. В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент представляет собой муколитическое лекарственное средство, такое как N-ацетилцистеин, которое может взаимодействовать с мукопротеинами и тем самым снижать вязкость слезной пленки.

В некоторых вариантах реализации дополнительный терапевтический агент включает антибиотик, противовирусные, противогрибковые, анестезирующие, противовоспалительные агенты, включая стероидные и нестероидные противовоспалительные агенты, и противоаллергические агенты. Примеры подходящих лекарственных средств включают аминокгликозиды, такие как амикацин, гентамицин, тобрамицин, стрептомицин, нетилмицин и канамицин; фторхинолоны, такие как ципрофлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин, trovафлоксацин, ломефлоксацин, левофлоксацин и энроксацин; нафтиридин; сульфонамиды; полимиксин; хлорамфеникол; неомицин; парамомицин; колестиметат; бацитрацин; ванкомицин; тетрациклины; рифампин и его производные ("рифампины"); циклосерин; бета-лактамы; цефалоспорины; амфотерицины; флуконазол; флуцитозин; натамицин; миконазол; кетоконазол; кортикостероиды; диклофенак; флурбипрофен; кеторолак; супрофен; кромолин; лодоксамид; левокабастин; нафазолин; антазолин; фенирамин или антибиотик азалид.

Фармацевтические составы и лекарственные формы.

При использовании в качестве фармацевтических средств соединения согласно настоящему изобретению можно вводить в форме фармацевтических композиций. Указанные композиции можно получать при помощи способов, хорошо известных в области фармацевтики, и можно вводить различными путями в зависимости от необходимости местного или системного лечения и области, для которой требуется лечение. Введение может быть местным (включая чрескожное, эпидермальное, внутриглазное или введение на слизистые мембраны, включая интраназальную, внутривагинальную и ректальную доставку), внутрилегочным (например, путем ингаляции или инсуффляции порошков или аэрозолей, включая использование небулайзера; внутритрахеальное или интраназальное введение), пероральным или парентеральным. Парентеральное введение включает внутривенное, внутриартериальное, подкожное, интраперитонеальное, внутримышечное или инъекцию или инфузию; или интракраниальное, например, интракраниальное или внутрижелудочковое введение. Парентеральное введение может представлять собой введение одной дозы в форме болюса или, например, введение с использованием насоса для непрерывной инфузии. Фармацевтические композиции и составы для местного применения могут включать чрескожные пластыри, мази, лосьоны, кремы, гели, капли, суппозитории, спреи, жидкости и порошки. Применение традиционных фармацевтических носителей, водных, порошковых или масляных основ, загустителей и т.д. может быть необходимым или желательным.

Настоящее изобретение также включает фармацевтические композиции, содержащие в качестве активного ингредиента соединение согласно настоящему изобретению или его фармацевтически приемлемую соль в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями (вспомогательными веществами). В некоторых вариантах реализации композиция подходит для местного применения. При получении композиций согласно настоящему изобретению активный ингредиент, как правило, смешивают со вспомогательным веществом, разбавляют во вспомогательном веществе или заключают внутрь указанного носителя в форме, например, капсулы, саше, бумажного или иного контейнера. Если вспомогательное вещество действует как разбавитель, оно может представлять собой твердое, полутвердое или жидкое вещество, которое выступает в качестве наполнителя, носителя или среды для активного ингредиента. Таким образом, композиции могут иметь форму таблеток, пилюль, порошков, пастилок, саше, крахмальных капсул, эликсиров, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (в твердой

или жидкой среде), мазей, содержащих, например, до 10 мас.% активного соединения, мягких и твердых желатиновых капсул, суппозиторий, стерильных инъекционных растворов и стерильно упакованных порошков.

При получении состава активное соединение можно измельчать с обеспечением частиц соответствующего размера перед объединением с другими ингредиентами. Если активное соединение является по существу нерастворимым, его можно измельчать до частиц с размером менее 200 меш. Если активное соединение по существу растворимо в воде, то размер частиц можно регулировать путем измельчения для обеспечения по существу равномерного распределения в составе, например примерно до 40 меш.

Соединения согласно настоящему изобретению можно измельчать при помощи известных способов измельчения, таких как мокрое измельчение, для получения частиц, имеющих размер, подходящий для изготовления таблеток и других типов составов. Мелкодисперсные (состоящие из наночастиц) препараты соединений согласно настоящему изобретению можно получать при помощи способов, известных в данной области техники, см., например, международную заявку № WO 2002/000196.

Некоторые примеры подходящих вспомогательных веществ включают лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмалы, арабийскую камедь, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, воду, сироп и метилцеллюлозу. Составы могут дополнительно включать смазывающие агенты, такие как тальк, стеарат магния и минеральное масло; увлажнители; эмульгаторы и суспендирующие агенты; консерванты, такие как метил- и пропилгидроксibenзоаты; подсластители; и вкусоароматические добавки. Композиции согласно настоящему изобретению можно получать таким образом, чтобы обеспечивать быстрое, замедленное или отсроченное высвобождение активного ингредиента после введения пациенту, при помощи способов, известных в данной области техники.

В некоторых вариантах реализации указанная фармацевтическая композиция содержит силикатизированную микрокристаллическую целлюлозу (SMCC) и по меньшей мере одно соединение, описанное в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах реализации указанная силикатизированная микрокристаллическая целлюлоза содержит примерно 98% микрокристаллической целлюлозы и примерно 2% мас./мас. диоксида кремния.

В некоторых вариантах реализации указанная композиция представляет собой композицию с замедленным высвобождением, содержащую по меньшей мере одно соединение, описанное в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах реализации указанная композиция содержит по меньшей мере одно соединение, описанное в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере один компонент, выбранный из микрокристаллической целлюлозы, моногидрата лактозы, гидроксипропилметилцеллюлозы и полиэтиленоксида. В некоторых вариантах реализации указанная композиция содержит по меньшей мере одно соединение, описанное в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемую соль и микрокристаллическую целлюлозу, моногидрат лактозы и гидроксипропилметилцеллюлозу. В некоторых вариантах реализации указанная композиция содержит по меньшей мере одно соединение, описанное в настоящей заявке, или его фармацевтически приемлемую соль и микрокристаллическую целлюлозу, моногидрат лактозы и полиэтиленоксид. В некоторых вариантах реализации указанная композиция дополнительно содержит стеарат магния или диоксид кремния. В некоторых вариантах реализации микрокристаллическая целлюлоза представляет собой Avicel PH102™. В некоторых вариантах реализации моногидрат лактозы представляет собой Fast-flo 316™. В некоторых вариантах реализации гидроксипропилметилцеллюлоза представляет собой гидроксипропилметилцеллюлозу 2208 K4M (например, Methocel K4 M Premier™) и/или гидроксипропилметилцеллюлозу 2208 K100LV (например, Methocel K00LV™). В некоторых вариантах реализации полиэтиленоксид представляет собой полиэтиленоксид WSR 1105 (например, Polyox WSR 1105™).

В некоторых вариантах реализации для получения указанной композиции используется способ влажной грануляции. В некоторых вариантах реализации для получения указанной композиции используется способ сухой грануляции.

Указанные композиции можно получать в виде единичной лекарственной формы, где каждая дозировка содержит от примерно 1 до примерно 1000 мг, от примерно 1 до примерно 100 мг, от 1 до примерно 50 мг и от примерно 1 до 10 мг активного ингредиента. Предпочтительно дозировка составляет от примерно 1 до примерно 50 мг или от примерно 1 до примерно 10 мг активного ингредиента. В некоторых вариантах реализации каждая дозировка содержит примерно 10 мг указанного активного ингредиента. В некоторых вариантах реализации каждая дозировка содержит примерно 50 мг указанного активного ингредиента. В некоторых вариантах реализации каждая дозировка содержит примерно 25 мг указанного активного ингредиента. Термин "стандартные лекарственные формы" относится к физически раздельным формам, подходящим для введения стандартных доз субъекту-человеку и другим млекопитающим, где каждая стандартная форма содержит предварительно определенное количество активного вещества, подобранное для обеспечения желаемого терапевтического действия, совместно с подходящим фармацевтическим вспомогательным веществом.

В некоторых вариантах реализации указанные композиции содержат от примерно 1 до примерно 1000 мг, от примерно 1 до примерно 100 мг, от примерно 1 до примерно 50 мг и от примерно 1 до примерно 10 мг активного ингредиента. Предпочтительно указанные композиции содержат от примерно 1 до примерно 50 мг или от примерно 1 до примерно 10 мг активного ингредиента. Специалистам в данной области техники будет очевидно, что указанный диапазон охватывает соединения или композиции, содержащие от примерно 1 до примерно 10 мг, от примерно 1 до примерно 20 мг, от примерно 1 до примерно 25 мг, от примерно 1 до примерно 50 мг указанного активного ингредиента.

Активное соединение может быть эффективным в широком диапазоне дозировок, и в общем случае его вводят в фармацевтически эффективном количестве. Тем не менее, следует понимать, что фактически вводимое количество соединения обычно определяется лечащим врачом с учетом важных факторов, включая состояние, подвергающееся лечению, выбранный путь введения, фактическое вводимое соединение, возраст, массу тела и ответ каждого пациента, тяжесть симптомов пациента и т.д.

Для получения твердых композиций, таких как таблетки, основной активный ингредиент смешивают с фармацевтическим вспомогательным веществом с образованием твердой предварительной композиции, содержащей гомогенную смесь соединения согласно настоящему изобретению. Если указанные предварительные композиции называют гомогенными, это означает, что активный ингредиент, как правило, равномерно распределен по композиции таким образом, чтобы композицию можно было легко разделять на стандартные лекарственные формы, обладающие равной эффективностью, такие как таблетки, пилюли и капсулы. Указанный твердый предварительный состав затем делят на единичные лекарственные формы описанного выше типа, содержащие, например, от примерно 0,1 до примерно 1000 мг активного ингредиента согласно настоящему изобретению.

Таблетки или пилюли согласно настоящему изобретению могут быть покрыты оболочкой или получены иным образом для обеспечения лекарственной формы, обладающей преимуществом продолжительного действия. Например, таблетка или пилюля может содержать внутренний дозируемый и внешний дозируемый компонент, причем последний образует оболочку вокруг первого. Два компонента могут быть разделены кишечнорастворимым слоем, который служит для противостояния распаду в желудке и обеспечивает попадание внутреннего компонента непосредственно в двенадцатиперстную кишку в отсутствие нежелательных взаимодействий или задержки его высвобождения. В качестве указанных кишечнорастворимых слоев или оболочек можно применять ряд материалов, включая различные полимерные кислоты и смеси полимерных кислот с такими материалами, как шеллак, цетиловый спирт и ацетат целлюлозы.

Жидкие формы, в которые можно включать соединения и композиции согласно настоящему изобретению, предназначенные для перорального введения или инъекции, включают водные растворы, подходящие ароматизированные сиропы, водные или масляные суспензии и ароматизированные эмульсии с пищевыми маслами, такими как хлопковое масло, кунжутное масло, кокосовое масло или арахисовое масло, а также эликсиры и схожие фармацевтические носители.

Композиции для ингаляции или инсuffляции включают растворы и суспензии в фармацевтически приемлемых водных или органических растворителях или их смесях и порошки. Жидкие или твердые композиции могут содержать подходящие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, такие как описано выше. В некоторых вариантах реализации композиции вводят в дыхательные пути перорально или через нос для обеспечения местного или системного действия. Композиции можно распылять с использованием инертных газов. Распыляемые растворы можно вдыхать непосредственно из распыляющего устройства или же распыляющее устройство может быть присоединено к маскам, тампону или дыхательному аппарату с прерывистым положительным давлением. Композиции в виде раствора, суспензии или порошка можно вводить перорально или интраназально с использованием устройств, обеспечивающих доставку состава подходящим образом.

Составы для местного применения могут содержать один или более традиционных носителей. В некоторых вариантах реализации мази могут содержать воду и один или более гидрофобных носителей, выбранных, например, из жидкого парафина, простого алкильного эфира полиоксипропилена, пропиленгликоля, белого вазелина и т.д. Композиции носителей в кремах могут быть получены на основе воды в комбинации с глицерином и одним или более другими компонентами, например глицерилмоностеаратом, ПЭГ-глицерилмоностеаратом и цетостеариловым спиртом. Гели можно получать с использованием изопропилового спирта и воды в комбинации с другими подходящими компонентами, такими как, например, глицерин, гидроксипропилцеллюлоза и т.д. В некоторых вариантах реализации составы для местного применения содержат по меньшей мере примерно 0,1, по меньшей мере примерно 0,25, по меньшей мере примерно 0,5, по меньшей мере примерно 1, по меньшей мере примерно 2 или по меньшей мере примерно 5 мас.% соединения согласно настоящему изобретению. Составы для местного применения могут быть упакованы в подходящие, например, 100-г тубы, которые необязательно содержат инструкции для лечения при выбранном показании, например, при псориазе или другом состоянии кожи.

Количество соединения или композиции, которое вводят пациенту, может быть различным в зависимости от вводимого соединения, задачи введения, такой как профилактика или терапия, состояния пациента, способа введения и т.д. Для терапевтических применений композиции можно вводить пациенту,

уже страдающему от заболевания, в количестве достаточном для излечения или, по меньшей мере частичного, подавления симптомов заболевания и его осложнений. Эффективные дозы зависят от болезненного состояния, подвергающегося лечению, а также от выбора лечащего врача, основанного на таких факторах, как тяжесть заболевания, возраст, масса тела и общее состояние здоровья пациента и т.д.

Композиции, вводимые пациенту, могут иметь форму фармацевтических композиций, описанных выше. Указанные композиции можно стерилизовать при помощи традиционных способов стерилизации или путем стерильного фильтрования. Водные растворы могут быть упакованы для применения в том виде, как они есть, или лиофилизированы, причем лиофилизированный состав объединяют со стерильным водным раствором перед введением. pH препаратов соединения, как правило, составляет от 3 до 11, более предпочтительно от 5 до 9 и наиболее предпочтительно от 7 до 8. Следует понимать, что применение определенных указанных выше вспомогательных веществ, носителей или стабилизаторов будет приводить к образованию фармацевтических солей.

Терапевтическая дозировка соединения согласно настоящему изобретению может изменяться в зависимости, например, от конкретного предназначения способа лечения, способа введения соединения, состояния здоровья и болезненного состояния пациента и выбора лечащего врача. Содержание или концентрация соединения согласно настоящему изобретению в фармацевтической композиции могут быть различными в зависимости от ряда факторов, включая дозировку, химические характеристики (например, гидрофобность) и способ введения. Например, соединения согласно настоящему изобретению могут быть представлены в водном физиологическом буферном растворе, содержащем от примерно 0,1 до примерно 10% (мас./об.) соединения, для парентерального введения. Некоторые типовые диапазоны дозировок составляют от примерно 1 мкг/кг до примерно 1 г/кг массы тела в день. В некоторых вариантах реализации диапазон дозировок составляет от примерно 0,01 мг/кг до примерно 100 мг/кг массы тела в день. Можно предположить, что дозировка зависит от таких переменных как тип и степень прогрессирования заболевания или нарушения, общее состояние здоровья конкретного пациента, относительная биологическая эффективность выбранного соединения, состав вспомогательных веществ и способ введения. Эффективные дозы можно получать путем экстраполяции кривых зависимости доза-ответ, полученных при исследовании систем *in vitro* или на животных моделях.

Композиции согласно настоящему изобретению могут дополнительно содержать один или более дополнительных фармацевтических агентов, таких как химиотерапевтический агент, стероид, противовоспалительное соединение или иммунодепрессант, примеры которых перечислены в настоящей заявке выше.

В некоторых вариантах реализации соединение или его фармацевтически приемлемую соль вводят в форме офтальмологической композиции. Соответственно в некоторых вариантах реализации способы включают введение соединения или его фармацевтически приемлемой соли и офтальмологически приемлемого носителя. В некоторых вариантах реализации указанная офтальмологическая композиция представляет собой жидкую композицию, полутвердую композицию, вкладыш, пленку, микрочастицы или наночастицы.

В некоторых вариантах реализации офтальмологическая композиция представляет собой жидкую композицию. В некоторых вариантах реализации офтальмологическая композиция представляет собой полутвердую композицию. В некоторых вариантах реализации офтальмологическая композиция представляет собой композицию для местного применения. Указанные композиции для местного применения включают, без ограничения, жидкие и полутвердые композиции. В некоторых вариантах реализации офтальмологическая композиция представляет собой композицию для местного применения. В некоторых вариантах реализации указанная композиция для местного применения содержит водный раствор, водную суспензию, мазь или гель. В некоторых вариантах реализации указанную офтальмологическую композицию наносят местно на переднюю часть глаза, под верхнее веко, на нижнее веко и в слепой мешок. В некоторых вариантах реализации указанная офтальмологическая композиция стерилизована. Стерилизация может быть выполнена при помощи известных способов, таких как стерилизация фильтрацией раствора или при помощи нагревания раствора в ампуле, готовой для использования. Указанные офтальмологические композиции согласно настоящему изобретению могут дополнительно содержать фармацевтические вспомогательные вещества, подходящие для получения офтальмологических составов. Примерами таких вспомогательных веществ являются консервирующие агенты, буферные агенты, хелатирующие агенты, агенты-антиоксиданты и соли для регуляции осмотического давления.

Используемый в настоящей заявке термин "офтальмологически приемлемый носитель" относится к любому веществу, которое может содержать и высвобождать соединение или его фармацевтически приемлемую соль, и которое совместимо с глазом. В некоторых вариантах реализации указанный офтальмологически приемлемый носитель представляет собой воду или водный раствор или суспензию, но также включает масла, такие как те, что используются для приготовления мазей, и полимерные матрицы, такие как используемые в глазных вставках. В некоторых вариантах реализации композиция может представлять собой суспензию, содержащую соединение или его фармацевтически приемлемую соль. Жидкие офтальмологические композиции, включая мази и суспензии, могут иметь вязкость, которая подходит для выбранного способа введения. В некоторых вариантах реализации указанная офтальмологическая

композиция имеет вязкость в диапазоне от примерно 1000 до примерно 30000 сП.

В некоторых вариантах реализации указанные офтальмологические композиции могут дополнительно содержать одно или несколько поверхностно-активных веществ, адъювантов, буферов, антиоксидантов, регуляторов тоничности, консервантов (например, ЭДТА, БАК (хлорид бензалкония), хлорит натрия, перборат натрия, поликватериум-1), загустители или модификаторы вязкости (например, карбоксиметилцеллюлозу, гидроксиметилцеллюлозу, поливиниловый спирт, полиэтиленгликоль, гликоль 400, пропиленгликольгидроксиметилцеллюлозу, гидроксипропил-гуар, гиалуроновую кислоту и гидроксипропилцеллюлозу) и т.д. Добавки в указанном составе могут включать, без ограничения, хлорид натрия, бикарбонат натрия, сорбиновую кислоту, метилпарабен, пропилпарабен, хлоргексидин, касторовое масло и перборат натрия.

Водные офтальмологические композиции (растворы или суспензии) в целом не содержат физиологически или офтальмологически вредных компонентов. В некоторых вариантах реализации в указанных композициях используется очищенная или деионизированная вода. pH можно регулировать, добавляя любые физиологически или офтальмологически приемлемые регулирующие pH кислоты, основания или буферы, в пределах диапазона примерно от 5,0 до 8,5. Примерами офтальмологически приемлемых кислот являются уксусная, борная, лимонная, молочная, фосфорная, хлористоводородная и т.п., а примерами оснований являются гидроксид натрия, фосфат натрия, борат натрия, цитрат натрия, ацетат натрия, лактат натрия, трометамин, трисгидроксиметиламинометан и т.п. Соли и буферы включают цитрат/декстрозу, бикарбонат натрия, хлорид аммония и смеси вышеупомянутых кислот и оснований.

В некоторых вариантах реализации способы включают получение или доставку депо-формы терапевтического агента в контакт с внешней поверхностью глаза. Депо-форма относится к источнику терапевтического агента, который не может быть быстро удален при помощи слез или других механизмов очистки глаза. Это позволяет продолжительно поддерживать высокую концентрацию терапевтического агента в жидкости на внешней поверхности глаза при однократном применении. Не желая быть связанными какой-либо теорией, полагают, что поглощение и проникновение могут зависеть от концентрации растворенного лекарственного средства и продолжительности контакта внешней ткани с жидкостью, содержащей лекарственное средство. Так как лекарственное средство удаляется при помощи глазной жидкости и/или абсорбции в ткани глаза, предоставляется больше лекарственного средства, например, растворенного в возобновляемой глазной жидкости из депо. Соответственно использование депо-формы может сильно облегчить нанесение на ткань глаза более нерастворимых терапевтических агентов. В некоторых вариантах реализации депо-форма может задерживаться до 8 ч и более. В некоторых вариантах реализации офтальмологические депо-формы включают, без ограничения, водные полимерные суспензии, мази и вкладыши из твердого вещества.

В некоторых вариантах реализации офтальмологическая композиция представляет собой мазь или гель. В некоторых вариантах реализации офтальмологическая композиция представляет собой носитель на основе масла. В некоторых вариантах реализации композиции содержит нефтяную или ланолиновую основу, к которой добавлен активный ингредиент, обычно от 0,1 до 2%, и вспомогательные вещества. Типичные основы могут включать, без ограничения, минеральное масло, вазелин и их комбинации. В некоторых вариантах реализации мазь наносят в виде ленты на нижнее веко.

В некоторых вариантах реализации офтальмологическая композиция представляет собой глазной вкладыш. В некоторых вариантах реализации указанный глазной вкладыш представляет собой биологически инертный, мягкий, биоразлагаемый, устойчивый к стерилизации после взаимодействия с терапевтическими агентами, устойчивый к инфекциям, вызываемым бактериями, передающимися воздушным путем, биоразлагаемый, биосовместимый и/или вязкоупругий вкладыш. В некоторых вариантах реализации указанный вкладыш содержит офтальмологически приемлемую матрицу, например полимерную матрицу. Указанная матрица обычно представляет собой полимер, и терапевтический агент обычно диспергирован в нем или присоединен к полимерной матрице. В некоторых вариантах реализации терапевтический агент может медленно высвобождаться из указанной матрицы за счет высвобождения или гидролиза ковалентной связи. В некоторых вариантах реализации полимер биоразлагаем (растворим), и скорость его растворения может контролировать скорость высвобождения терапевтического агента, диспергированного в нем. В другой форме указанная полимерная матрица представляет собой биоразлагаемый полимер, который разрушается при гидролизе, тем самым высвобождая указанный терапевтический агент, присоединенный к ней или диспергированный в ней. В дополнительных вариантах реализации указанная матрица и лекарственное средство могут быть покрыты дополнительным полимерным покрытием в целях дополнительного контроля высвобождения. В некоторых вариантах реализации вкладыш содержит биоразлагаемый полимер, такой как поликапролактон (PCL), сополимер этилена/винилацетата (EVA), полиалкилцианокрилат, полиуретан, нейлон или сополимер dl-лактида и гликолида (PLGA) или сополимер любых из них. В некоторых вариантах реализации терапевтический агент диспергирован в материале матрицы или диспергирован в мономерной композиции, используемой для изготовления материала матрицы перед полимеризацией. В некоторых вариантах реализации количество терапевтического агента составляет от примерно 0,1 до примерно 50% или от примерно 2 до примерно 20%. В дополнительных вариантах реализации биоразлагаемую или биоэродируемую полимерную матрицу используют

таким образом, что отработанный вкладыш не нужно удалять. По мере того как указанный биоразлагаемый или биоэродируемый полимер разрушается или растворяется, высвобождается указанный терапевтический агент.

В дополнительных вариантах реализации офтальмологической вкладыш содержит полимер, включающий, без ограничения, полимеры, описанные в Wagh и др., "Polymers used in ocular dosage form and drug delivery systems", *Asian J. Pharm.*, с. 12-17 (Jan. 2008), содержание которого включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации указанный вкладыш содержит полимер, выбранный из поливинилпирролидона (ПВП), полимера или сополимера акрилата или метакрилата (например, семейство полимеров Eudragit® от Rohm и Degussa), гидроксиметилцеллюлозы, полиакриловой кислоты, поли(амидоамин) дендримеров, поли(диметилсилоксана), полиэтиленоксида, сополимер лактида и гликолида, поли(2-гидроксиэтилметакрилата), поли(винилового спирта) или поли(пропиленфумарата). В некоторых вариантах реализации указанный вкладыш содержит Gelfoam® R. В некоторых вариантах реализации указанный вкладыш представляет собой конъюгат полиакриловой кислоты и 450 кДа-цистеина.

В некоторых вариантах реализации офтальмологическая композиция представляет собой офтальмологическую пленку. Полимеры, подходящие для таких пленок включают, без ограничения, те, которые описаны в Wagh и др. (ibid), В некоторых вариантах реализации указанная пленка представляет собой мягкие контактные линзы, такие как составленные из сополимеров N,N-диэтилакриламида и метакриловой кислоты, сшитые с этиленгликольдиметакрилатом.

В некоторых вариантах реализации указанная офтальмологическая композиция содержит микросферы или наночастицы. В некоторых вариантах реализации указанные микросферы содержат желатин. В некоторых вариантах реализации указанные микросферы вводят в задний сегмент глаза, в хороидальное пространство, в склеру, стекловидное тело или субретинально. В некоторых вариантах реализации указанные микросферы или наночастицы содержат полимер, включающий, без ограничения, описанные в Wagh и др. (ibid), содержание которого включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации указанный полимер представляет собой хитозан, поликарбонную кислоту, такую как полиакриловая кислота, частицы альбумина, сложные эфиры гиалуроновой кислоты, полиитаконную кислоту, поли(бутил)цианоакрилат, поликапролактон, поли(изобутил)капролактон, сополимер молочной кислоты и гликолевой кислоты или поли(молочная кислота). В некоторых вариантах реализации указанные микросферы или наночастицы состоят из твердых частиц липидов.

В некоторых вариантах реализации указанная офтальмологическая композиция содержит ионообменную смолу. В некоторых вариантах реализации указанная ионообменная смола представляет собой неорганический цеолит или синтетическую органическую смолу. В некоторых вариантах реализации указанная ионообменная смола включает, без ограничения, описанные в Wagh и др. (ibid), содержание которого включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки. В некоторых вариантах реализации указанная ионообменная смола представляет собой частично нейтрализованную полиакриловую кислоту.

В некоторых вариантах реализации указанная офтальмологическая композиция представляет собой водную полимерную суспензию. В некоторых вариантах реализации терапевтический агент или полимерный суспендирующий агент суспендирован в водной среде. В некоторых вариантах реализации указанные водные полимерные суспензии могут быть приготовлены таким образом, что в глазу они сохраняют ту же или по существу ту же вязкость, какую они имели до введения в глаз. В некоторых вариантах реализации они могут быть составлены таким образом, что при контакте со слезной жидкостью они густеют.

Меченые соединения и способы анализа.

Другой аспект настоящего изобретения относится к меченым соединениям согласно настоящему изобретению (радиоизотопно-меченые, флуоресцентно-меченые и пр.), которые можно применять не только в способах обнаружения и обработки изображений, но также в анализах, *in vitro* и *in vivo*, для локализации и количественного анализа JAK в образцах тканей, включая ткани человека, и для определения лигандов JAK путем ингибирования связывания меченого соединения. Соответственно в настоящее изобретение включены анализы JAK, которые включают такие меченые соединения.

В настоящее изобретение дополнительно включены меченые изотопами соединения согласно настоящему изобретению. "Меченое изотопами" или "радиоизотопно-меченое" соединение согласно настоящему изобретению, в котором один или более атомов заменены атомом, имеющим атомную массу или массовое число, отличные от атомной массы или массового числа, обычно встречающихся в природе (т.е. распространенных в природе). Подходящие радионуклиды, которые могут быть включены в соединения согласно настоящему изобретению включают, без ограничения, ^3H (также указываемый как T для трития), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{18}F , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{82}Br , ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I и ^{131}I . Конкретный радионуклид, который включен в настоящие радиоизотопно-меченые соединения, будет зависеть от конкретного применения этого радиоактивно-меченого соединения. Например, для мечения JAK *in vitro* и сравнительного анализа будут наиболее пригодны соединения, которые содержат ^3H , ^{14}C , ^{82}Br , ^{125}I , ^{131}I ,

³⁵S. Для применения при получении изображений, полученных с использованием радиоизотопного мечення, ¹¹C, ¹⁸F, ¹²⁵I, как правило, будут наиболее пригодны ¹²³I, ¹²⁴I, ¹³¹I, ⁷⁵Br, ⁷⁶Br или ⁷⁷Br.

Следует понимать, что "радиоизотопно-меченое" или "меченое соединение" представляет собой соединение, в которое включен по меньшей мере один радиоизотоп. В некоторых вариантах реализации указанный радиоизотоп выбран из группы, состоящей из ³H, ¹⁴C, ¹²⁵I, ³⁵S и ⁸²Br. В некоторых вариантах реализации указанное соединение включает 1, 2 или 3 атома дейтерия.

Настоящее изобретение может дополнительно включать способы синтеза для включения радиоизотопов в соединения согласно настоящему изобретению. Способы синтеза для включения радиоизотопов в органические соединения хорошо известны в данной области техники, и специалист в данной области техники легко поймет, какие способы применимы для соединений согласно настоящему изобретению.

Меченое соединение согласно настоящему изобретению может применяться в скрининговом анализе для идентификации/оценки соединений. Например, меченое, вновь синтезированное или идентифицированное соединение (то есть тестовое соединение) может быть оценено по его способности связывать JAK путем наблюдения за изменениями его концентрации при приведении в контакт с JAK, через отслеживание метки. Например, тестовое соединение (меченое) может быть оценено по его способности уменьшать связывание другого соединения, которое, как известно, связывает JAK (то есть стандартное соединение). Соответственно способность тестового соединения конкурировать со стандартным соединением за связывание с JAK, напрямую коррелирует с его аффинностью связывания. И наоборот, в некоторых других скрининговых анализах стандартное соединение помечено, а тестовое соединение не помечено. Соответственно концентрация меченого стандартного соединения находится под наблюдением для того, чтобы оценить конкуренцию между стандартным соединением и тестовым соединением, а также оценить относительную аффинность связывания тестового соединения.

Наборы.

Настоящее изобретение также включает фармацевтические наборы, подходящие, например, для лечения или предотвращения заболеваний или нарушений, ассоциированных с JAK, таких как раковые заболевания, причем указанные наборы содержат один или более контейнеров, содержащих фармацевтическую композицию, содержащую терапевтически эффективное количество соединения согласно настоящему изобретению. При необходимости указанные наборы могут дополнительно включать один или более различных традиционных компонентов фармацевтических наборов, таких как, например, контейнеры с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями, дополнительные контейнеры и т.д., что должно быть понятно специалистам в данной области техники. Также в наборе могут содержаться инструкции, представленные в виде вкладышей или этикеток, в которых указаны вводимые количества компонентов, инструкции по введению и/или инструкции по смешению компонентов.

Далее изобретение будет более подробно описано при помощи конкретных примеров. Следующие примеры приведены в целях иллюстрации и не ограничивают изобретение каким-либо образом. Специалистам в данной области техники будут очевидны различные не критические параметры, которые можно изменять или модифицировать для достижения по существу таких же результатов. Было обнаружено, что соединения, приведенные в примерах, являются ингибиторами JAK в соответствии по меньшей мере с одним анализом, описанным в настоящей заявке.

Примеры

Ниже приведены экспериментальные методики для соединений согласно настоящему изобретению. Очистка некоторых из полученных соединений была проведена при помощи ЖХ-МС со свободным доступом с использованием систем фракционирования с определением массовой концентрации Waters. Базовые настройки оборудования, протоколы и управляющее программное обеспечение для функционирования этих систем ранее были подробно описаны в литературе; см., например, "Two-Pump At Column Dilution Configuration for Preparative LC-MS", K. Blom, J. Combi. Chem., 4, 295 (2002); "Optimizing Preparative LC-MS Configurations and Methods for Parallel Synthesis Purification", K. Blom, R. Sparks, J. Doughty, G. Everlof, T. Haque, A. Combs, J. Combi. Chem., 5, 670 (2003); и "Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Combi. Chem., 6, 874-883 (2004). Разделенные соединения обычно подвергали жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ЖХМС) для очистки при следующих условиях: Прибор: Agilent 1100 series, LC/MSD, Колонка: Waters Sunfire™ C₁₈ 5 мкм, 2,1×5,0 мм, Буферы: подвижная фаза А: 0,025% ТФУ в воде, и подвижная фаза В: 0,025% ТФУ в ацетонитриле, градиент от 2 до 80% за 3 мин, с расходом 1,5 мл/мин.

Некоторые из полученных соединений были также разделены в препаративном масштабе при помощи высокопроизводительной обращенно-фазной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ) с детектором MS или флэш-хроматографии (силикагель), как показано в примерах. Типичные характеристики препаративной колонки для высокопроизводительной обращенно-фазной жидкостной хроматографии (ОФ-ВЭЖХ):

pH 2, очистки: Waters Sunfire™ C₁₈ 5 мкм, колонка 19×100 мм, элюирование подвижной фазой А: 0,1% ТФУ (трифторуксусная кислота) в воде, и подвижная фаза В: ацетонитрил; скорость потока составляла 30 мл/мин, разделительный градиент был оптимизирован для каждого соединения с использованием

протокола соединение-специфической оптимизации способа (Compound Specific Method Optimization protocol), описанного в литературе [См. "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Comb. Chem., 6, 874-883 (2004)]. Обычно с колонкой 30×100 мм использовали скорость потока 60 мл в 1 мин;

pH 10, очистки: Waters XBrodge C₁₈ 5 мкм, колонка 19×100 мм, элюирование подвижной фазой А: 0,15% NH₄OH в воде, и подвижная фаза В: ацетонитрил, скорость потока составляла 30 мл/мин, разделительный градиент был оптимизирован для каждого соединения с использованием протокола соединение-специфической оптимизации способа, описанного в литературе [см. "Preparative LCMS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization", K. Blom, B. Glass, R. Sparks, A. Combs, J. Comb. Chem., 6, 874-883 (2004)]. Обычно с колонкой 30×100 мм использовали скорость потока 60 мл в 1 мин.

Некоторые из полученных соединений также анализировали при помощи дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC). Типичная конфигурация прибора для DSC.

Дифференциальный сканирующий калориметр фирмы TA Instruments, модель Q200 с автосэмплером. Основные условия: 30-350°C при 10°C/мин; Т нулевой алюминиевый тигель с образцом и крышка; поток газообразного азота 50 мл/мин.

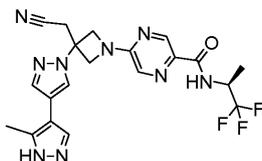
Некоторые из полученных соединений также анализировали при помощи термogrавиметрического анализа (TGA). Типичная конфигурация прибора для TGA указана ниже.

Термогравиметрический анализатор TA Instrument, модель Q500. Основные условия способа: нагрев от 20 до 600°C при 20°C/мин; продувка азотом, поток газа при 40 мл/мин достигается балансировкой потока поддувки; продувка образца поток при 60 мл/мин; платиновый тигель с образцом.

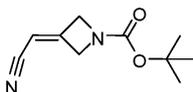
Некоторые из полученных соединений также анализировали при помощи порошковой рентгеновской дифракции (XRPD). Типичная конфигурация прибора для XRPD.

Порошковый рентгеновский дифрактометр (XRPD) Rigaku MiniFlex. Общие экспериментальные методики: рентгеновское излучение меди при 1,054056 Å с K_β фильтром, мощность рентгеновского излучения 30 кВ, 15 мА; порошок образца рассеивается на держателе для образца с нулевым фоном. Основные условия измерения: начальный угол - 3°; конечный угол - 45°; отбор образца - 0,02°; скорость сканирования - 2°/мин.

Пример 1. 5-[3-(Цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамидтрифторацетат

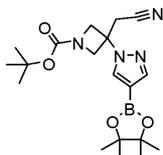


Стадия 1. трет-Бутил-3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилат



К раствору 1,0 М трет-бутоксиды калия в тетрагидрофуране (30,7 мл, 30,7 ммоль) при 0°C по каплям добавляли раствор диэтилцианометилфосфоната (5,20 мл, 32,2 ммоль) в тетрагидрофуране (39 мл). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, а затем снова охлаждали до 0°C. К указанной реакционной смеси добавляли раствор трет-бутил-3-оксоазетидин-1-карбоксилата (5,0 г, 0,029 моль, производства Aldrich) в тетрагидрофуране (8 мл). Реакционную смесь оставляли для нагревания до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. После гашения водой указанную смесь экстрагировали этилацетатом (EtOAc). Объединенные органические слои промывали солевым раствором, сушили над MgSO₄ и упаривали при пониженном давлении. Неочищенную смесь очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-70%) с получением целевого продукта (5,40 г, 95%). ЖХМС вычисл. для C₁₀H₁₄N₂O₂Na (M+Na)⁺: m/z=217,1; обнаружено: 217,1.

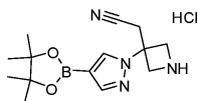
Стадия 2. трет-Бутил-3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилат



Смесь 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола (0,990 гр, 5,10 ммоль), трет-бутил-3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилата (1,00 гр, 5,15 ммоль) и 1,8-диазабицикло[5,4,0]ундец-7-ена (0,38 мл, 2,6 ммоль) в ацетонитриле (20 мл) нагревали до 60°C в течение 2 ч. После охлаждения растворитель удаляли под пониженным давлением. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на

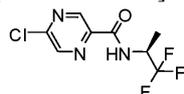
колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-60%) с получением целевого продукта (1,68 г, 84,8%). ЖХМС вычисл. для $C_{15}H_{22}BN_4O_4$ (M-55)⁺: m/z; обнаружено: 333,1.

Стадия 3. {3-[4-(4,4,5,5-Тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила гидрохлорид



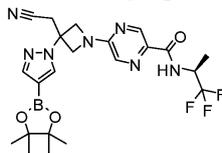
4.0н. HCl в 1,4-диоксане (2,0 мл) добавляли к раствору трет-бутил-3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилата (1,68 г, 4,33 ммоль) в метиленхлориде (10 мл). Указанную реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи и затем концентрировали при пониженном давлении с получением целевого продукта в виде соли HCl, которую непосредственно использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС вычисл. для $C_{14}H_{22}BN_4O_2$ (M+1)⁺: m/z=289,2; обнаружено: 289,1.

Стадия 4. 5-Хлор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид



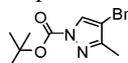
N,N-Диизопропилэтиламин (1,3 мл, 7,5 ммоль) добавляли к смеси 5-хлорпиразин-2-карбоновой кислоты (0,40 г, 2,5 ммоль), гексафторфосфата N,N,N',N'-тетраметил-О-(7-азабензотриазол-1-ил)уруния (1,0 г, 2,8 ммоль) и (2S)-1,1,1-трифторпропан-2-амин (0,28 г, 2,5 ммоль) в метиленхлориде (10 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь выделяли при помощи насыщ. водного NaHCO₃ и экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на колонке с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-15%) с получением целевого продукта (0,47 г, 73%). ЖХМС вычисл. для $C_8H_8ClF_3N_3O$ (M+1)⁺: m/z=254,0; обнаружено: 253,9.

Стадия 5. 5-{3-(Цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид



Смесь 5-хлор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид (254 мг, 1,00 ммоль), HCl соли {3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (325 мг, 1,00 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (401 мкл, 2,30 ммоль) в 1,4-диоксане (5,0 мл) нагревали до 100°C в течение 2 ч. После охлаждения смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексане (градиент: 20-80%) с получением целевого продукта (0,49 г, 97%). ЖХМС вычисл. для $C_{22}H_{28}BF_3N_7O_3$ (M+1)⁺: m/z=506,2; обнаружено: 506,1.

Стадия 6. трет'-Бутил-4-бром-3-метил-1Н-пиразол-1-карбоксилат

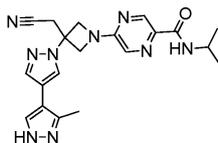


Смесь 4-бром-3-метил-1Н-пиразола (0,2 г, 1 ммоль), ди-трет-бутилдикarbonата (0,30 г, 1,4 ммоль), 4-диметиламинопиридина (0,02 г, 0,1 ммоль) и триэтиламина (0,26 мл, 1,9 ммоль) в ацетонитриле (2 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали и очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-15%) с получением целевого продукта (0,32 г). ЖХМС вычисл. для $C_5H_6BrN_2O_2$ (M-55)⁺: m/z=205,0; обнаружено: 204,9.

Стадия 7. 5-[3-(Цианометил)-3-(3'-метил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид трифторацетат.

Смесь 5-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид (27,0 мг, 0,0533 ммоль), трет-бутил-4-бром-3-метил-1Н-пиразол-1-карбоксилата (15 мг, 0,059 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладия(0) (3,1 мг, 0,0027 ммоль) и карбоната натрия (17,0 мг, 0,160 ммоль) в 1,4-диоксане (1,6 мл) и воде (0,8 мл) перемешивали в атмосфере азота при 100°C в течение ночи. Реакционную смесь фильтровали и очищали при помощи обращенно-фазовой ВЭЖХ (при pH 2) с получением целевого продукта в виде соли ТФУ. ¹H ЯМР (300 МГц, CD₃OD) δ 8,73 (d, J=1,4 Гц, 1H), 8,18 (d, J=0,6 Гц, 1H), 7,98 (d, J=1,4 Гц, 1H), 7,91-7,79 (m, 2H), 4,84 (m, 1H), 4,81 (d, J=10,2 Гц, 2H), 4,60 (d, J=10,2 Гц, 2H), 3,59 (s, 2H), 2,44 (s, 3H), 1,43 (d, J=7,1 Гц, 3H) ppm. ЖХМС вычисл. для $C_{20}H_{21}F_3N_9O$ (M+1)⁺: m/z=460,2; обнаружено: 460,0.

Пример 2. 5-[3-(Цианометил)-3-(3'-метил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид трифторацетат



Стадия 1. 5-Хлор-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид.

N,N-Диизопропилэтиламин (2,6 мл, 15 ммоль) добавляли к смеси 5-хлорпиразин-2-карбоновой кислоты (0,80 г, 5,0 ммоль), гексафторфосфата бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)фосфония (2,46 г, 5,56 ммоль) и 2-пропанамина (0,47 мл, 5,6 ммоль) в метиленхлориде (20 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь обрабатывали при помощи насыщ. водного NaHCO₃ и экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Осадок очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-15%) с получением целевого продукта. ЖХМС вычисл. для C₈H₁₁ClN₃O (M+1)⁺: m/z=200,1; обнаружено: 200,1.

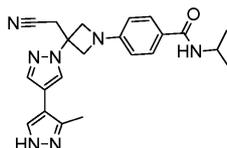
Стадия 2. 5-(3-(Цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил)-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид.

Смесь 5-хлор-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид (200 мг, 1,00 ммоль), HCl соли {3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (325 мг, 1,00 ммоль, из примера 1, стадия 3) и N,N-диизопропилэтиламина (401 мкл, 2,30 ммоль) в 1,4-диоксане (5,0 мл) нагревали до 100°C в течение 2 ч. После охлаждения смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексане (градиент: 20-80%) с получением целевого продукта (0,26 г, 58%). ЖХМС вычисл. для C₂₂H₃₁N₇O₃ (M+1)⁺: m/z=452,3; обнаружено: 452,2.

Стадия 3. 5-[3-(Цианометил)-3-(3'-метил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид трифторацетат.

Смесь трет-бутил-4-бром-3-метил-1Н-пиразол-1-карбоксилата (15,7 мг, 0,0600 ммоль), 5-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид (25,8 мг, 0,0571 ммоль), комплекса [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II) с дихлорметаном (1:1) (2,3 мг, 0,0028 ммоль) и фосфата калия (0,036 г, 0,17 ммоль) в диоксане (0,5 мл) и воде (0,2 мл) дегазировали и герметично закрывали. Указанную смесь нагревали до 110°C в течение 3 ч. После охлаждения смесь разбавляли метанолом, фильтровали и очищали при помощи обращенно-фазовой ВЭЖХ (при pH 2) с получением целевого продукта в виде соли ТФУ. ЖХМС вычисл. для C₂₀H₂₄N₉O (M+1)⁺: m/z=406,2; обнаружено: 406,1.

Пример 3. 4-[3-(Цианометил)-3-(3'-метил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилбензамида трифторацетат



Стадия 1. Этил-4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)бензоат.

Смесь этил-4-фторбензоата (0,841 г, 5,00 ммоль, производства Aldrich), азетидин-3-олгидрохлорида (0,438 г, 4,00 ммоль, производства Aldrich) и карбоната калия (1,38 г, 9,98 ммоль) в диметилсульфоксиде (4 мл) нагревали до 180°C в течение 2 ч. После охлаждения указанную смесь разбавляли этилацетатом (50 мл), и промывали водой и соевым раствором. Органический слой сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали под пониженным давлением. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на колонке с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексане (0-50%) с получением целевого продукта (0,643, 72,6%). ЖХМС вычисл. для C₁₂H₁₆NO₃ (M+1)⁺: m/z=222,1; обнаружено: 222,1.

Стадия 2. 4-(3-Гидроксиазетидин-1-ил)бензойная кислота.

Смесь 1-[4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)фенил]-2-метоксиэтанола (1,33 г, 6,00 ммоль) и моногидрата гидроксида лития (504 мг, 12,0 ммоль) в воде (4 мл), метаноле (3 мл) и ТГФ (6 мл) перемешивали при 40°C в течение ночи. Указанную смесь нейтрализовали при помощи водного раствора 3н. HCl (~4 мл) до pH примерно 7, экстрагировали при помощи этилацетата. Объединенные органические слои сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением указанного неочищенного продукта (1,10 г, 94,9%), который напрямую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС вычисл. для C₁₀H₁₂NO₃ (M+1)⁺: m/z=194,1; обнаружено: 194,1.

Стадия 3. 4-(3-Гидроксиазетидин-1-ил)-N-изопропилбензамид.

Бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)фосфония гексафторфосфат (4,64 г, 10,5 ммоль, производства Aldrich) добавляли к смеси 4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)бензойной кислоты (1,93 г, 10,0 ммоль),

2-пропанамина (4,26 мл, 50,0 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (3,88 г, 30,0 ммоль) в дихлорметиле-не (10 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и разбавляли дихлорметаном. Смесь промывали водным NaHCO₃ и соевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концен-трировали под пониженным давлением. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексане (градиент: 0-50%) с получением целевого продукта (2,21 г, 94,3%). ЖХМС вычисл. для C₁₃H₁₉N₂O₂ (M+1)⁺: m/z=235,1; обнаружено: 235,1.

Стадия 4. N-Изопропил-4-(3-оксоазетидин-1-ил)бензамид.

К охлажденному (-78°C) раствору оксалилхлорида (1,05 мл, 12,4 ммоль) в дихлорметиле-не (20 мл) по каплям добавляли диметилсульфоксид (1,71 мл, 24,1 ммоль). Указанную смесь перемешивали 10 мин при -78°C. Затем добавляли суспензию 4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)-N-изопропилбензамида (1,72 г, 7,34 ммоль) в дихлорметиле-не (20 мл). Полученную смесь перемешивали при -78°C в течение 1 ч и затем до-бавляли триэтиламин (7,04 мл, 50,5 ммоль). Указанную смесь перемешивали дополнительные 1,5 ч при -78°C. Полученную смесь промывали водн. NaHCO₃ и соевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтро-вали и концентрировали под пониженным давлением. Осадки промывали эфиром и собирали путем фильтрации с получением целевого продукта (1,32 г, 77%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС вычисл. для C₁₃H₁₇N₂O₂ (M+1)⁺: m/z=233,1; обнаружено: 233,1.

Стадия 5. 4-[3-(Цианометил)азетидин-1-ил]-N-изопропилбензамид.

К охлажденному (до -6-0°C) раствору 1,0 М трет-бутоксид калия в тетрагидрофуране (7,10 мл, 7,10 ммоль) добавляли по каплям раствор диэтилцианометилфосфоната (1,20 мл, 7,43 ммоль, производства Aldrich) в тетрагидрофуране (10 мл) в течение 10 мин периода и при от -6 до 0°C. Указанную смесь на-гревали и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Реакционную смесь вновь охлаждали до -6°C. Затем к указанной реакционной смеси добавляли раствор N-изопропил-4-(3- оксоазетидин-1-ил)бензамида (1,30 г, 5,60 ммоль) в тетрагидрофуране (10 мл) в течение периода 10 мин. На протяжении указанного времени температура указанной реакционной смеси составляла от -5 до 0°C. Реакционную смесь оставляли для нагревания до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч. Реакционную смесь фильтровали через слой силикагеля и промывали этилацетатом. Фильтрат концентрировали, и об-рабатывали осадок эфиром. Сформировавшиеся осадки собирали при помощи фильтрации с получением 0,60 г целевого продукта. Маточную жидкость концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексане (градиент: 30-80%) с получением целевого продукта (0,21 г). Общий выход составляет 0,81 г (57%). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,91 (d, J=7,8 Гц, 1H), 7,74 (d, J=8,7 Гц, 2H), 6,53 (d, J=8,7 Гц, 2H), 5,88 (p, J=2,3 Гц, 1H), 4,77-4,67 (m, 2H), 4,62 (dt, J=5,1, 2,6 Гц, 2H), 4,06 (m, 1H), 1,12 (d, J=6,6 Гц, 6H) ppm. ЖХМС вычисл. для C₁₅H₁₈N₃O (M+1)⁺: m/z=256,1; обнаружено: 256,1.

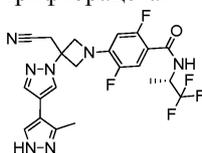
Стадия 6. 4-(3-(Цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил)-N-изопропилбензамид.

Смесь 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола (2,98 г, 15,3 ммоль), 4-[3-(цианометил)азетидин-1-ил]-N-изопропилбензамида (4,00 г, 15,7 ммоль) и 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена (1,17 г, 7,68 ммоль) в изопропиловом спирте (10 мл) нагревали до 70°C в течение 1 ч. Смесь охлаждали до 35°C. К суспензии добавляли 30 мл метил-трет-бутилового эфира (МТВЕ) и пе-ремешивали при комнатной температуре 1 ч. Сформировавшиеся осадки собирали при помощи фильтра-ции, промывали МТВЕ и высушивали при пониженном давлении с получением целевого продукта (6,2 г 89,8%). ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,35 (s, 1H), 7,90 (d, J=7,8 Гц, 1H), 7,75 (s, 1H), 7,73 (d, J=8,7 Гц, 2H), 6,52 (d, J=8,7 Гц, 2H), 4,40 (d, J=8,6 Гц, 2H), 4,20 (d, J=8,6 Гц, 2H), 4,05 (m, 1H), 3,65 (s, 2H), 1,24 (s, 12H), 1,12 (d, J=6,6 Гц, 6H) ppm. ЖХМС вычисл. для C₂₄H₃₃BN₅O₃ (M+1)⁺: m/z=450,3; обнаружено: 450,3.

Стадия 7. 4-[3-(Цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N'-изопропил-бензамида трифторацетат.

Смесь трет-бутил-4-бром-3-метил-1H-пиразол-1-карбоксилата (15,7 мг, 0,0600 ммоль), 4-{3-(цианометил)-3-[4-(4, 4, 5, 5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилбензамида (25,7 мг, 0,0571 ммоль), фосфата калия (36,4 мг, 0,171 ммоль) и комплекса [1,1'-бис-(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II) с дихлорметаном (1:1) (2,33 мг, 0,00286 ммоль) в диок-сане (0,5 мл) и воде (0,2 мл) дегазировали и герметично запечатывали. Указанную смесь нагревали до 110°C в течение 3 ч. После охлаждения смесь разбавляли метанолом, фильтровали и очищали при помо-щи обращенно-фазовой ВЭЖХ (при pH 2) с получением целевого продукта в виде соли ТФУ. ЖХМС вычисл. для C₂₂H₂₆N₇O (M+1)⁺: m/z=404,2; обнаружено: 404,1.

Пример 4. 4-[3-(Цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N'-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида трифторацетат



Стадия 1. 2,4,5-Трифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.

К раствору 2,4,5-трифторбензойной кислоты (5,00 г, 28,4 ммоль) в ацетонитриле (50 мл) добавляли N,N-диметилформамид (40 мкл) с последующим добавлением оксалилхлорида (3,60 мл, 42,6 ммоль). Через 90 мин удаляли летучие вещества при пониженном давлении. Осадок упаривали с ацетонитрилом (50 мл). Затем осадок растворяли в метиленхлориде (50 мл). Этот раствор добавляли по каплям в охлажденную (ледяная баня) смесь гидрохлорида (2S)-1,1,1-трифторпропан-2-амин (5,52 г, 36,9 ммоль) (производства Synquest, 98% ee) в толуоле (100 мл) и 0,5 М водном растворе гидроксида натрия (142 мл, 71,0 ммоль). После завершения добавления ледяную баню удаляли, и позволяли реакционной смеси нагреться до комнатной температуры. Реакционную смесь перемешивали в течение ночи. Органический слой отделяли. Водный слой экстрагировали метиленхлоридом (50 мл). Объединенные органические слои промывали 20% соевым раствором (75 мл) и водой (2×75 мл), сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением указанного целевого продукта (6,49 г, 84%), который напрямую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 9,01 (d, J=7,6 Гц, 1H), 7,92-7,50 (m, 2H), 4,76 (m, 1H), 1,31 (d, J=7,0 Гц, 3H) ppm. ЖХМС вычисл. для C₁₀H₈F₆NO (M+1)⁺: m/z=272,0; обнаружено: 272,0.

Стадия 2. 2,5-Дифтор-4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.

Смесь 2,4,5-трифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (6,39 г, 23,6 ммоль), азетидин-3-олгидрохлорида (3,19 г, 28,3 ммоль) и 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена (8,81 мл, 58,9 ммоль) в ацетонитриле (25 мл) перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Указанную реакционную смесь разбавляли EtOAc (75 мл) и промывали 1н. HCl (50 мл), 1 Н NaHCO₃ (60 мл), 20% соевым раствором (50 мл) и водой (75 мл). Водные слои подвергали экстракции посредством EtOAc (100 мл). Органические слои объединяли, сушили над MgSO₄, фильтровали при пониженном давлении с получением целевого продукта (7,59 г, 91,8%). ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,38 (dd, J=8,9, 1,9 Гц, 1H), 7,27 (dd, J=12,8, 6,5 Гц, 1H), 6,38 (dd, J=12,3, 7,5 Гц, 1H), 5,71 (d, J=6,4 Гц, 1H), 4,74 (dp, J=15,3, 7,6 Гц, 1H), 4,62-4,46 (m, 1H), 4,30-4,15 (m, 2H), 3,71 (m, 2H), 1,29 (d, J=7,1 Гц, 3H) ppm. ЖХМС вычисл. для C₁₃H₁₄F₅N₂O₂ (M+1)⁺: m/z=325,1; обнаружено: 325,1.

Стадия 3. 2,5-Дифтор-4-(3-оксоазетидин-1-ил)-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.

К раствору 2,5-дифтор-4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (7,57 г, 23,3 ммоль) в метиленхлориде (93 мл) добавляли диацетат йодбензола (9,40 г, 29,2 ммоль) и свободный радикал 2,2,6,6-тетраметил-1-пиперидинилокси (1,82 г, 11,7 ммоль) (TEMPO) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Указанную смесь разбавляли EtOAc (100 мл), промывали 0,5н. NaHCO₃ (2×80 мл), 20% соевым раствором (100 мл) и водой (100 мл). Водные слои экстрагировали этилацетатом (75 мл). Органические экстракты объединяли, сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали под пониженным давлением. Осадок очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя от 0 к 5% этилацетата в метиленхлориде с получением неочищенного продукта, который перекристаллизовывали из МТВЕ (50 мл) и гептана (100 мл) с получением целевого продукта (5,44 г, 72%) в виде бесцветного твердого вещества. ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,52 (d, J=8,0 Гц, 1H), 7,36 (dd, J=12,5, 6,5 Гц, 1H), 6,63 (dd, J=12,1, 7,6 Гц, 1H), 4,90 (d, J=2,1 Гц, 4H), 4,86-4,68 (m, 1H), 1,31 (d, J=7,1 Гц, 3H) ppm. ЖХМС вычисл. для C₁₃H₁₂F₅N₂O₂ (M+1)⁺: m/z=323,1; обнаружено: 323,0.

Стадия 4. 4-[3-(Цианометил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.

Диэтилцианометилфосфонат (1,95 мл, 11,8 ммоль) по каплям добавляли к охлажденному (ледяная баня) раствору 1,0 М трет-бутоксид калия в ТГФ (11,8 мл, 11,8 ммоль), который разбавляли тетрагидрофураном (12 мл). Баню удаляли, и нагревали реакционную смесь до комнатной температуры и перемешивали в течение 90 мин. Раствор реакционной смеси вновь охлаждали при помощи ледяной бани. Затем полученный выше раствор добавляли в течение 12 мин к охлажденному (ледяная баня) раствору 2,5-дифтор-4-(3-оксоазетидин-1-ил)-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (4,00 г, 12,4 ммоль) в тетрагидрофуране (50 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин. Ледяную баню удаляли, и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, затем гасили добавлением 20% солевого раствора (75 мл) и этилацетата (75 мл). Органический слой отделяли. Водный слой экстрагировали этилацетатом (50 мл). Объединенные органические слои сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-30%) с получением целевого продукта (2,6 г). ¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 8,59-8,37 (m, 1H), 7,33 (dd, J=12,5, 6,4 Гц, 1H), 6,59 (dd, J=12,0, 7,4 Гц, 1H), 5,88 (m, 1H), 4,94-4,75 (m, 4H), 4,76 (m, 1H), 1,31 (d, J=7,1 Гц, 3H) ppm. ЖХМС вычисл. для C₁₅H₁₃F₅N₃O (M+1)⁺: m/z=346,1; обнаружено: 346,1.

Стадия 5. 4-{3-(Цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.

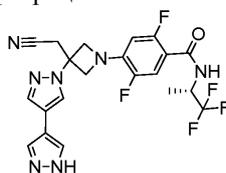
Смесь 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола (1,00 г, 5,15 ммоль), 4-[3-(цианометил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (1,78 г, 5,15

ммоль) и 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена (0,31 мл, 2,1 ммоль) в ацетонитриле (20,2 мл) нагревали до 50°C в течение ночи. После охлаждения растворитель удаляли под пониженным давлением. Полученный осадок использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС вычисл. для $C_{24}H_{28}BF_5N_5O_3$ (M+1)⁺: m/z=540,2; обнаружено: 540,1.

Стадия 6. 4-[3-(цианометил)-3-(3'-метил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида трифторацетат.

Смесь 4-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (28,8 мг, 0,0533 ммоль), трет-бутил-4-бром-5-метил-1Н-пиразол-1-карбоксилата (15 мг, 0,059 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладия(0) (3,1 мг, 0,0027 ммоль) и карбоната натрия (17,0 мг, 0,160 ммоль) в 1,4-диоксане (1,6 мл) и воде (0,8 мл) перемешивали в атмосфере азота в течение ночи при 100°C. Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали при помощи обращенно-фазовой ВЭЖХ (при pH 2) с получением целевого продукта в виде соли ТФУ. ЖХМС вычисл. для $C_{22}H_{21}F_5N_7O$ (M+1)⁺: m/z=494,2; обнаружено: 494,0.

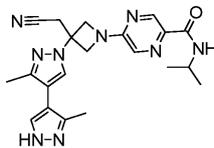
Пример 5. 4-[3-(1Н,1'Н-4,4'-Бипиразол-1-ил)-3-(цианометил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида трифторацетат



Указанное соединение получали при помощи способов, аналогичных тем, что описаны в примере 4, стадия 6, начиная с 4-бром-1Н-пиразола и 4-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида.

ЖХМС вычисл. для $C_{21}H_{19}F_5N_7O$ (M+1)⁺: m/z=480,2; обнаружено: 480,0.

Пример 6. 5-[3-(Цианометил)-3-(3,3'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида трифторацетат



Стадия 1. трет-Бутил-3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилат.

Смесь 3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразола (1,06 г, 5,10 ммоль), трет-бутил-3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилата (1,00 г, 5,15 ммоль) и 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена (0,38 мл, 2,6 ммоль) в ацетонитриле (20 мл) нагревали до 60°C в течение 2 ч. После охлаждения растворитель удаляли под пониженным давлением. Осадок очищали при помощи флэш-хроматографии на колонке с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-60%) с получением целевого продукта. ЖХМС вычисл. для $C_{16}H_{24}BN_4O_4$ (M-55)⁺: m/z=347,2; обнаружено: 347,1.

Стадия 2. {3-[3-Метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила гидрохлорид.

4,0н. HCl в диоксане (3 мл) добавляли к раствору трет-бутил-3-(цианометил)-3-[3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилата в метиленхлориде (10 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Смесь концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта в виде HCl соли. ЖХМС вычисл. для $C_{15}H_{24}BN_4O_2$ (M+1)⁺: m/z=303,2; обнаружено: 303,1.

Стадия 3. 5-{3-(Цианометил)-3-[3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида.

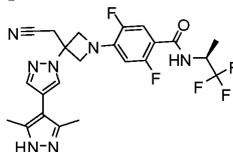
Смесь HCl соли {3-[3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (0,43 г, 1,3 ммоль), 5-хлор-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида (0,24 г, 1,2 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (0,63 мл, 3,6 ммоль) в трет-бутиловом спирте (12 мл, 120 ммоль) нагревали при 100°C в течение 4 ч. После охлаждения растворитель удаляли под пониженным давлением. Осадок очищали при помощи флэш-хроматографии на колонке с силикагелем, элюируя этилацетатом в гексанах (0-60%) с получением целевого продукта. ЖХМС вычисл. для $C_{23}H_{33}BN_7O_3$ (M+1)⁺: m/z=466,3; обнаружено: 466,2.

Стадия 4. 5-[3-(Цианометил)-3-(3,3'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида трифторацетат.

Указанное соединение получали при помощи способов, аналогичных тем, что описаны в примере 4, стадия 6, начиная с 4-бром-3-метил-1Н-пиразола и 5-{3-(цианометил)-3-[3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-

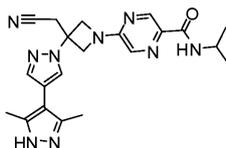
1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид.
ЖХМС вычисл. для $C_{21}H_{26}N_9O$ ($M+1$)⁺: $m/z=420,2$; обнаружено: 420,1.

Пример 7. 4-[3-(Цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид



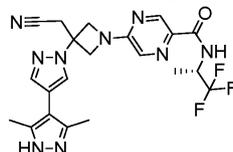
Смесь 4-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (329 мг, 0,610 ммоль, из примера 4, стадия 5), 4-бром-3,5-диметил-1H-пиразола (206 мг, 1,18 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладия(0) (110 мг, 0,098 ммоль) и карбоната натрия (320 мг, 3,0 ммоль) в 1,4-диоксане (10 мл)/воде (5 мл) продували азотом и перемешивали при 110°C в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли EtOAc, промывали водой и соевым раствором, концентрировали. Осадок сначала очищали при помощи силикагеля (элюирование 0-100% EtOAc/гексанами и затем 10% метанола/дихлорметана), и затем при помощи преп.-ЖХМС (колонка XBridge C18, элюирование градиентом ацетонитрил/вода, содержащим 0,1% гидроксид аммония, при скорости потока 60 мл/мин) с получением целевого продукта (30 мг, 9,7%). ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 12,17 (1H, s), 8,45 (1H, d, J=8,0 Гц), 8,10 (1H, s), 7,70 (1H, s), 7,34 (1H, m), 6,61 (1H, s), 4,77 (1H, m), 4,62 (2H, d, J=9,0 Гц), 4,39 (1H, d, J=9,0 Гц), 3,64 (2H, s), 2,22 (6H, s), 1,31 (6H, d, J=7,0 Гц) ppm. ЖХМС вычисл. для $C_{23}H_{23}F_5N_7O$ ($M+H$)⁺: $m/z=508,2$; обнаружено: 508,0.

Пример 8. 5-[3-(Цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид



Смесь 5-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид (256 мг, 0,567 ммоль, из примера 2, стадия 2), 4-бром-3,5-диметил-1H-пиразола (119 мг, 0,681 ммоль), дициклогексил(2',4',6"-триизопропилбифенил-5-ил)фосфин-(2'-аминобифенил-2-ил)(хлор)палладия (1:1) (67 мг, 0,085 ммоль) и карбоната цезия (550 мг, 1,7 ммоль) в 1,4-диоксане (2 мл)/воде (1 мл) три раза продували азотом. Смесь нагревали до 53°C в течение 2 ч. Смесь разбавляли EtOAc, промывали соевым раствором, концентрировали. Полученный остаток сначала очищали при помощи силикагеля (элюирование 0-100% EtOAc/гексанов и затем 10% метанолом/дихлорметаном), и затем при помощи преп. ЖХМС (колонка XBridge C18, элюирование градиентом ацетонитрил/вода, содержащим 0,1% гидроксид аммония, со скоростью потока 60 мл/мин) с получением целевого продукта (0,1 г, 40%). ¹H ЯМР (500 МГц, DMSO-d₆) δ 8,64 (1H, d, J=1,5 Гц), 8,12 (1H, s), 8,06 (1H, d, J=8,0 Гц), 7,96 (1H, d, J=1,0 Гц), 7,71 (1H, s), 4,72 (2H, d, J=9,5 Гц), 4,49 (1H, d, J=9,5 Гц), 4,08 (1H, m), 3,68 (2H, s), 2,22 (6H, s), 1,16 (6H, d, J=6,5 Гц) ppm. ЖХМС вычисл. для $C_{21}H_{26}N_9O$ ($M+H$)⁺: $m/z=420,2$; обнаружено: 420,0.

Пример 9. 5-[3-(Цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид трифторацетат



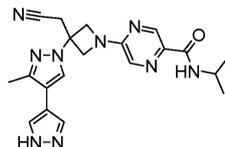
Стадия 1. [3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-3-ил]ацетонитрила гидрохлорид.

Смесь трет-бутил-3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилата (381 мг, 0,981 ммоль, из примера 1, стадия 2), 4-бром-3,5-диметил-1H-пиразола (206 мг, 1,18 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладия(0) (110 мг, 0,098 ммоль) и карбоната натрия (310 мг, 2,9 ммоль) в 1,4-диоксане (10 мл) и воде (5 мл) продували N₂ и перемешивали при 110°C в течение 2 ч. Реакционную смесь фильтровали, разбавляли EtOAc, затем промывали водой. Органический слой концентрировали и очищали на силикагеле (элюирование 0-100% EtOAc/гексаны, затем 0-10% MeOH/дихлорметан) с получением трет-бутил-3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-карбоксилата (90 мг, 26%). ЖХМС вычисл. для $C_{18}H_{25}N_6O_2$ ($M+H$)⁺: $m/z=357,2$; обнаружено: 357,2. Указанное промежуточное соединение обрабатывали 4,0M хлористым водородом в диоксане (1,2 мл, 4,9 ммоль) в метилхлориде (1 мл) при к. т. в течение 2 ч. Смесь концентрировали досуха с получением целевого продукта. ЖХМС вычисл. для $C_{13}H_{17}N_6$ ($M+H$)⁺: $m/z=257,1$; обнаружено: 257,1.

Стадия 2. 5-[3-(Цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамида трифторацетат.

Смесь [3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-3-ил]ацетонитрила гидрохлорида (13 мг, 0,039 ммоль), 5-хлор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразина-2-карбоксамида (11 мг, 0,043 ммоль, из примера 1, стадия 4) и N,N-диизопропилэтиламина (28 мкл, 0,16 ммоль) в трет-бутиловом спирте (1 мл) нагревали до 100°C в течение 2 ч. После охлаждения смесь разбавляли MeOH и очищали при помощи преп.-ЖХМС (при pH 2) с получением целевого продукта в виде соли ТФУ (4,1 мг, 22%). ЖХМС вычисл. для C₂₁H₂₃F₃N₉O (M+H)⁺: m/z=474,2; обнаружено: 474,0.

Пример 10. 5-[3-(Цианометил)-3-(3-метил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида трифторацетат

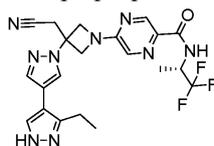


Стадия 1. трет-Бутил-4-бром-1Н-пиразол-1-карбоксилат Указанное соединение получали при помощи способов, аналогичных тем, что описаны в примере 1, стадия 6, начиная с 4-бром-1Н-пиразола. ЖХМС вычисл. для C₄H₄BrN₂O₂ (M-55)⁺: m/z=191,0; обнаружено: 190,9.

Стадия 2. 5-[3-(Цианометил)-3-(3-метил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида трифторацетат.

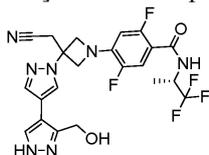
Указанное соединение получали в виде соли ТФУ при помощи способов, аналогичных тем, что описаны в примере 4, стадия 6, начиная с трет-бутил-4-бром-1Н-пиразол-1-карбоксилата и 5-{3-(цианометил)-3-[3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамида. ЖХМС вычисл. для C₂₀H₂₄N₉O (M+1)⁺: m/z=406,2; обнаружено: 406,1.

Пример 11. 5-[3-(Цианометил)-3-(3'-этил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамида трифторацетат



Указанное соединение получали в виде соли ТФУ при помощи способов, аналогичных тем, что описаны в примере 4, стадия 6, начиная с 5-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамида (пример 1, стадия 5) и 4-бром-3-этил-1Н-пиразола. ЖХМС вычисл. для C₂₁H₂₃F₃N₉O (M+1)⁺: m/z=474,2; обнаружено: 474,0.

Пример 12. 4-{3-(Цианометил)-3-[3'-(гидроксиметил)-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида трифторацетат



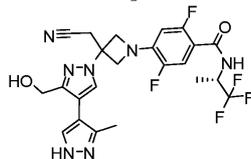
Стадия 1. (4-Бром-1Н-пиразол-5-ил)метанол.

Тетрагидроборат натрия (0,13 г, 3,4 ммоль) добавляли к раствору 4-бром-1Н-пиразол-5-карбальдегида (0,30 г, 1,7 ммоль, производства Maybridge) в тетрагидрофуране (5 мл). Реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение 1 ч. Реакционную смесь гасили с помощью насыщенного водного NaHCO₃ и экстрагировали этилацетатом (3×20 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором, высушивали над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением указанного неочищенного продукта, который напрямую использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. ЖХМС вычисл. для C₄H₆BrN₂O (M+1)⁺: m/z=177,0; обнаружено: 176,9.

Стадия 2. 4-{3-(Цианометил)-3-[3'-(гидроксиметил)-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида трифторацетат.

Указанное соединение получали в виде соли ТФУ при помощи способов, аналогичных тем, что описаны в примере 4, стадия 6, начиная с 4-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и (4-бром-1Н-пиразол-3-ил) метанола. ЖХМС вычисл. для C₂₂H₂₁F₃N₇O₂ (M+1)⁺: m/z=510,2; обнаружено: 510,0.

Пример 13. 4-{3-(Цианометил)-3-[3-(гидроксиметил)-3'-метил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид



Стадия 1. Этил-4-бром-1-{3-(цианометил)-1-[2,5-дифтор-4-({[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]амино}карбонил)фенил]азетидин-3-ил}-1Н-пиразол-3-карбоксилат.

В пробирку для микроволнового реактора добавляли изопропиловый спирт (10 мл), этил 4-бром-1Н-пиразол-3-карбоксилат (производства ChemBridge) (788 мг, 3,60 ммоль), 1,8-дизабцикло[5.4.0]ундец-7-ен (48,9 мкл, 0,327 ммоль) и 4-[3-(цианометил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид (из примера 4, стадия 4, 1,13 г, 3,27 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. После охлаждения до комнатной температуры растворитель удаляли в вакууме. Осадок очищали при помощи флэш-хроматографии на колонках с силикагелем (элюирование 0-35% этилацетатом в гексанах) с получением целевого продукта в виде белой пены. ¹Н ЯМР (500 МГц, ДМСО) δ 8,61 (s, 1H), 8,47 (d, J=8,7 Гц, 1H), 7,34 (dd, J=12,5 и 6,3 Гц, 1H), 6,62 (dd, J=11,9 и 7,3 Гц, 1H), 4,76 (dt, J=15,5 и 7,8 Гц, 1H), 4,61 (d, J=9,2 Гц, 2H), 4,39 (d, J=8,0 Гц, 2H), 4,32 (q, J=7,1 Гц, 2H), 3,68 (s, 2H), 1,31 (m, 6H) ppm. ЖХМС вычисл. для C₂₁H₂₀BrF₅N₅O₃ (M+H)⁺: m/z=564,1; обнаружено: 563,8.

Стадия 2. Этил-1-{3-(цианометил)-1-[2,5-дифтор-4-({[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]амино}карбонил)фенил]азетидин-3-ил}-3'-метил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-3-карбоксилат.

В пробирку для микроволнового реактора помещали трет-бутиловый спирт (1,2 мл) и воду (1,2 мл), фторид цезия (68,3 мг, 4,50 ммоль), этил-4-бром-1-{3-(цианометил)-1-[2,5-дифтор-4-({[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]амино}карбонил)фенил]азетидин-3-ил}-1Н-пиразол-3-карбоксилат (725 мг, 1,28 ммоль) и 3-метил-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол (401 мг, 1,93 ммоль), затем добавляли Pd-127 (49 мг, 0,064 ммоль) (производства Johnson Mathew). Реакционную смесь нагревали до 85 °С в течение 48 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, затем разбавляли водой и этилацетатом. Полученный водный слой экстрагировали этилацетатом. Органический слой высушивали над Na₂SO₄ и концентрировали. Полученный осадок очищали при помощи флэш-хроматографии (элюирование 30-100% этилацетатом в гексанах) с получением целевого продукта в виде масла. ЖХМС вычисл. для C₂₅H₂₅F₅N₇O₃ (M+H)⁺: m/z=566,2; обнаружено: 566,0.

Стадия 3. 4-{3-(Цианометил)-3-[3-(гидроксиметил)-3'-метил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.

К раствору этил-1-{3-(цианометил)-1-[2,5-дифтор-4-({[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]амино}карбонил)фенил]азетидин-3-ил}-3'-метил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-3-карбоксилата (35 мг, 0,062 ммоль) в ТГФ (0,5 мл) добавляли 2,0 М тетрагидроборат лития в ТГФ (0,12 мл, 0,25 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакцию медленно гасили водой. Водный слой экстрагировали этилацетатом. Органический слой концентрировали. Полученный осадок очищали при помощи преп. ЖХМС (колонка XBridge C18, элюировали с градиентом ацетонитрил/вода, содержащим 0,1% гидроксида аммония, при скорости потока 60 мл/мин) с получением целевого продукта. ¹Н ЯМР (400 МГц, CDC1₃) δ 7,79-7,68 (m, 2H), 7,61 (s, 1H), 6,65 (m, 1H), 6,20 (m, 1H), 4,99-4,89 (m, 1H), 4,68 (s, 2H), 4,60 (d, J=8,5 Гц, 2H), 4,45 (dd, J=8,9 и 2,0 Гц, 2H), 3,38 (s, 2H), 2,34 (s, 3H), 1,41 (d, J=7,0 Гц, 3H). ЖХМС вычисл. для C₂₃H₂₃F₅N₇O₂ (M+H)⁺: m/z=524,2; обнаружено: 524,0.

Пример 14. Соль 4-[3-(Цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты (методика 1).

К 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамиду (24,8 мг, 0,0489 ммоль) добавляли этанол (0,3 мл), и полученную смесь перемешивали до образования прозрачного раствора. Добавляли фосфорную кислоту в изопропанол (0,064 мл, 1 М, 0,064 ммоль, 1,3 экв.) и полученную смесь перемешивали 2 мин с получением суспензии. Указанную суспензию затем перемешивали при комнатной температуре непрерывно в течение ночи. Указанную смесь фильтровали, и осадок на фильтре промывали метил-трет-бутиловым эфиром (МТБЕ). Указанный осадок на фильтре сушили на воздухе с получением указанной титруемой соли (26,3 мг, 88,9%). Дифрактограмму рентгеновской порошковой дифракции (XRPD) определяли для соли фосфорной кислоты; она показана на фиг. 1. Перечень пиков 2-тета приведен в табл. 2 ниже.

Таблица 2

2-Тета	Высота	И%
6,848	841	64,7

8,225	135	10,4
11,778	214	16,5
12,854	378	29,1
13,577	543	41,7
14,741	157	12,1
15,967	589	45,3
16,557	1061	81,6
17,425	216	16,6
18,021	299	23
19,907	1139	87,6
20,791	1300	100
21,267	248	19,1
22,556	168	12,9
23,77	949	73
24,667	716	55,1
25,698	913	70,2
26,159	434	33,4
27,392	140	10,8
28,647	199	15,3
29,667	251	19,3
30,411	333	25,6
31,213	141	10,9
32,115	84	6,5
32,893	170	13,1
33,572	109	8,4
34,449	108	8,3
35,264	82	6,3
35,741	78	6
36,709	170	13,1
37,381	103	7,9
38,828	63	4,9
39,443	117	9
40,559	88	6,8
41,227	88	6,8
43,396	61	4,7
44,1	90	6,9

Пример 15. Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты (методика 2).

К 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамиду (24,6 мг, 0,0485 ммоль) добавляли этанол (0,3 мл) и полученную смесь перемешивали до образования прозрачного раствора. Добавляли фосфорную кислоту в изопропанол (0,063 мл, 1 М, 0,063 ммоль, 1,3 экв.) и полученную смесь перемешивали в течение 2 ч с получением суспензии, которую затем непрерывно перемешивали в течение ночи. Указанную смесь фильтровали, и осадок на фильтре промывали метил-трет-бутиловым эфиром. Указанный осадок на фильтре су-

шили на воздухе с получением указанной титальной соли (26,27 мг, 89,5%). Дифрактограмма XRPD определена для соли фосфорной кислоты и показана на фиг. 2. Перечень пиков 2-тета приведен в табл. 3 ниже.

Таблица 3

2-Тета	Высота	Н%
6,884	499	54,1
8,305	90	9,7
11,868	165	17,9
12,945	302	32,8
13,685	411	44,6
14,831	125	13,6
16,116	368	40
16,656	818	88,8
17,528	184	19,9
18,135	278	30,1
20,003	845	91,7
20,898	921	100
21,335	178	19,3
22,409	139	15,1
22,701	135	14,6
23,894	711	77,2
24,796	535	58,1
25,821	778	84,4
26,266	245	26,6
27,483	122	13,2
28,742	160	17,4
29,761	208	22,6
30,539	237	25,7
31,331	111	12
32,176	55	5,9
33,026	134	14,5
33,714	88	9,5
34,542	69	7,5
35,263	60	6,5
35,829	48	5,3
36,838	108	11,8
37,369	64	7
38,956	53	5,8
39,631	89	9,7
40,7	75	8,2
41,298	71	7,7
43,504	54	5,9
44,228	76	8,3

Пример 16. Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты (методика 3).

К 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамиду (98,93 мг, 0,195 ммоль) добавляли изопропанол (1,23 мл), и полученную смесь перемешивали до образования прозрачного раствора. Добавляли фосфорную кислоту в изопропанол (0,273 мл, 1 М, 0,273 ммоль, 1,4 экв.), и полученную смесь перемешивали 1 ч при 70°C с получением суспензии. Полученную суспензию охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Указанную смесь фильтровали, и осадок на фильтре промывали метил-трет-бутиловым эфиром. Указанный осадок на фильтре сушили на воздухе с получением указанной титульной соли (109,1 мг, 92,4%). Дифрактограмма XRPD определена для соли фосфорной кислоты и показана на фиг. 3. Перечень пиков 2-тета приведен в табл. 4 ниже.

Таблица 4

2-Тета	Высота	И%
6,856	1268	100
8,237	133	10,5
11,765	209	16,5
12,859	343	27
13,596	472	37,2
14,74	127	10
15,931	403	31,8
16,569	912	72
17,425	177	13,9
17,964	80	6,3
18,495	117	9,2
19,926	876	69
20,783	865	68,2
21,274	197	15,6
22,561	152	12
23,727	634	50
24,637	370	29,2
25,706	443	35
26,157	290	22,9
27,597	117	9,3
28,627	120	9,5
29,682	151	11,9
30,389	186	14,6
31,186	103	8,1
32,128	55	4,3
32,872	98	7,7
33,483	72	5,7
34,435	87	6,8
35,257	42	3,3
35,742	56	4,4
36,667	95	7,5
37,413	84	6,7
39,574	56	4,4
41,182	60	4,8
44,124	64	5

Пример 17. Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты (методика 4).

Стадия 1. Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты (неочищенная).

К прозрачному раствору 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (405,0 г, 798,1 ммоль) в метаноле (520,0 мл) и изопропанол (2550,0 мл) при 50°C добавляли водный раствор 85% фосфорной кислоты (119,65 г, 1037,8 ммоль) в изопропанол (120,0 мл) в течение 18 мин с образованием суспензии. Полученную суспензию перемешивали при 50°C в течение 1 ч. Затем к суспензии добавляли н-гептан (4050,0 мл) в течение 40 мин, при поддержании внутренней температуры суспензии между 46 и 53°C. После добавления н-гептана суспензию постепенно охлаждали до комнатной температуры и перемешивали в течение 19 ч при комнатной температуре. Твердое вещество собирали путем фильтрации, промывали смесью изопропанола и н-гептана (3:10 по объему, 2×700 мл) и затем н-гептаном (3×550 мл), и высушивали под вакуумом при комнатной температуре с получением неочищенной соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты (434,6 г, выход 89,9%).

Стадия 2. Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты (очищенная).

В круглодонную колбу вместимостью 22 л, оснащенную подвесным перемешивающим механизмом и термопарой, покрытой тефлоном, добавляли соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты со Стадии 1 (958,3 г, 1583 ммоль) и метанол (MeOH, 9583,0 мл) при комнатной температуре. Полученную суспензию нагревали до 50°C с получением прозрачного, светло-оранжевого раствора. Раствор дополнительно фильтровали, переносили обратно в колбу 22 л и нагревали до кипения для отгонки метанола (4793 г, 6090 мл) в течение 70 мин. Затем в колбу добавляли изопропанол (7700 мл) в течение 30 мин при поддержании температуры раствора между 50 и 65°C. После завершения добавления изопропанола по порциям добавляли н-гептан (14400 мл) при сохранении осторожной дистилляции смеси растворителей (MeOH, IPA и н-гептан) в течение 2,5 ч. В общей сложности дистиллировали 10818 г (15000 мл) смеси растворителей. Полученную суспензию постепенно охлаждали до комнатной температуры и затем перемешивали в течение 17 ч при комнатной температуре. Твердое вещество собирали путем фильтрации, промывали смесью изопропанола и н-гептана (1:5 по объему, 3000 мл) с последующей промывкой н-гептаном (3×4000 мл) и сушили под вакуумом при комнатной температуре с получением титульного соединения в виде кристаллического порошка грязно-белого цвета (925,7 г, выход 96,6%).

При помощи XRPD подтвердили, что указанная соль фосфорной кислоты является 1:1 солью по показателям ¹H ЯМР, и показали степень кристалличности. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 9,35 (br. s, 4H), 8,50 (d, J=8,9 Гц, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,34 (dd, J=12,5, 6,4 Гц, 1H), 6,61 (dd, J=12,0, 7,4 Гц, 1H), 4,86-4,69 (m, 1H), 4,61 (d, J=8,9 Гц, 2H), 4,38 (d, J=8,9 Гц, 2H), 3,64 (s, 2H), 2,21 (s, 6H), 1,30 (d, J=7,1 Гц, 3H); ¹³C ЯМР (100 МГц, DMSO-d₆) δ 162,8, 156,7 (d, J_{CF}=246,5 Гц), 146,9 (d, J_{CF}=236,1 Гц), 141,6 (dd, J_{CF}=13,0, 11,7 Гц), 140,3, 138,3, 125,8 (q, J_{CF}=281,8 Гц), 125,6, 117,2, 116,4 (dd, J_{CF}=22,3, 4,6 Гц), 115,1, 111,3 (dd, J_{CF}=15,7, 5,8 Гц), 107,7, 102,0 (dd, J_{CF}=29,5, 4,5 Гц), 62,3, 57,7, 57,7, 45,8 (q, J_{CF}=30,5 Гц), 27,0, 13,3 (d, J_{CF}=1,7 Гц), 11,7. C₂₃H₂₂F₃N₇O (вычисл. MW 507,46); ЖХМС: (EI) m/e 508,1 (M⁺+H). DSC демонстрирует острый пик плавления на примерно 227,62°C (начало на 224,45°C), как показано на фиг. 4А. Титульное соединение демонстрирует потерю массы на 0,129% вплоть до 200°C, как показано на фиг. 4В. Дифрактограмма XRPD определена для соли фосфорной кислоты и показана на фиг. 4С. Перечень пиков 2-тета приведен в табл. 5 ниже.

Таблица 5

2-Тета	Высота	H%
6,805	8160	100
7,278	56	0,7
8,164	230	2,8
11,065	68	0,8
11,685	1060	13
12,798	260	3,2
13,512	920	11,3
14,667	110	1,3
15,923	686	8,4
16,49	2186	26,8
17,022	236	2,9
17,292	111	1,4
17,991	137	1,7
18,448	703	8,6
19,827	1407	17,2
20,677	2119	26
21,236	199	2,4
22,079	275	3,4
22,421	406	5

23,592	2119	26
24,635	424	5,2
25,317	296	3,6
25,64	674	8,3
26,161	363	4,5
27,284	94	1,2
27,989	198	2,4
28,628	118	1,4
29,63	135	1,7
30,419	455	5,6
32,099	60	0,7
32,832	148	1,8
33,346	166	2
34,436	447	5,5
35,711	117	1,4
36,719	295	3,6
37,349	135	1,7
38,802	53	0,6
39,585	108	1,3
40,565	64	0,8
41,224	260	3,2
42,44	68	0,8

Пример 18. Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и хлористоводородной кислоты (методика 1).

К 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамиду (97,64 мг, 0,192 ммоль) добавляли 2-бутанол (1,2 мл), и полученную смесь перемешивали в течение 2 мин с получением прозрачного раствора. Добавляли хлористоводородную кислоту в изопропанол/изопропилацетате (0,29 мл, 1 М в IPA/IPAc из 3,7М HCl в IPAc, 0,29 ммоль, 1,5 экв.) с получением прозрачного раствора. Полученный раствор перемешивали в течение 6 мин с получением суспензии. Указанную суспензию затем перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем суспензию фильтровали, и осадок на фильтре промывали МТВЕ. Указанный осадок на фильтре сушили под вакуумом в течение 12 ч при 45-50°C с получением титульной соли (97,8 мг, 93,4%). DSC демонстрирует острый пик плавления на примерно 213,07°C (начало на 209,22°C), как показано на фиг. 5А. Титульное соединение демонстрирует потерю массы на 4,635% вплоть до 210°C, как показано на фиг. 5В. Дифрактограмма XRPD определена для соли хлористоводородной кислоты и показана на фиг. 5С. Перечень пиков 2-тета приведен в табл. 6 ниже.

Таблица 6

2-Тета	Высота	И%
7,067	208	38
12,234	289	53
13,716	308	56,4
14,48	133	24,4
14,784	295	54
15,459	289	52,9
16,259	181	33,1
16,609	359	65,7
17,121	347	63,5
19,486	129	23,5
20,439	147	27
21,259	95	17,4
22,865	223	40,8
23,857	335	61,3
24,771	546	100
25,704	204	37,4
26,496	284	51,9
27,429	334	61,1
28,354	194	35,6
28,71	106	19,3
31,472	70	12,8
31,84	117	21,4
34,09	117	21,5
40,551	58	10,6
41,48	75	13,8
44,075	53	9,7

Пример 19. Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и хлористоводородной кислоты (методика 2).

К 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамиду (52,12 мг, 0,103 ммоль) добавляли изопропанол (0,5 мл), и полученную смесь перемешивали в течение 3 мин до образования прозрачного раствора. Затем добавляли хлористоводородную кислоту в изопропанол/изопропилацетате (0,144 мл, 1 М в IPA/IPAc из 3,7М HCl в IPAc, 0,144 ммоль, 1,4 экв.) с получением прозрачного раствора. Полученный раствор перемешивали в течение 6-8 мин с получением суспензии. Указанную суспензию затем перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем суспензию фильтровали, и осадок на фильтре промывали МТВЕ. Указанный осадок на фильтре сушили на воздухе с получением титульной соли (51,2 мг, 91,6%). Дифрактограмма XRPD определена для соли хлористоводородной кислоты и показана на фиг. 6. Перечень пиков 2-тета приведен в табл. 7 ниже.

Таблица 7

2-Тета	Высота	Н%
6,967	164	47,1
12,082	267	76,8
13,388	202	58
13,71	150	43,1
14,831	101	29,1
15,438	97	27,9
16,243	174	50,1
16,634	348	100
16,97	189	54,2
17,576	76	21,8
19,672	96	27,5
20,758	141	40,6
21,163	94	27,1
22,879	110	31,7
23,928	115	33
24,735	128	36,8
25,097	149	42,9
26,444	120	34,4
26,767	112	32,2
27,416	147	42,3
28,344	105	30,2
28,686	105	30,2
29,508	58	16,7
30,156	67	19,2
31,853	50	14,3
41,126	44	12,7

Пример 20. Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и бромистоводородной кислоты.

К 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамиду (54,74 мг, 0,108 ммоль) добавляли изопропанол (0,6 мл), и полученную смесь перемешивали в течение 3 мин с получением прозрачного раствора. Добавляли бромистоводородную кислоту в изопропанол/воде (0,151 мл, 1 М IPA/вода от 48% НВг в воде, 0,144 ммоль, 1,4 экв.), в результате чего получали прозрачный раствор, который затем перемешивали в течение 8 мин с образованием суспензии. Указанную суспензию перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем суспензию фильтровали, и осадок на фильтре промывали МТВЕ. Указанный осадок на фильтре сушили на воздухе с получением указанной титульной соли (53,12 мг, 83,7%). DSC демонстрирует острый пик плавления на примерно 203,19°C (начало на 199,26°C), как показано на фиг. 7А. Титульное соединение демонстрирует только небольшую потерю массы вплоть до примерно 100°C, как показано на фиг. 7В. Дифрактограмма XRPD определена для соли бромистоводородной кислоты и показана на фиг. 7С. Перечень пиков 2-тета приведен в табл. 8 ниже.

Таблица 8

2-Тета	Высота	Н%
7,007	254	36,6
12,179	139	20,1
12,445	116	16,8
13,468	86	12,4
14,377	297	42,9
15,042	65	9,4
15,622	192	27,6
16,211	140	20,1
17,051	281	40,5
17,407	87	12,5
18,5	62	8,9
19,583	121	17,5
20,222	308	44,4
21,104	347	50
22,821	376	54,2
23,484	338	48,8
23,663	137	19,8
24,279	137	19,8
24,889	693	100
25,425	171	24,7
25,99	76	11
26,62	203	29,3
27,095	330	47,6
27,483	116	16,7
28,208	382	55,1
28,572	159	22,9
29,801	134	19,3
30,33	89	12,8
31,278	160	23
31,971	66	9,5
33,731	118	17,1
34,608	103	14,8
35,638	68	9,8
36,746	111	16
38,497	72	10,3
39,297	112	16,2
40,476	98	14,2
41,364	169	24,4
43,37	68	9,8
43,804	60	8,7

Пример 21. Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и серной кислоты (методика 1).

К 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамиду (47 мг, 0,103 ммоль) добавляли изопропанол (0,5 мл), и по-

лученную смесь перемешивали в течение 3 мин с получением прозрачного раствора. Добавляли серную кислоту в изопропанол/воде (0,5 М в IPA от 98% серной кислоты, 0,051 ммоль, 0,55 экв.), в результате чего получали прозрачный раствор, который затем перемешивали в течение 6-8 мин с образованием суспензии. Указанную суспензию затем перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч. Затем суспензию фильтровали, и осадок на фильтре промывали МТБЕ. Указанный осадок на фильтре сушили на воздухе с получением титульной соли (18,84 мг, 33,6%). DSC демонстрирует две эндотермы на 136,16 и 146,97°C (начало на 122,15°C) и острую эндотерму на 259,16°C (начало на 255,09°C), как показано на фиг. 8А. Дифрактограмма XRPD определена для соли серной кислоты и показана на фиг. 8В.

Перечень пиков 2-тета приведен в табл. 9 ниже.

Таблица 9

2-Тета	Высота	Н%
3,742	151	18,4
7,322	228	27,7
9,892	93	11,3
12,57	74	9
13,642	56	6,8
14,713	341	41,4
16,307	81	9,8
17,412	60	7,3
18,978	125	15,2
19,628	823	100
20,982	73	8,9
21,256	212	25,8
22,041	66	8
24,625	691	84
25,902	66	8
26,529	123	15
27,083	174	21,1
28,18	175	21,2
30,706	91	11,1
32,369	53	6,4
34,766	96	11,6
38,298	50	6
38,663	74	9
42,485	48	5,8

Пример 22. Соль 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и серной кислоты (методика 2).

К 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1Н,1'Н-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамиду (27,91 мг, 0,055 ммоль) добавляли изопропанол (0,5 мл) с образованием чистого раствора. Добавляли серную кислоту в воде (1,0 М, 0,06 ммоль, 1,09 экв.), и полученную смесь перемешивали с получением суспензии. Эту суспензию нагревали до 60°C и перемешивали до получения прозрачного раствора. Этот раствор охлаждали до комнатной температуры и непрерывно перемешивали в течение ночи. Полученную смесь фильтровали, и осадок на фильтре промывали МТБЕ. Осадок на фильтре сушили на воздухе с получением указанной титульной соли. Дифрактограмма XRPD определена для соли серной кислоты и показана на фиг. 9. Перечень пиков 2-тета приведен в табл. 10 ниже.

Таблица 10

2-Тета	Высота	Н%
4,843	191	22,5
7,313	218	25,8
9,856	116	13,7
12,556	95	11,2
13,61	57	6,8
14,703	361	42,6
15,261	64	7,5
16,309	147	17,3
18,941	149	17,6
19,611	847	100
20,952	113	13,3
21,242	241	28,4
21,708	100	11,8
24,609	620	73,2
26,513	130	15,3
27,026	126	14,8
28,19	167	19,7
30,659	86	10,1
32,346	60	7
34,711	108	12,7
38,597	82	9,7
41,082	55	6,4
42,435	43	5,1

Пример А. Анализ JAK-киназы *in vitro*.

Соединения, описанные в настоящей заявке, проверяли на активность ингибирования JAK-мишеней в соответствии со следующим анализом *in vitro*, описанным в Park и др., *Analytical Biochemistry* 1999, 269, 94-104. Каталитические домены JAK1 (а.к. 837-1142), JAK2 (а.к. 828-1132) и JAK3 (а.к. 781-1124) человека с His-тэгом на N-конце экспрессировали в клетках насекомых с использованием бакуловируса и очищали. Каталитическую активность JAK1, JAK2 или JAK3 анализировали путем измерения фосфорилирования биотинилированного пептида. Фосфорилированный пептид выявляли при помощи гомогенной флуоресценции с временным разрешением (HTRF). IC₅₀ соединений измеряли для каждой киназы в 40 мкл реакционных смесях, которые содержали фермент, АТФ и 500 нМ пептида в 50 мМ Трис (рН 7,8) буфера с 100 мМ NaCl, 5 мМ DTT и 0,1 мг/мл (0,01%) BSA. Для измерений 1 мМ IC₅₀ использовали концентрацию АТФ в реакционных смесях, равную 1 мМ. Реакции проводили при комнатной температуре в течение 1 ч и затем останавливали при помощи 20 мкл 45 мМ EDTA, 300 нМ SA-APC, 6 нМ Eu-Py20 в буфере для анализа (Perkin Elmer, Бостон, Массачусетс). Связывание с антителами, помеченными европием, проводили в течение 40 мин, и сигнал HTRF измеряли на считывателе со слитыми пластинами (Fusion plate reader, Perkin Elmer, Бостон, Массачусетс); см. табл.11 для данных, относящихся к соединениям из примеров.

Таблица 11
Данные IC₅₀ для анализа ферментов JAK (при 1 мМ АТФ)

Пример №	JAK1 IC ₅₀ (нМ) *	JAK2 IC ₅₀ (нМ) *	JAK2/ JAK1
1	+	++++	>10
2	+	++	>10
3	+	+++	>10
4	+	++	>10

5	++	+++	>10
6	+	+++	>10
7	+	++	>10
8	+	++	>10
9	+	++	>10
10	++	+++	
11	++	+++	
12	++	+++	
13	+	+++	>10
17	+	++	>10

*300 нМ или меньше (+); >300 до 1000 нМ (++); >1000 нМ (+++); >700 нМ (++++).

Пример В. Анализы клеток.

Линии раковых клеток, зависящих от цитокинов и, следовательно, передачи сигнала по пути JAK/STAT, для роста можно высевать при плотности покрытия 6000 клеток на лунку (формат 96-луночного планшета) в RPMI 1640, 10% FBS и 1 нГ/мл подходящего цитокина. Соединения можно добавить к указанным клеткам в ДМСО/среде (конечная концентрация 0,2% ДМСО) и инкубировать в течение 72 ч при 37°C, 5% CO₂. Влияние соединения на жизнеспособность клеток оценивают при помощи люминесцентного анализа жизнеспособности клеток CellTiter-Glo (Promega) с последующим количественным анализом при помощи TopCount (Perkin Elmer, Бостон, Массачусетс). Потенциальные побочные эффекты соединений измеряют параллельно с использованием клеточной линии без JAK с тем же аналитическим считыванием. Все эксперименты, как правило, выполняют в двух повторностях.

Вышеуказанные клеточные линии также можно использовать для изучения влияния соединений на фосфорилирование JAK-киназ или потенциальных расположенных ниже по каскаду субстратов, таких как белки STAT, Akt, Shp2 или Erk. Эти эксперименты можно проводить после цитокинового голодания в течение ночи и следующей за ним краткой предварительной инкубации с соединением (2 ч или меньше), и стимулирования цитокинами в течение примерно 1 ч или менее. Затем белки экстрагируют из клеток и анализируют с помощью способов, хорошо известных специалисту в данной области, включая Вестерн-блоттинг или ELISA с использованием антител, которые могут различать фосфорилированный и общий белок. В этих экспериментах, чтобы исследовать активность соединений в отношении биологии выживания опухолевых клеток или медиаторов воспалительного заболевания, можно использовать нормальные или раковые клетки. Например, в отношении медиаторов воспалительного заболевания, для того, чтобы стимулировать активацию JAK, приводящую к фосфорилированию STAT-белка(ов) и, возможно, изменению транскрипционных профилей (оценка при помощи микрочипов или технологии количественной ПЦР) или производства и/или секреции белков, таких как IL-17, можно использовать такие цитокины, как IL-6, IL-12, IL-23 или IFN. Способность соединений ингибировать эффекты, опосредованные данными цитокинами, можно измерить с использованием стандартных методов, известных специалистам в данной области техники.

Соединения, описанные в настоящей заявке, также можно проверять на клеточных моделях, предназначенных для оценки их действия и активности в отношении мутантных JAK, например мутации JAK2V617F, обнаруживаемой при миелоидных пролиферативных нарушениях. В этих экспериментах часто используют зависимые от цитокинов гематологические клеточные линии (например, BaF/3), в которые эктопически экспрессируют дикие или мутантные формы JAK-киназ (James, C. и др. Nature 434:1144-1148; Staerk, J. и др. JBC 280:41893-41899). Конечные точки включают влияние соединений на выживаемость клеток, пролиферацию и фосфорилированные белки JAK, STAT, Akt или Erk.

Некоторые соединения, описанные в настоящей заявке, можно оценивать с точки зрения их активности в отношении ингибирования пролиферации Т-клеток. Таким анализом можно считать анализ пролиферации, стимулируемой вторичными цитокинами (т.е. JAK), а также упрощенный анализ иммунного подавления или ингибирования иммунной активации. Ниже приводится краткое описание того, как можно проводить подобные эксперименты. Мононуклеары периферической крови (PBMC) получают из образцов цельной крови человека при помощи способа разделения Ficoll Nyraque, а Т-клетки (фракция 2000) можно получить из PBMC при помощи элютации. Свежевыделенные Т-клетки человека можно поддерживать в культуральной среде (RPMI 1640, дополненная 10% эмбриональной бычьей сывороткой, 100 ед. акт./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина) при плотности 2×10⁶ клеток/мл при 37°C до 2 дней. Для анализа клеточной пролиферации, стимулированной IL-2, Т-клетки сначала обрабатывали фитогемагглютинином (PHA) в конечной концентрации 10 мкг/мл в течение 72 ч. После одной промывки PBS клетки помещали в 96-луночный планшет при плотности 6000 клеток/лунку и обрабатывали соединениями при различных концентрациях в культуральной среде в присутствии 100 ед. акт./мл IL-2 человека (ProSpec-Tany TechnoGene; Реховот, Израиль). Планшеты инкубировали при 37°C в течение 72 ч, и ин-

декс пролиферации измеряли при помощи реагентов CellTiter-Glo Luminescent в соответствии с протоколом производителя (Promega; Мэдисон, Висконсин).

Пример С. Противоопухолевая эффективность *in vivo*.

Соединения, описанные в настоящей заявке, можно оценивать на модели ксенотрансплантата опухоли человека на мышах с нарушенным иммунитетом. Например, опухолеобразующий вариант клеточной линии плазмоцитомы INA-6 можно использовать для подкожной прививки мышам SCID (Burger, R. и др. *Nematol J.* 2:42-53, 2001). Животных, имеющих опухоли, затем можно случайно разделить на группы, получающие лекарственное средство, или получающие плацебо, и можно вводить различные дозы соединений через любое количество обычных путей введения, включая пероральное введение, интраперитонеальное введение или непрерывную инфузию с помощью имплантируемых насосов. Рост опухоли с течением времени отслеживают при помощи циркуля. Кроме того, образцы опухолей можно собирать для анализа, как описано выше (пример В), в любой момент времени после начала лечения, чтобы оценить воздействие соединения на активность JAK и сигнальных путей, расположенных ниже по каскаде. Кроме того, селективность соединения(ий) можно оценивать при помощи ксенотрансплантатов моделей опухолей, обусловленных другими киназами (например, Bcr-Abl), например модели опухоли K562.

Пример D. Кожная реакция гиперчувствительности замедленного типа на мышах.

Соединения, описанные в настоящей заявке, также можно тестировать на предмет их эффективности (ингибирования JAK-мишеней) на модели реакции гиперчувствительности замедленного типа, обусловленной Т-клетками. Ответ гиперчувствительности замедленного типа (DTH) на контакт с кожей у мышей считается действительной моделью клинического контактного дерматита и других опосредованных Т-лимфоцитами иммунных заболеваний кожи, таких как псориаз (*Immunol Today.* 1998 Jan;19(1):37-44). DTH мыши разделяет несколько характеристик с псориазом, в том числе иммунный инфильтрат, сопровождающийся увеличением количества воспалительных цитокинов и гиперпролиферацией кератиноцитов. Кроме того, многие классы агентов, которые являются эффективными в клинической практике лечения псориаза, также являются эффективными ингибиторами DTH-ответа у мышей (*Agents Actions.* 1993 Jan; 38(1-2):116-21).

На 0 и 1 день мышей Balb/c сенсibilизируют путем местного применения антигена 2,4, динитрофторбензола (DNFB) в очищенный от шерсти живот. На 5-й день измеряют толщину ушей при помощи инженерного микрометра. Это измерение записывают и используют в качестве исходного уровня. Оба уха животных затем иммунизируют путем местного применения DNFB в общем количестве 20 мкл (10 мкл на внутреннюю ушную раковину и 10 мкл на наружную ушную раковину) в концентрации 0,2%. Через 24-72 ч после иммунизации уши снова измеряют. Обработка тестируемыми соединениями проводится в течение фаз сенсibilизации и иммунизации (от 1 до 7 дня) или до и во время фазы иммунизации (обычно в дневное время с дня 4 до 7). Тестируемые соединения (в различных концентрациях) вводят либо системно, либо местно (местное применение при обработке ушей). На эффективность тестируемых соединений указывает уменьшение отека уха по сравнению с ситуацией без лечения. Соединения, вызывающие уменьшение на 20% и более, считали эффективными. В некоторых экспериментах мышей иммунизировали, но не сенсibilизировали (отрицательный контроль).

Ингибирующий эффект (ингибирование активации путей JAK-STAT) в тестовых соединениях можно подтвердить при помощи иммуногистохимического анализа. Активация пути (путей) JAK-STAT приводит к образованию и перемещению функциональных транскрипционных факторов. Кроме того, миграция иммунных клеток и увеличение пролиферации кератиноцитов должны также обеспечить уникальные изменения профиля экспрессии в ухе, которые могут быть исследованы и количественно оценены. Срезы фиксированных формалином и заключенных в парафин ушей (собранные после фазы иммунизации в модели DTH) подвергают иммуногистохимическому анализу с использованием антитела, которое специфически взаимодействует с фосфорилированным STAT3 (клон 58E12, Cell Signaling Technologies). Уши мышей обрабатывали тестируемыми соединениями, плацебо или дексаметазоном (клинически эффективное средство для лечения псориаза) или в модели DTH, для сравнения, без обработки. Тестируемые соединения и дексаметазон могут приводить к сходным качественным и количественным изменениям в транскрипции, и тестируемые соединения и дексаметазон могут уменьшать количество инфильтрующих клеток. Системное и местное введение тестируемых соединений может приводить к ингибирующим эффектам, т.е. снижению числа инфильтрующих клеток и ингибированию изменений в транскрипции.

Пример E. Противовоспалительная активность *in vivo*.

Соединения, описанные в настоящей заявке, могут быть оценены на моделях грызунов или не грызунов, предназначенных для репликации одиночного или комплексного воспалительного ответа. Например, модели артрита на грызунах можно использовать для оценки терапевтического потенциала соединений в профилактических или терапевтических дозировках. Эти модели включают, без ограничения, индуцированный коллагеном артрит мышей или крыс, индуцированный адьювантом артрит крыс и артрит, индуцированный антителами против коллагена. Аутоиммунные заболевания, включая, без ограничения, множественный склероз, сахарный диабет типа I, увеоретинит, тиреоидит, тяжелую миастению, иммуноглобулиновые нефропатии, миокардит, сенсibilизацию дыхательных путей (астма), волчанку

или колит, также могут быть использованы для оценки терапевтического потенциала соединений, описанных в настоящей заявке. Эти модели хорошо зарекомендовали себя в научном сообществе и известны специалистам в данной области техники (Current Protocols in Immunology, Vol. 3, Coligan, J.E. и др., Wiley Press.; Methods in Molecular Biology: Vol. 225, Inflammation Protocols., Winyard, P.G. и Willoughby, D.A., Humana Press, 2003.).

Пример F. Модели на животных для лечения синдрома сухого глаза, увеитов и конъюнктивитов.

Агенты можно оценивать на одной или нескольких доклинических моделях сухого глаза, известных специалистам в данной области техники, включая, без ограничения, модель конканавалина А (ConA) на слезной железе кролика, модель скополамина на мышши (подкожная или трансдермальная), модель Botulinum на слезной железе мышши или любой из ряда спонтанных аутоиммунных моделей на грызунах, которые приводят к дисфункции глазной железы (например, NOD-SCID, MRL/lpr или NZB/NZW) (Barabino и др., Experimental Eye Research 2004, 79, 613-621 и Schrader и др., Developmental Ophthalmology, Karger 2008, 41, 298-312, содержание каждой из которых включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки). Конечные точки этих моделей могут включать гистопатологию глазных желез и глаз (роговицы и т.д.) и, возможно, классический тест Ширмера или его модифицированные варианты (Barabino и др.), с помощью которых измеряют выработку слезы. Активность может быть определена при помощи дозирования через множественные пути введения (например, системные или местные), которое можно начать перед или после появления измеряемых проявлений заболевания.

Агенты можно оценивать на одной или нескольких доклинических моделях увеитов, известных специалистам в данной области техники. К ним относятся, без ограничения, модели экспериментальных аутоиммунных увеитов (EAU) и индуцированных эндотоксином увеитов (EIU). Эксперименты EAU можно проводить на кроликах, крысах или мышшах, и эти эксперименты могут включать пассивную или активную иммунизацию. Например, любой из ряда антигенов сетчатки можно использовать для сенсибилизации животных к соответствующему иммуногену, после чего глаза животных можно иммунизировать тем же антигеном. Модель EIU является более острой и включает местное или системное введение липополисахаридов в сублетальных дозах. Конечные точки для обеих моделей EIU и EAC могут включать изучение глазного дна, и, среди прочего, гистопатологию. Эти модели рассматриваются Smith и др. (Immunology and Cell Biology 1998, 76, 497-512, содержание которой включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки). Активность определяют при помощи дозирования через разные пути введения (например, системные или местные), которое можно начать перед или после появления измеряемых проявлений заболевания. Некоторые модели, перечисленные выше, могут также развивать склерит/эписклерит, хориоидит, циклит или ирит и, следовательно, полезны при изучении потенциальной активности соединений для терапевтического лечения этих заболеваний.

Агенты можно также оценивать в одной или нескольких доклинических моделях конъюнктивитов, известных специалистам в данной области техники. Указанные модели включают, без ограничения, модели на грызунах с использованием морской свинки, крысы или мышши. Модели на морской свинке включают модели, при которых используют активную или пассивную иммунизацию и/или иммунные протоколы иммунизации антигенами, такими как овальбумин или амброзия (рассмотрено в Groneberg, D.A. и др., Allergy 2003, 58, 1101-1113, содержание которой включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки). Модели на крысах и мышшах в целом сходны с моделями на морской свинке (также рассмотрено Groneberg). Активность может быть определена при помощи дозирования через множественные пути введения (например, системные или местные), которое можно начать перед или после появления измеряемых проявлений заболевания. Конечные точки для таких исследований могут включать в себя, например, гистологический, иммунологический, биохимический или молекулярный анализ глазных тканей, например конъюнктивы.

Пример G. Защита кости *in vivo*.

Соединения можно оценивать в различных доклинических моделях остеопении, остеопороза или резорбции кости, известных специалистам в данной области техники. Например, грызунов после овариэктомии можно использовать для оценки способности соединений влиять на признаки и маркеры ремоделирования и/или плотности кости (W.S.S. Jee и W. Yao, J Musculoskel. Nueron. Interact., 2001, 1(3), 193-207, содержание которой включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки). Кроме того, плотность и архитектуру костной ткани можно оценивать у контрольных или получающих соединения грызунов на моделях остеопении, вызванной терапией (например, глюкокортикоидами) (Yao и др. Arthritis and Rheumatism, 2008, 58(6), 3485-3497; и id. 58(11), 1674-1686, содержание которых включено в настоящую заявку во всей полноте посредством ссылки). Кроме того, воздействие соединений на резорбцию и плотность кости могут быть оценены на моделях артрита на грызунах, описанных выше (пример E). Конечные точки для всех этих моделей могут отличаться, но часто включают в себя гистологические и радиологические оценки, а также иммуногистологию и соответствующие биохимические маркеры костного ремоделирования.

Пример H. Модель на трансгенных мышшах S100A9.

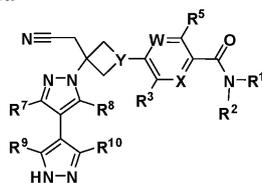
Ранее было показано, что трансгенные мышши S100A9 обнаруживают накопление MDSC в костном мозгу, что сопровождается развитием прогрессивной мультилинейной цитопении и цитологической дис-

плазии, аналогичной МДС. Кроме того, раннее принудительное созревание MDSC, вызванное либо полностью транс-ретиноевой кислотой, либо прерывание CD33 сигналинга активного иммунорецептора тирозин-зависимой активации, основанного на мотиве (ITAM-основанная) адаптерного белка (DAP12), позволяло сохранить гематологический фенотип и обеспечивало смягчение заболевания. Эта система может быть полезной для оценки влияния на ингибирование JAK1 при МДС-подобном заболевании в доклинической модели. J. Clin. Invest., 123 (11):4595-4611 (2013). Соответственно селективный ингибитор JAK1 дозируется через желудочный зонд. Способность соединений уменьшать цитопении и цитологическую дисплазию наблюдали на трансгенных мышах S100A9.

Специалистам в данной области техники после изучения приведенного выше описания будут понятны различные модификации изобретения помимо тех, которые описаны в настоящей заявке. Предполагается, что указанные модификации также входят в объем прилагаемой формулы изобретения. Содержание каждого документа, приведенного в настоящей заявке, включая все патенты, патентные заявки и публикации, полностью включено в настоящую заявку посредством ссылок.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение, имеющее формулу Ia



Ia

или его фармацевтически приемлемая соль,

где X представляет собой CR⁴ и W представляет собой CR⁶ или X представляет собой N и W представляет собой N;

Y представляет собой N;

R¹ представляет собой C₁₋₆ алкил или C₁₋₆ галогеналкил, где указанный C₁₋₆ алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 заместителями, независимо выбранными из фтора, -CF₃ и метила;

R² представляет собой H или метил;

R³ представляет собой H или F;

R⁴ представляет собой H или F;

R⁵ представляет собой H или F;

R⁶ представляет собой H или F;

R⁷ представляет собой H, метил или HO-CH₂-;

R⁸ представляет собой H или метил;

R⁹ представляет собой H, метил или этил и

R¹⁰ представляет собой H, метил, этил или HO-CH₂-.

2. Соединение по п.1 или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, где X представляет собой N и W представляет собой N.

3. Соединение по п.1 или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, где X представляет собой CR⁴ и W представляет собой CR⁶.

4. Соединение по п.3 или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, где R⁴ представляет собой F.

5. Соединение по п.3 или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, где R⁶ представляет собой F.

6. Соединение по п.1 или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, где R² представляет собой H.

7. Соединение по п.1 или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, где R¹ представляет собой изопропил, этил, 1-метилпропил, 2,2,2-трифтор-1-метилэтил, 2,2,2-трифторэтил или 2,2-дифторэтил.

8. Соединение по п.1 или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, где R¹ представляет собой изопропил, этил, 1-метилпропил или 2,2,2-трифтор-1-метилэтил.

9. Соединение по п.1 или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, где R⁸ представляет собой H.

10. Соединение по п.1 или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, где R⁹ представляет собой H.

11. Соединение по п.1 или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, где R⁹ представляет собой метил.

12. Соединение по п.1 или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, где R¹⁰ представляет собой H.

13. Соединение по п.1 или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, где R¹⁰ представляет собой метил.

14. Соединение по п.1 или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, где R¹⁰ представляет собой этил.

15. Соединение по п.1 или фармацевтически приемлемая соль указанного соединения, где R¹⁰ представляет собой HO-CH₂-.

16. Соединение по п.1, выбранное из

5-[3-(цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид;

5-[3-(цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид;

4-[3-(цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилбензамида;

4-[3-(цианометил)-3-(3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида;

4-[3-(1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)-3-(цианометил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида;

5-[3-(цианометил)-3-(3,3'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид;

4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида;

5-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид;

5-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид;

5-[3-(цианометил)-3-(3-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид;

5-[3-(цианометил)-3-(3'-этил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]пиразин-2-карбоксамид;

4-{3-(цианометил)-3-[3'-(гидроксиметил)-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида;

4-{3-(цианометил)-3-[3-(гидроксиметил)-3'-метил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида;

или его фармацевтически приемлемая соль.

17. Соединение по п.1, которое представляет собой 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид или его фармацевтически приемлемую соль.

18. Соль, выбранная из

соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и фосфорной кислоты;

соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и хлористоводородной кислоты;

соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и бромистоводородной кислоты и

соли 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида и серной кислоты.

19. Композиция для ингибирования активности JAK1, содержащая соединение или соль по любому из пп.1-18 и фармацевтически приемлемый носитель.

20. Способ ингибирования активности JAK1, включающий приведение JAK1 в контакт с соединением или солью по любому из пп.1-18.

21. Способ по п.20, отличающийся тем, что указанное соединение или соль селективны в отношении JAK1 по сравнению с JAK2.

22. Способ лечения аутоиммунного заболевания, ракового заболевания, миелопролиферативного нарушения или отторжения трансплантированного органа у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-17 или его фармацевтически приемлемой соли, или соли по п.18, где

указанное аутоиммунное заболевание связано с аномальной экспрессией или активностью JAK1, и заболевание выбирают из atopического дерматита, псориаза, увеличения чувствительности кожи, раздражения кожи, кожной сыпи, контактного дерматита, аллергического контактного дерматита, рассеянного склероза, ревматоидного артрита, псориазического артрита, ювенильного артрита, диабета I типа, волчанки, системной красной волчанки, воспалительного заболевания кишечника, болезни Крона, миастении, иммуноглобулиновых нефропатий, миокардита и аутоиммунного нарушения щитовидной железы;

указанное раковое заболевание связано с аномальной экспрессией или активностью JAK1, и заболевание выбирают из солидной опухоли, рака простаты, рака почки, рака печени, рака молочной железы, рака легкого, рака щитовидной железы, саркомы Капоши, болезни Кастлемана, рака поджелудочной железы, лимфомы, лейкоза, множественной миеломы, истинной полицитемии (ИП), эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ), первичного миелофиброза (ПМФ), миелофиброза, вызванного истинной полицитемией (Пост-ИП/ЭТ МФ), миелофиброза, вызванного эссенциальной тромбоцитемией (Пост-ЭТ МФ), хронического миелогенного лейкоза (ХМЛ), хронического миеломоноцитарного лейкоза (ХММЛ), гиперэозинофильного синдрома (ГЭС), идиопатического миелофиброза (ИМФ) и системного мастоцитоза (СМЦ); и

указанное отторжение трансплантированного органа связано с аномальной экспрессией или активностью JAK1, и заболевание выбирают из отторжения аллотрансплантата и болезни "трансплантат против хозяина".

23. Способ по п.22 для лечения заболевания кожи, рассеянного склероза, ревматоидного артрита, псориазического артрита, ювенильного артрита, диабета I типа, волчанки, системной красной волчанки, воспалительного заболевания кишечника, болезни Крона, тяжелой миастении, иммуноглобулиновых нефропатий, миокардита или аутоиммунного нарушения щитовидной железы.

24. Способ по п.22 для лечения ревматоидного артрита.

25. Способ по п.22 для лечения атопического дерматита, псориаза, увеличения чувствительности кожи, раздражения кожи, кожной сыпи, контактного дерматита или сенсibilизации, обусловленной контактом с аллергеном.

26. Способ по п.22 для лечения солидной опухоли.

27. Способ по п.22 для лечения рака простаты, рака почки, рака печени, рака молочной железы, рака легкого, рака щитовидной железы, саркомы Капоши, болезни Кастлемана или рака поджелудочной железы.

28. Способ по п.22 для лечения лимфомы, лейкоза или множественной миеломы.

29. Способ по п.22 для лечения истинной полицитемии (ИП), эссенциальной тромбоцитемии (ЭТ), первичного миелофиброза (ПМФ), хронического миелогенного лейкоза (ХМЛ), хронического миеломоноцитарного лейкоза (ХММЛ), гиперэозинофильного синдрома (ГЭС), идиопатического миелофиброза (ИМФ) или системного мастоцитоза (СМЦ).

30. Способ по п.22 для лечения миелофиброза.

31. Способ по п.22 для лечения первичного миелофиброза (ПМФ).

32. Способ по п.22 для лечения миелофиброза, вызванного истинной полицитемией (Пост-ИП/ЭТ МФ).

33. Способ по п.22 для лечения миелофиброза, вызванного эссенциальной тромбоцитемией (Пост-ЭТ МФ).

34. Способ по п.22 для лечения истинной полицитемии (ИП).

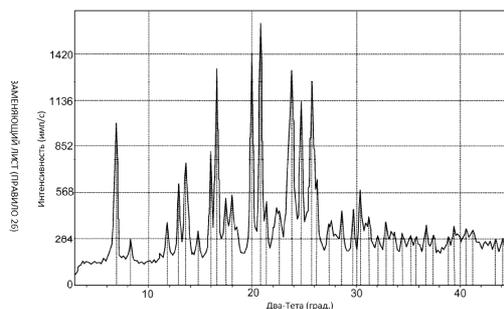
35. Способ по п.22 для лечения отторжения аллотрансплантата.

36. Способ по п.22 для лечения болезни "трансплантат против хозяина".

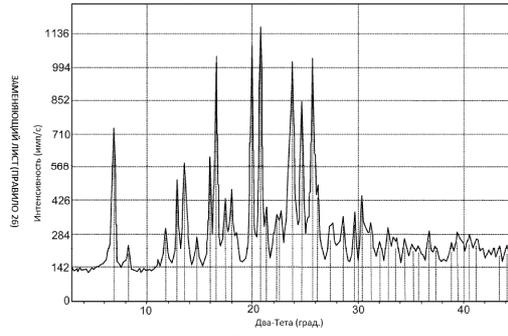
37. Способ по п.22 для лечения системной красной волчанки.

38. Способ по п.22 для лечения диабета I типа.

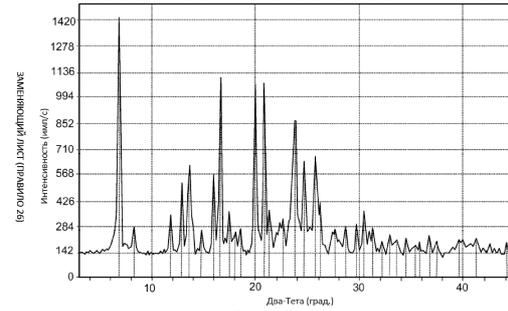
39. Способ лечения миелодиспластического синдрома (МДС) у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества соединения по любому из пп.1-17 или его фармацевтически приемлемой соли, или соли по п.18; где указанный миелодиспластический синдром связан с аномальной экспрессией или активностью JAK1, и заболевание выбирают из рефрактерной цитопении с однолинейной дисплазией (RCUD), рефрактерной анемии с кольцевыми сидеробластами (RARS), рефрактерной цитопении с мультилинейной дисплазией, рефрактерной анемии с избытком бластов-1 (RAEB-1), рефрактерной анемии с избытком бластов-2 (RAEB-2), неклассифицированного миелодиспластического синдрома (MDS-U) и миелодиспластического синдрома, ассоциированного с изолированной делецией (5q).



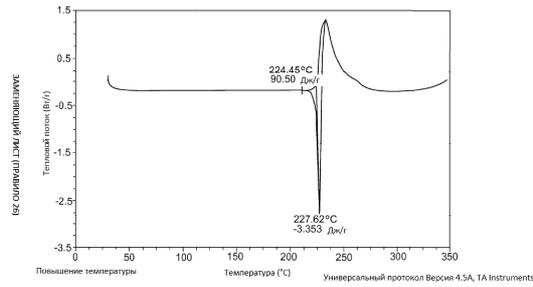
Фиг. 1



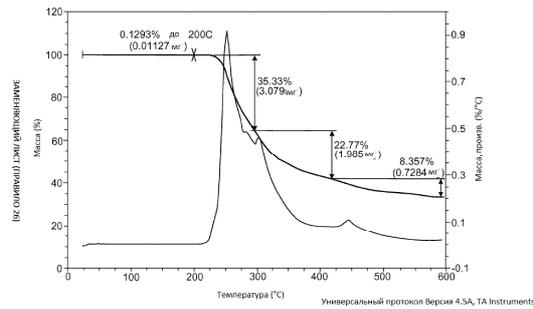
Фиг. 2



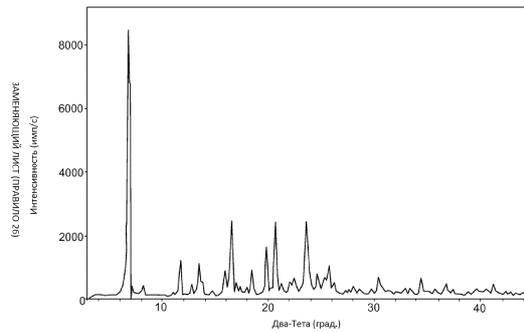
Фиг. 3



Фиг. 4А

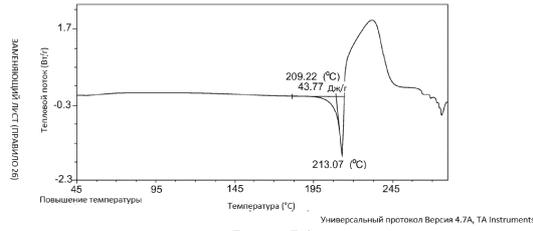


Фиг. 4В

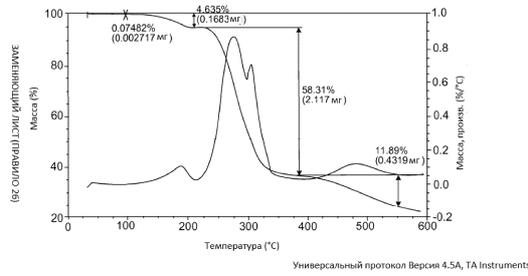


Фиг. 4С

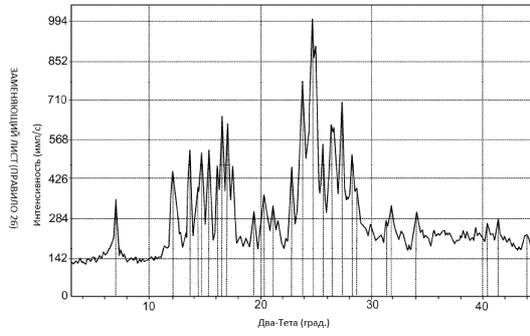
036448



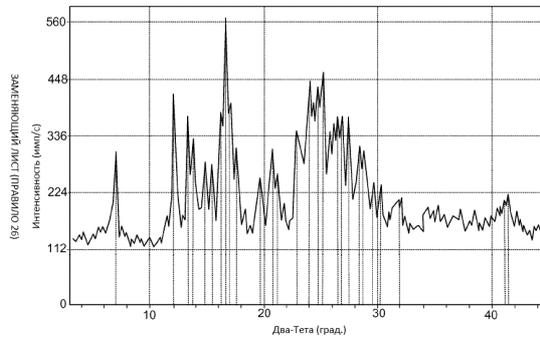
Фиг. 5А



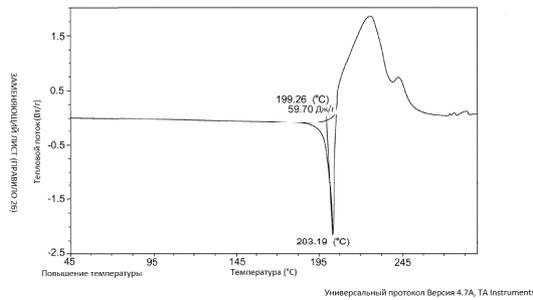
Фиг. 5В



Фиг. 5С

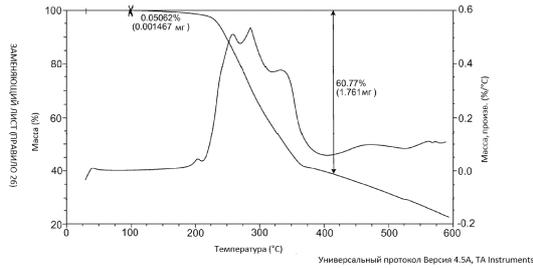


Фиг. 6

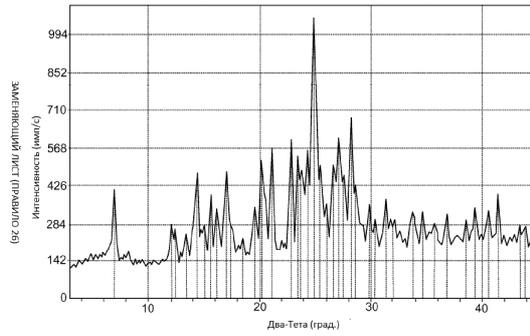


Фиг. 7А

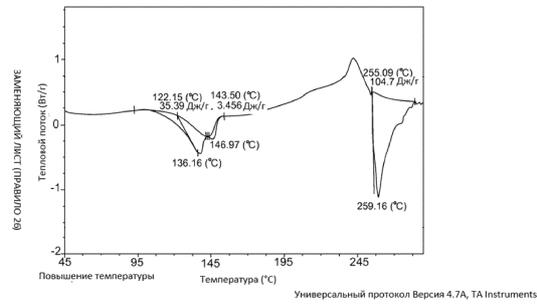
036448



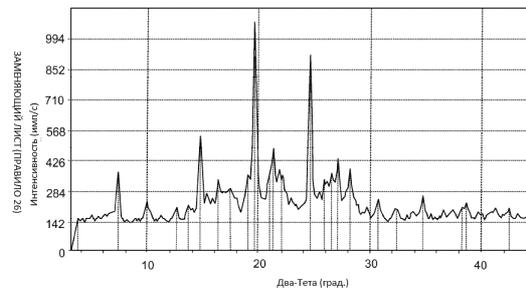
Фиг. 7В



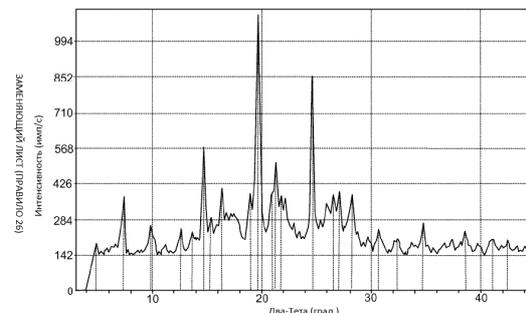
Фиг. 7С



Фиг. 8А



Фиг. 8В



Фиг. 9

