

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **036970**

(13) **B1**

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

<b>(45)</b> Дата публикации и выдачи патента	<b>(51)</b> Int. Cl.	<i>C07D 401/14</i> (2006.01) <i>C07D 405/14</i> (2006.01) <i>A61K 31/4155</i> (2006.01) <i>A61K 31/437</i> (2006.01) <i>A61K 31/4468</i> (2006.01) <i>A61P 29/00</i> (2006.01)
2021.01.21		
<b>(21)</b> Номер заявки		
201890558		
<b>(22)</b> Дата подачи заявки		
2011.03.09		

**(54) ПРИМЕНЕНИЕ {1-{1-[3-ФТОР-2-(ТРИФТОМЕТИЛ)ИЗОНИКОТИНОИЛ] ПИПЕРИДИН-4-ИЛ}-3-[4-(7Н-ПИРРОЛО[2,3-D]ПИРИМИДИН-4-ИЛ)-1Н-ПИРАЗОЛ-1-ИЛ]АЗЕТИДИН-3-ИЛ}АЦЕТОНИТРИЛА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ, СВЯЗАННЫХ С АКТИВНОСТЬЮ JAK1**

<b>(31)</b> 61/312,588; 61/415,602	<b>(56)</b> US-A1-2009233903
<b>(32)</b> 2010.03.10; 2010.11.19	WO-A1-2007117494
<b>(33)</b> US	WO-A1-2007070514
<b>(43)</b> 2019.09.30	WO-A1-2010039939
<b>(62)</b> 201290894; 2011.03.09	

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**ИНСАЙТ ХОЛДИНГС  
КОРПОРЕЙШН (US)**

**(72)** Изобретатель:  
**Хуан Тайшэн, Сюэ Чу-Бяо, Ван  
Аньлай, Кун Лин, Е Хай Фэнь, Яо  
Вэньцин, Роджерс Джеймс Д., Шепард  
Стейси, Ван Хайшэн, Шао Лисинь, Ли  
Хой-Инь, Ли Цюнь (US)**

**(74)** Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

**(57)** В изобретении представлены способы применения {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли, которое модулирует активность Янус-киназы 1 (JAK1) и является полезным для лечения заболеваний, связанных с активностью JAK1, выбранного из отторжения аллотрансплантата и заболевания "трансплантат против хозяина" у пациента, нуждающегося в этом.

**B1**

**036970**

**036970**

**B1**

### Область техники

В настоящем изобретении представлено применение соединения, представляющего собой {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил и способ лечения с применением указанного соединения, которое модулирует активность Янус-киназы (JAK) и является полезными для лечения заболеваний, связанных с активностью JAK1, включая, например, отторжение аллотрансплантата и заболевание "трансплантат против хозяина".

### Уровень техники

Протеинкиназы (PK) регулируют разнообразные важные биологические процессы, включая, помимо прочего, рост, выживание и дифференцировку клеток, формирование органов и морфогенез, неоваскуляризацию, восстановление и регенерацию тканей. Протеинкиназы также играют особые роли в носителе заболеваний человека, включая рак. Цитокины, полипептиды с низким молекулярным весом, или гликопротеины, регулируют многие пути, участвующие в воспалительной реакции хозяина на сепсис. Цитокины влияют на дифференцировку, пролиферацию и активацию клеток и могут модулировать провоспалительные и противовоспалительные реакции для обеспечения соответствующей реакции носителя на патогены. Сигналинг широкого ряда цитокинов включает семейство Янус-киназ (JAK) протеин-тирозинкиназ и сигнальные трансдукторы и активаторы транскрипции (STAT). Известно четыре JAK млекопитающих: JAK1 (Янус-киназа-1), JAK2, JAK3 (также известная как Янус-киназа, лейкоцит; JAKL; и L-JAK) и TYK2 (протеин-тирозинкиназа 2).

Новые или усовершенствованные агенты, которые ингибируют такие киназы, как JAK, постоянно требуют разработки новых и более эффективных лекарственных средств, предназначенных для усиления или подавления иммунных и воспалительных путей (таких как иммуносупрессорные агенты для трансплантатов органов). Соединение настоящего изобретения, а также его композиции и способы, описанные в настоящем документе, направлены на удовлетворение этих потребностей и других целей.

### Сущность изобретения

В настоящем изобретении, помимо прочего, представлен способ лечения заболевания, выбранного из отторжения аллотрансплантата и заболевания "трансплантат против хозяина" у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения, представляющего собой {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил, или его фармацевтически приемлемой соли.

В настоящем изобретении дополнительно представлены композиции, включающие {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель.

В настоящем изобретении представлено также применение {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила, описанного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемых солей для получения лекарственных средств для лечения заболевания, выбранного из отторжения аллотрансплантата и заболевания "трансплантат против хозяина".

Подробности одного или более вариантов воплощения настоящего изобретения представлены далее в прилагаемых фигурах и описаниях. Другие особенности, объекты и преимущества настоящего изобретения являются понятными из описания и фигур, а также из формулы изобретения.

### Краткое описание фигур

Фиг. 1 представляет термограмму DSC для продукта примера 3.

Фиг. 2 представляет термограмму ТГА для продукта примера 3.

Фиг. 3 представляет диаграмму XRPD для продукта примера 3.

### Подробное описание

Настоящее изобретение относится к способам лечения JAK-связанного заболевания или нарушения у субъекта (например, пациента) путем введения субъекту, нуждающемуся в таком лечении, терапевтически эффективного количества или дозы соединения, представляющего собой {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил, или его фармацевтически приемлемой соли. Примеры JAK-связанных заболеваний включают заболевания, затрагивающие иммунную систему, включая, например, отторжение трансплантата органа (например, отторжение аллотрансплантата и заболевание "трансплантат против хозяина").

В одном из вариантов воплощения изобретения заболевание представляет собой отторжение аллотрансплантата.

В одном из вариантов воплощения изобретения заболевание представляет собой заболевание "трансплантат против хозяина".

В одном из вариантов воплощения изобретения фармацевтически приемлемая представляет собой соль адипиновой кислоты {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-

пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила.

В некоторых вариантах воплощения изобретения эта соль является солью, описанной в примере 358.

В некоторых вариантах воплощения изобретения эта соль характеризуется точкой плавления около 178°C. В некоторых вариантах воплощения изобретения эта соль имеет термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии, которая характеризуется эндотермическим пиком с температурой начала около 176°C. В некоторых вариантах воплощения изобретения эта соль имеет термограмму дифференциальной сканирующей калориметрии, в основном такую, как показано на фиг. 1.

В некоторых вариантах воплощения изобретения эта соль имеет термограмму термогравиметрического анализа, в основном, такую, как показано на фиг. 2. В некоторых вариантах воплощения изобретения эта соль имеет диаграмму порошковой рентгеновской дифракции, включающую характеристический пик, выраженный в градусах  $2\theta$ , при около 10,4. В некоторых вариантах воплощения изобретения эта соль имеет диаграмму порошковой рентгеновской дифракции, включающую характеристический пик, выраженный в градусах  $2\theta$ , при около 6,9. В некоторых вариантах воплощения изобретения эта соль имеет диаграмму порошковой рентгеновской дифракции, включающую характеристический пик, выраженный в градусах  $2\theta$ , при около 21,0. В некоторых вариантах воплощения изобретения эта соль имеет диаграмму порошковой рентгеновской дифракции, включающую характеристический пик, выраженный в градусах  $2\theta$ , при около 23,3. В некоторых вариантах воплощения изобретения эта соль имеет диаграмму порошковой рентгеновской дифракции, включающую характеристический пик, выраженный в градусах  $2\theta$ , при около 6,9, 10,4, 21,0 и 23,3. В некоторых вариантах воплощения изобретения эта соль имеет диаграмму порошковой рентгеновской дифракции, в основном, такую, как показано на фиг. 3.

Диаграмма отражений XRPD (пики) обычно считается отпечатком конкретной кристаллической формы. Хорошо известно, что относительные интенсивности пиков XRPD могут широко варьироваться в зависимости, помимо прочего, от способа получения образца, распределения кристалла по размеру, различных используемых фильтров, процедуры закрепления образца и конкретного используемого прибора. В некоторых случаях могут наблюдаться новые пики или могут исчезать существующие пики в зависимости от типа устройства или настроек (например, в зависимости от того, используется ли Ni фильтр или нет). При использовании в настоящем документе термин "пик" относится к отражению, имеющему относительно большую высоту/интенсивность, составляющую по меньшей мере 4% от высоты/интенсивности максимального пика. Кроме того, инструментальные отклонения и другие факторы могут влиять на значения  $2$ -тета. Поэтому отнесение пиков, подобных тем, что предоставлены в настоящем документе, может варьироваться на плюс или минус около  $0,2^\circ$  ( $2$ -тета), и предполагается, что термин "в основном", используемый в описании в контексте XRPD, охватывает любые перечисленные выше варианты.

Таким же образом значения температур в связи с DSC, TGA или другими термическими экспериментами могут варьироваться около  $\pm 3^\circ\text{C}$  в зависимости от прибора, конкретных настроек, подготовки образца и так далее. Соответственно кристаллическая форма, данная в настоящем документе, которая имеет термограмму DSC "в основном" такую, как показано на любой из фигур, понимается как охватывающая такие вариации.

Соединение по изобретению и его фармацевтически приемлемые соли могут быть получены вместе с другими веществами, такими как вода и растворители (например, гидраты и сольваты), или могут быть выделены.

В некоторых вариантах воплощения изобретения соединение настоящего изобретения или его соли являются, в основном, выделенными. Термин "в основном, выделенные" означает, что соединение является, по меньшей мере, частично или по большей части отделенным от окружающей среды, в которой оно было образовано или обнаружено. Частичное разделение может включать, например, композицию, обогащенную соединениями настоящего изобретения. Существенное разделение может включать композицию, содержащие по меньшей мере около 50 вес.%, по меньшей мере около 60 вес.%, по меньшей мере около 70 вес.%, по меньшей мере около 80 вес.%, по меньшей мере около 90 вес.%, по меньшей мере около 95 вес.%, по меньшей мере около 97 вес.% или по меньшей мере около 99 вес.% соединения настоящего изобретения или его соли. Способы выделения соединений и их солей являются общепринятыми в данной области.

Выражение "фармацевтически приемлемый", употребляемое в настоящем документе, относится к таким соединениям, материалам, композициям и/или лекарственным формам, которые являются, по результатам тщательной медицинской клинической оценки, пригодными для использования в контакте с тканями организма человека и животных, без избыточной токсичности, раздражения, аллергических реакций или других проблем или осложнений, соразмерно с отношением приемлемой пользы и риска.

Выражения "температура окружающей среды" и "комнатная температура", используемые в настоящем документе, являются понятными в данной области и обозначают, в основном, температуру, например температуру реакции, которая примерно равна температуре в комнате, в которой выполняется реакция, например температуру от около 20 до около  $30^\circ\text{C}$ .

В настоящее изобретение включены также фармацевтически приемлемые соли соединений, описанных в настоящем документе. Используемый в настоящем документе термин "фармацевтически приемлемые соли" относится к производным описанных соединений, где исходное соединение модифицировано превращением существующей кислотной или основной группы в ее солевую форму. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, но не ограничиваясь этим, соли минеральных или органических кислот и основных остатков, таких как амины; щелочные или органические соли кислотных остатков, таких как карбоновые кислоты; и тому подобные. Фармацевтически приемлемые соли настоящего изобретения включают нетоксичные соли исходного соединения, образованные, например, из нетоксичных неорганических или органических кислот. Фармацевтически приемлемые соли настоящего изобретения могут быть синтезированы из исходного соединения, содержащего основную или кислотную группу, обычными химическими способами. Обычно такие соли могут быть получены при взаимодействии свободной кислотной или основной формы этих соединений со стехиометрическим количеством соответствующего основания или кислоты в воде или органическом растворителе или в смеси их обоих; как правило, предпочтительными являются такие неводные среды, как эфир, этилацетат, спирты (например, метанол, этанол, изопропанол или бутанол) или ацетонитрил (ACN). Списки пригодных солей представлены в публикациях Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 и Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977), каждая из которых включена в настоящую заявку путем ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах воплощения изобретения соединения, описанные в настоящем документе, включают N-оксидные формы.

#### Синтез.

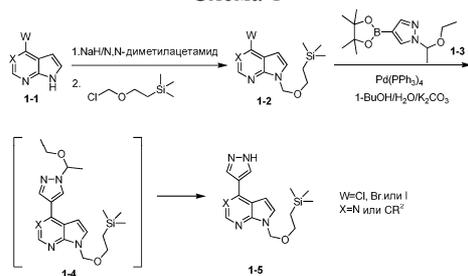
Соединение настоящего изобретения, включая его соли, может быть получено по известным методам синтеза и может быть синтезировано одним из многочисленных возможных путей синтеза, таких как пути, показанные на схемах ниже. Реакции получения соединения настоящего изобретения могут быть выполнены в подходящих растворителях, которые специалист в области органического синтеза может легко подобрать. Подходящими растворителями могут быть растворители, по большей части не реагирующие с исходными материалами (реагентами), промежуточными соединениями или продуктами при температурах выполнения реакции, например температурах, которые могут изменяться от температуры заморозки растворителя до температуры кипения растворителя. Данную реакцию можно выполнить в одном растворителе или в смеси из большего количества растворителей. В зависимости от конкретной стадии реакции пригодные растворители для конкретной стадии реакции могут быть подобраны специалистом в данной области.

Получение соединения настоящего изобретения может включать защиту и снятие защиты с различных химических групп. Необходимость защиты или снятия защиты, а также выбор соответствующих защитных групп, могут быть легко установлены специалистом в данной области. Химия защитных групп представлена, например, в публикации Wuts and Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, 4th ed., John Wiley & Sons: New Jersey, (2007), которая включена в настоящую заявку путем ссылки в полном объеме.

Реакции могут контролироваться в соответствии с любым пригодным способом, известным в данной области. Например, образование продукта можно контролировать спектроскопическими средствами, такими как спектроскопия ядерного магнитного резонанса (например,  $^1\text{H}$  или  $^{13}\text{C}$ ), инфракрасная спектроскопия, спектрофотометрия (например, УФ-видимая), масс-спектрометрия, или хроматографическими способами, такими как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) или тонкослойная хроматография (ТСХ).

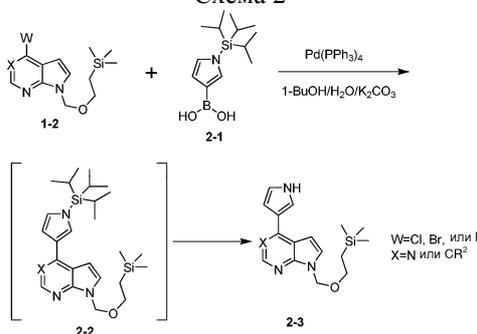
Соединение по изобретению может быть получено способами, представленным на схемах 1-4. Промежуточные соединения формулы 1-5 могут быть синтезированы способами, описанными на схеме 1. Имеющийся в продаже исходный материал пирроло[2,3-d]пиримидин-4-галогенид или 5-замещенный пирроло[2,3-b]пиримидин-4-галогенид (1-1) может быть превращен в SEM (2-(триметилсилил)этоксиметил), защищенное промежуточное соединение формулы 1-2 путем обработки гидридом натрия, а затем 2-(триметилсилил)этоксиметилхлоридом. Связывание Сузуки соединения 1-2 с бороновой кислотой пиразола, такой как 1-(1-этоксиэтил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол (1-3), с использованием палладиевого реагента, такого как тетракис(трифенилфосфин)палладий(0), дает промежуточное соединение 1-4, которое может быть превращено *in situ* в заданный продукт 1-5 после продолжения реакции.

Схема 1



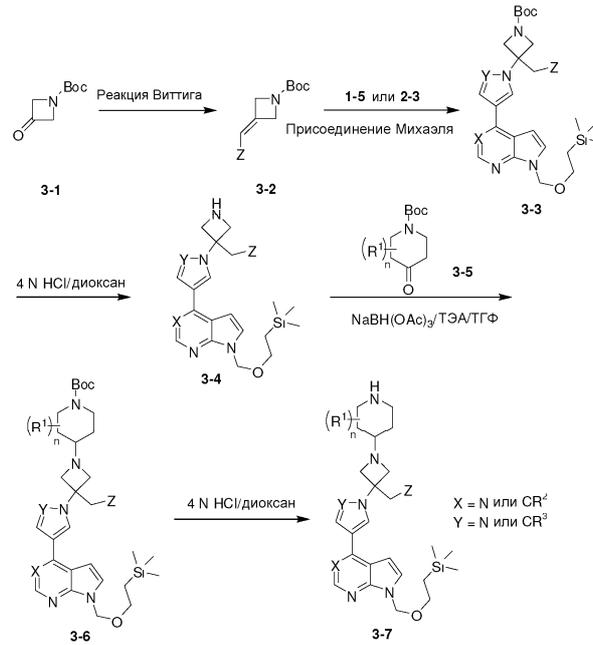
Промежуточные соединения формулы 2-3 могут быть синтезированы в соответствии с последовательностью, изображенной на схеме 2. SEM-защищенное промежуточное соединение 1-2 подвергается связыванию Сузуки с бороновой кислотой защищенного пиррола, такой как 1-(триизопропилсилил)пиррол-3-бороновая кислота (2-1), с использованием палладиевого реагента, такого как тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0), в присутствии основания. Продукт связывания формулы 2-2 может быть превращен в заданный продукт формулы 2-3 *in situ* путем выполнения реакции в течение ночи в той же среде.

Схема 2



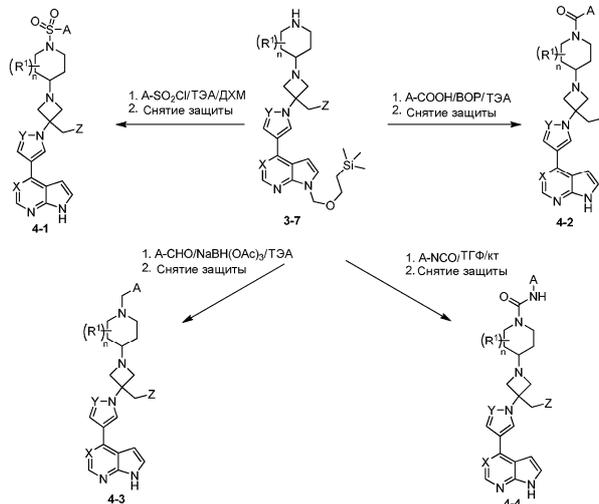
Промежуточные соединения формулы 3-7 могут быть получены по методикам, представленным на схеме 3. Вос-защищенный азетидинон формулы 3-1 подвергается реакции Виттига с фосфонатом, таким как диэтилцианометилфосфонат, в присутствии основания, такого как гидрид натрия, с образованием цианопроизводного формулы 3-2. Присоединение Михаэля промежуточных соединений формулы 1-5 или 2-3 к производному формулы 3-2 в присутствии основания, такого как DBU, дает продукт присоединения формулы 3-3. После удаления группы Вос (например, используя кислоту, такую как 4 н. раствор HCl в диоксане) восстановительное аминирование полученного азетидина формулы 3-4 с N-Вос защищенным пиперидиноном формулы 3-5 с использованием восстановительного агента, такого как триацетоксиборгидрид натрия, дает соединение формулы 3-6. Удаление группы Вос в соединении формулы 3-6 (например, используя кислоту, такую как 4 н. раствор HCl в диоксане) дает заданные промежуточные соединения формулы 3-7.

Схема 3



Промежуточные соединения формулы 3-7 могут быть дериватизованы по пиперидиновому азоту с получением ряда соединений формулы I, как показано на схеме 4. Реакция соединения формулы 3-7 с сульфонилхлоридом с последующей обработкой сначала ТФК, а затем этилендиамином для удаления группы SEM дает сульфонамидные производные формулы 4-1. Связывание соединения формулы 3-7 с карбоновой кислотой с использованием связывающего агента, такого как BOP или с ацилхлоридом, с последующим удалением группы SEM дает амидные соединения формулы 4-2. Восстановительное аминирование соединения формулы 3-7 альдегидом с использованием восстановительного агента, такого как триацетоксиборгидрид натрия, с последующим удалением группы SEM дает N-алкиловые производные формулы 4-3. Реакция соединения формулы 3-7 с изоцианатом с последующим удалением группы SEM дает соединения мочевины формулы 4-4.

Схема 4



#### Способы.

Соединение настоящего изобретения является ингибитором JAK и является селективным ингибитором JAK1. Селективный ингибитор JAK1 является соединением, которое ингибирует активность JAK1 предпочтительно по сравнению с другими Янус-киназами. Например, соединение настоящего изобретения предпочтительно ингибируют JAK1 по сравнению с одной или более из JAK2, JAK3 и TYK2. В некоторых вариантах воплощения изобретения это соединение ингибирует JAK1 предпочтительно по сравнению с JAK2 (например, имеют отношение IC<sub>50</sub> JAK1/JAK2 >1).

В некоторых вариантах воплощения изобретения это соединение примерно в 10 раз более селективно по отношению к JAK1, чем к JAK2. В некоторых вариантах воплощения изобретения это соединение примерно в 3 раза, примерно в 5 раз, примерно в 10 раз, примерно в 15 раз или примерно в 20 раз более селективно по отношению к JAK1, чем к JAK2, что рассчитано по измерению IC<sub>50</sub> при 1 мМ АТФ (например, см. пример А).

Селективные ингибиторы JAK1 по сравнению с другими JAK киназами могут иметь множественные терапевтические преимущества по сравнению с менее селективными ингибиторами. В отношении селективности против JAK2, ряд важных цитокинов и факторов роста передают сигнал через JAK2, включая, например, эритропоэтин (Еро) и тромбопоэтин (Тро) (Parganas E., et al. Cell. 93:385-95, 1998). Еро является ключевым фактором роста для выработки красных кровяных телец; поэтому недостаточность Еро-зависимого сигналинга может привести к пониженному количеству красных кровяных телец и анемии (Kaushansky K., NEJM 354:2034-45, 2006). Тро, другой пример JAK2-зависимого фактора роста, играет центральную роль в контроле пролиферации и созревании мегакариоцитов - клеток, из которых вырабатываются тромбоциты (Kaushansky K., NEJM 354:2034-45, 2006). Поэтому пониженный сигналинг Тро снижает количество мегакариоцитов (мегакарицитопения) и понижает количество циркулирующих тромбоцитов (тромбоцитопения). Это может привести к нежелательному и/или неконтролируемому кровотечению. Пониженное ингибирование других JAK, таких как JAK3 и Tyk2, также может быть желательным, поскольку было показано, что люди с недостатком функциональной версии этих киназ страдают от многих болезней, таких как сложный комбинированный иммунодефицит или синдром гипериммуноглобулина Е (Minegishi, Y., et al. Immunity 25:745-55, 2006; Macchi P., et al. Nature. 377:65-8, 1995). Поэтому ингибитор JAK1 с пониженным сродством к другим JAK обладает существенными преимуществами по сравнению с менее селективным ингибитором в отношении пониженного количества побочных эффектов, включая подавление иммунитета, анемию и тромбоцитопению.

В некоторых вариантах воплощения настоящего изобретения представлено применение соединения, представляющего собой {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил, или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства для лечения заболевания, выбранного из отторжения аллотрансплантата и заболевания "трансплантат против хозяина".

Используемый в настоящем документе термин "взаимодействие" относится к соединению указанных групп в системах *in vitro* или системах *in vivo*. Например, "взаимодействие" JAK с соединением настоящего изобретения включает введение соединения настоящего изобретения субъекту или пациенту, такому как человек, имеющему JAK, а также, например, введение соединения настоящего изобретения в образец, содержащий клеточный или очищенный препарат, содержащий JAK.

Используемые в настоящем документе термины "субъект" или "пациент", которые применяются взаимозаменяемо, относятся к любому животному, включая млекопитающих, предпочтительно мышей, крыс, других грызунов, кроликов, собак, кошек, свиней, крупный рогатый скот, овец, лошадей или приматов и наиболее предпочтительно людей.

Используемое в настоящем документе выражение "терапевтически эффективное количество" относится к такому количеству активного соединения или фармацевтического средства, которое вызывает биологическую или медицинскую реакцию, ожидаемую исследователем, ветеринаром, лечащим врачом или другим клиницистом, в ткани, системе, организме животного, субъекта или человека. В некоторых вариантах воплощения изобретения терапевтически эффективное количество составляет от около 5 до около 1000 мг или от около 10 до около 500 мг.

Используемый в настоящем документе термин "лечение" или "терапия" относится к одному или более из (1) предотвращение заболевания; например предотвращение заболевания, состояния или нарушения у субъекта, который, возможно, является предрасположенным к этому заболеванию, состоянию или нарушению, но еще не болеет или не проявляет патологии или симптоматики этого заболевания; (2) ингибирование заболевания; например ингибирование заболевания, состояния или нарушения у субъекта, который уже болеет или проявляет патологию или симптоматику этого заболевания, состояния или нарушения (то есть остановка дальнейшего развития патологии и/или симптоматики); и (3) облегчение заболевания; например облегчение заболевания, состояния или нарушения у субъекта, который уже болеет или проявляет патологию или симптоматику заболевания, состояния или нарушения (то есть реверсирование патологии и/или симптоматики), такое как уменьшение степени заболевания.

Фармацевтические композиции и лекарственные формы.

При использовании в качестве лекарственных средств соединения настоящего изобретения могут вводиться в форме фармацевтических композиций. Эти композиции могут быть получены хорошо известными в фармацевтике способами и могут вводиться различными путями в зависимости от того, требуется ли локальное или системное лечение, а также от области, подлежащей лечению. Введение может быть местным (включая трансдермальное, эпидермальное, офтальмическое и в слизистые оболочки, включая интраназальную, вагинальную и ректальную доставку), пульмональным (например, при ингаляции или инсуляции порошков или аэрозолей, включая через распылитель; внутритрахеально или интраназально), оральным или парентеральным. Парентеральное введение включает внутривенные, внутриартериальные, подкожные, интраперитонеальные, внутримышечные или внутривнутрибрюшинные инъекции или инфузии или внутривнутричерепное, например, интратекальное или внутрижелудочковое введение. Парентеральное введение может осуществляться в форме единого болюсного введения или, например, через непрерывный перфузионный дозатор. Фармацевтические композиции и рецептуры для локального применения могут включать трансдермальные пластыри, мази, лосьоны, кремы, гели, капли, суппозитории,

спреи, жидкости и порошки. Могут быть необходимы или желательны стандартные фармацевтические носители, водные, порошковые или масляные основы, загустители и тому подобное.

В настоящее изобретение включены также фармацевтические композиции, которые содержат в качестве активного ингредиента соединение настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемую соль в комбинации с одним фармацевтически приемлемым носителем (эксципенты) или более. В некоторых вариантах воплощения изобретения композиция настоящего изобретения пригодна для местного применения. При приготовлении композиций настоящего изобретения активный ингредиент обычно смешивается с эксципентом, разбавляется эксципентом или внедряется в такой носитель в форме, например, капсулы, саше, бумажной или другой упаковки. Если эксципентом служит разбавитель, это может быть твердый, полутвердый или жидкий материал, который действует как наполнитель, носитель или среда для активного ингредиента. Таким образом, композиции настоящего изобретения могут быть в форме таблеток, пилюль, порошков, лепешек, саше, капсул, эликсиров, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (в виде твердого вещества или в жидкой среде), мазей, содержащих, например, до 10 вес.% активного соединения, мягких или твердых желатиновых капсул, суппозиторий, стерильных растворов для инъекций или стерильных фасованных порошков.

При приготовлении композиции активное соединение перед смешиванием с другими ингредиентами может быть измельчено с получением соответствующего размера частиц. Если активное соединение является практически нерастворимым, оно может быть измельчено до размеров частиц менее 200 меш. Если активное соединение, в основном, растворимо в воде, то размер частиц может быть подобран измельчением с получением практически однородного распределения в композиции, например, около 40 меш.

Соединения настоящего изобретения могут измельчаться известными способами измельчения, такими как влажное измельчение с получением соответствующего размера частиц для формования таблеток и для составления других типов фармацевтических композиций. Тонко измельченные (наноразмерные) композиции соединений настоящего изобретения могут быть получены по известным в данной области способам, см., например, заявку на международный патент № WO 2002/000196.

Некоторые примеры пригодных носителей включают лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмалы, гуммиарабик, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, воду, сироп и метилцеллюлозу. Композиции могут дополнительно включать смазывающие агенты, такие как тальк, стеарат магния и минеральное масло; увлажняющие агенты, эмульгаторы и суспендирующие агенты; консервирующие агенты, такие как метил- и пропилгидроксibenзоаты, подсластители и ароматизаторы. Композиции настоящего изобретения могут составлять таким образом, чтобы обеспечивать быстрое, непрерывное или замедленное высвобождение активного ингредиента после введения пациенту путем использования известных в данной области способов.

В некоторых вариантах воплощения изобретения фармацевтическая композиция включает силикатированную микрокристаллическую целлюлозу (SMCC) и по меньшей мере одно соединение, описанное в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах воплощения изобретения силикатированная микрокристаллическая целлюлоза включает около 98% вес./вес. микрокристаллической целлюлозы и около 2% вес./вес. диоксида кремния.

В некоторых вариантах воплощения изобретения композиция является композицией с устойчивым высвобождением, включающей по меньшей мере одно соединение, описанное в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль, и по меньшей мере один фармацевтически пригодный носитель. В некоторых вариантах воплощения изобретения композиция включает по меньшей мере одно соединение, описанное в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль, и по меньшей мере один компонент, выбранный из микрокристаллической целлюлозы, моногидрата лактозы, гидроксипропилметилцеллюлозы и полиэтиленоксида. В некоторых вариантах воплощения изобретения композиция включает по меньшей мере одно соединение, описанное в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль, и микрокристаллическую целлюлозу, моногидрат лактозы и гидроксипропилметилцеллюлозу. В некоторых вариантах воплощения изобретения композиция включает по меньшей мере одно соединение, описанное в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль, и микрокристаллическую целлюлозу, моногидрат лактозы и полиэтиленоксид. В некоторых вариантах воплощения изобретения композиция дополнительно включает стеарат магния или диоксид кремния. В некоторых вариантах воплощения изобретения микрокристаллической целлюлозой является Avicel PH102™. В некоторых вариантах воплощения изобретения моногидратом лактозы является Fast-flo 316™. В некоторых вариантах воплощения изобретения гидроксипропилметилцеллюлозой является гидроксипропилметилцеллюлоза 2208 K4M (например, Methocel K4 M Premier™) и/или гидроксипропилметилцеллюлоза 2208 K100LV (например, Methocel K00LV™). В некоторых вариантах воплощения изобретения полиэтиленоксидом является полиэтиленоксид WSR 1105 (например, Polyox WSR 1105™).

В некоторых вариантах воплощения изобретения с получением композиции используется процесс влажной грануляции. В некоторых вариантах воплощения изобретения с получением композиции ис-

пользуется процесс сухой грануляции.

Композиции могут составляться в виде единичных лекарственных форм, каждая форма содержит от около 5 до около 1000 мг (1 г), чаще от около 100 до около 500 мг активного ингредиента. В некоторых вариантах воплощения изобретения каждая доза содержит около 10 мг активного ингредиента. В некоторых вариантах воплощения изобретения каждая доза содержит около 50 мг активного ингредиента. В некоторых вариантах воплощения изобретения каждая доза содержит около 25 мг активного ингредиента. Термин "единичная лекарственная форма" относится к физически отдельной единице, пригодной в качестве однократной дозировки для организма человека или других млекопитающих, каждая единица содержит предварительно установленное количество активного материала, рассчитанное для обеспечения желаемого терапевтического эффекта, в сочетании с пригодным фармацевтическим эксципиентом.

В некоторых вариантах воплощения изобретения композиции настоящего изобретения содержат от около 5 до около 50 мг активного ингредиента. Специалисту в данной области понятно, что соединения или композиции этих вариантов содержат от около 5 до около 10, от около 10 до около 15, от около 15 до около 20, от около 20 до около 25, от около 25 до около 30, от около 30 до около 35, от около 35 до около 40, от около 40 до около 45 или от около 45 до около 50 мг активного ингредиента.

В некоторых вариантах воплощения изобретения композиции настоящего изобретения содержат от около 50 до около 500 мг активного ингредиента. Специалисту в данной области понятно, что соединения или композиции этих вариантов содержат от около 50 до около 100, от около 100 до около 150, от около 150 до около 200, от около 200 до около 250, от около 250 до около 300, от около 350 до около 400 или от около 450 до около 500 мг активного ингредиента.

В некоторых вариантах воплощения изобретения композиции настоящего изобретения содержат от около 500 до около 1000 мг активного ингредиента. Специалисту в данной области понятно, что соединения или композиции этих вариантов содержат от около 500 до около 550, от около 550 до около 600, от около 600 до около 650, от около 650 до около 700, от около 700 до около 750, от около 750 до около 800, от около 800 до около 850, от около 850 до около 900, от около 900 до около 950 мг или от около 950 до около 1000 мг активного ингредиента.

Активное соединение может быть эффективным в широком диапазоне дозировок и обычно вводится в фармацевтически эффективном количестве. Однако следует понимать, что фактическое количество вводимого соединения обычно определяется врачом в соответствии с существующими обстоятельствами, включая состояние, подлежащее лечению, выбранный способ введения, фактически вводимое соединение, возраст, вес и реакцию конкретного пациента, серьезность симптомов пациента и тому подобное.

С получением твердых композиций, таких как таблетки, основной активный ингредиент смешивается с фармацевтическим эксципиентом с получением предварительно составленной твердой композиции, содержащей гомогенную смесь соединения настоящего изобретения. В таких предварительно составленных гомогенных композициях активный ингредиент обычно равномерно диспергируется по всей композиции, так что эту композицию можно легко разделить на равные эффективные единичные лекарственные формы, такие как таблетки, пилюли и капсулы. Такие твердые предварительно составленные композиции затем делятся на единичные лекарственные формы описанных выше типов, содержащие, например, от около 0,1 до около 1000 мг активного ингредиента настоящего изобретения.

Таблетки или пилюли настоящего изобретения могут быть покрыты или компаундированы другим способом с получением лекарственной формы, дающей возможность получать пролонгированное действие. Например, таблетки или пилюли могут включать внутренний или внешний лекарственный компонент, при этом последний - в форме оболочки вокруг эксципиента. Эти два компонента могут быть разделены энтеральным слоем, который служит для предотвращения разрушения в желудке и прохождения неповрежденного внутреннего компонента в двенадцатиперстную кишку или для замедления его высвобождения. Для таких энтеральных слоев или покрытий могут использоваться различные материалы, включая ряд полимерных кислот и смесей полимерных кислот с такими материалами как шеллак, цетиловый спирт и ацетат целлюлозы.

Жидкие формы, в которых соединения и композиции настоящего изобретения могут использоваться для перорального или инъекционного введения, включают водные растворы, пригодные ароматизированные сиропы, водные или масляные суспензии и ароматизированные эмульсии со съедобными маслами, такими как хлопковое масло, кунжутное масло, кокосовое масло или арахисовое масло, а также эликсиры и аналогичные фармацевтические носители.

Композиции для ингаляции или инсуффляции 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 носители, как описано ранее. В некоторых вариантах воплощения изобретения композиции вводятся пероральным или назальным респираторным путем для местного или системного эффекта. Композиции могут распыляться при помощи инертных газов. Распыленные растворы могут вдыхаться непосредственно из распыляющего устройства, или распылительное устройство может подключаться к маске для лица, тенту или дыхательному аппарату избыточного давления периодического действия. Композиции в растворах, суспензиях или порошках могут вводиться перорально или назально через устройства, которые обеспечивают доставку композиции

соответствующим образом.

Композиции для местного применения могут содержать один или более обычных носителей. В некоторых вариантах воплощения изобретения мази могут содержать воду и один или более гидрофобных носителей, выбранных из, например, жидкого парафина, полиоксиэтиленалкилового эфира, пропиленгликоля, белого вазелина и тому подобного. Композиции носителей в кремах могут быть основаны на воде в комбинации с глицерином и другим(и) компонентом(ами), например глицеринмоностеаратом, ПЭГ-глицеринмоностеаратом и цетилстеариловым спиртом. Гели могут быть получены с использованием изопропилового спирта и воды, в соответствующей комбинации с другими компонентами, такими как, например, глицерин, гидроксипропилцеллюлоза и тому подобное. В некоторых вариантах воплощения изобретения композиции для локального применения содержат по меньшей мере около 0,1, по меньшей мере около 0,25, по меньшей мере около 0,5, по меньшей мере около 1, по меньшей мере около 2 или по меньшей мере около 5 мас.% соединения настоящего изобретения. Композиции для локального применения могут быть упакованы в тубы, например, по 100 г, которые необязательно сопровождаются инструкциями по лечению выбранного показания, например псориаза или другого кожного состояния.

Количество соединения или композиции, вводимого пациенту, варьируется в зависимости от того, что именно вводится, цели введения, такой как профилактика или терапия, состояния пациента, способа введения и тому подобного. В терапевтических применениях соединения могут вводиться пациенту, страдающему заболеванием, в количестве, эффективном для лечения или, по меньшей мере, частичного прекращения симптомов заболевания и его осложнений. Эффективные дозы зависят от состояния заболевания, подлежащего лечению, а также от решения лечащего врача в зависимости от таких факторов, как серьезность заболевания, возраст, вес и общее состояние пациента и тому подобного.

Вводимые пациенту композиции могут быть в форме фармацевтических композиций, описанных выше. Эти композиции могут быть стерилизованы обычными способами стерилизации или могут быть стерилизованы фильтрованием. Водные растворы могут быть упакованы для использования в исходном или лиофилизованном виде, лиофилованный препарат объединяется со стерильным водным носителем перед введением. pH препаратов соединений настоящего изобретения составляет обычно от 3 до 11, более предпочтительно от 5 до 9 и более предпочтительно от 7 до 8. Следует понимать, что использование определенных вышеупомянутых носителей, наполнителей или стабилизаторов приведет к образованию фармацевтических солей.

Терапевтическая дозировка соединения настоящего изобретения может варьироваться в соответствии, например, с использованием для лечения определенного заболевания, способом введения соединения, здоровьем и состоянием пациента и решением лечащего врача. Пропорция или концентрация соединения настоящего изобретения в фармацевтической композиции может варьироваться в зависимости от ряда факторов, включая дозировку, химические свойства (например, гидрофобность) и способ введения. Например, соединения настоящего изобретения могут быть получены в водном физиологическом буферном растворе, содержащем от около 0,1 до около 10% мас./об. соединения для парентерального введения. Некоторые стандартные уровни дозировок составляют от около 1 мкг/кг до около 1 г/кг веса тела в день. В некоторых вариантах воплощения изобретения уровень дозировки составляет от около 0,01 до около 100 мг/кг веса тела в день. Дозировка, вероятно, зависит от таких переменных, как тип и степень прогрессии заболевания или нарушения, общее состояние здоровья конкретного пациента, относительная биологическая эффективность выбранного соединения, композиция носителя и способ введения. Эффективные дозировки могут экстраполироваться по кривым зависимости реакции от дозировки, полученной из испытательных систем *in vitro* или моделей на животных.

Композиции настоящего изобретения могут дополнительно включать один или более дополнительных фармацевтических агентов, таких как химиотерапевтические, стероидные, противовоспалительные соединения или иммунодепрессанты, примеры которых перечислены выше в настоящем документе.

### Примеры

Если не указано иное, соединения из представленных ниже примеров, содержащие один хиральный центр или более, были получены в энантиомерно чистой форме или в форме скалемических смесей.

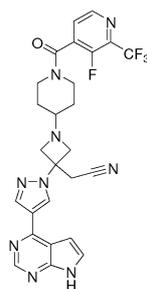
Если не указано иное, то соединения примеров были очищены препаративной ВЭЖХ с использованием щелочных условий (способ В) и были получены в виде свободных оснований.

Способ В.

Колонка: Waters X Bridge C18, размер частиц 5 мкм, 30×100 мм;

Подвижная фаза: вода (0,15% NH<sub>4</sub>OH)/ацетонитрил.

Пример 1. {1-{1-[3-Фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил



Стадия А. трет-Бутил 3-оксоазетидин-1-карбоксилат



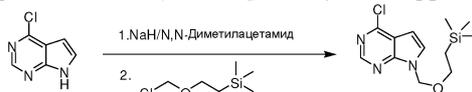
К смеси трет-бутил 3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата (10,0 г, 57,7 ммоль), диметилсульфида (24,0 мл, 338 ммоль), триэтиламина (40 мл, 300 ммоль) и метиленхлорида (2,0 мл) по частям добавили комплекс триоксида серы и пиридина (40 г, 2 00 ммоль) при 0°C. Смесь перемешивали в течение 3 ч, погасили насыщенным соевым раствором и экстрагировали метиленхлоридом. Объединенные органические экстракты сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, отфильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очистили на силикагелевой колонке (0-6% этилацетата (EtOAc) в гексанах) с получением трет-бутил 3-оксоазетидин-1-карбоксилата (5,1 г, выход 52%).

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



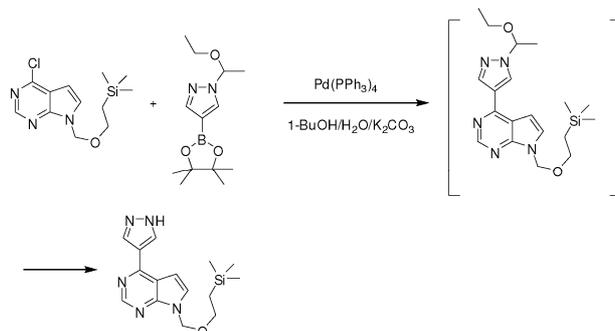
В высушенную в печи 1 л 4-горлую круглодонную колбу, оснащенную магнитной мешалкой, септой, подачей азота, 250 мл капельной воронкой и термопарой, поместили гидрид натрия (5,6 г, 0,14 моль) и тетрагидрофуран (ТГФ) (140 мл) в атмосфере азота. Смесь охладил до 3°C, а затем по каплям загрузили диэтилцианометилфосфонат (22,4 мл, 0,138 моль) шприцом в течение 20 мин. Раствор превратился в светло-желтую взвесь. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 75 мин по мере нагревания до 18,2°C. В высушенной в печи круглодонной колбе приготовили раствор трет-бутил 3-оксоазетидин-1-карбоксилата (20 г, 0,1 моль) в тетрагидрофуране (280 мл), загрузили в капельную воронку через канюлю, затем добавили к реакционной смеси по каплям за 25 мин. Цвет реакционного раствора стал красным. Реакционную смесь оставили перемешиваться на ночь. Через 24 ч реакционную смесь проверили по ТСХ (70% гексан/EtOAc) и обнаружили завершение реакции. Реакционную смесь разбавили 200 мл 20% солевого раствора и 250 мл EtOAc. Раствор разделили, и водную фазу экстрагировали 250 мл EtOAc. Объединенную органическую фазу сушили над MgSO<sub>4</sub> и отфильтровали, выпарили при пониженном давлении и очистили флэш-хроматографией (от 0 до 20% EtOAc/гексаны, флэш-колонка 150 г) с получением заданного продукта, трет-бутил 3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилата (15 г, выход 66,1%).

Стадия С. 4-Хлор-7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-д]пиримидин



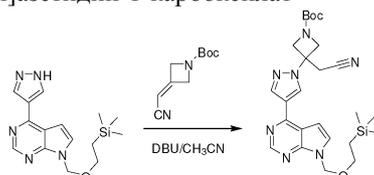
К суспензии гидрида натрия (36,141 г, 903,62 ммоль) в N,N-диметилацетамиде (118 мл) при -5°C (баня изо льда и соли) медленно добавили темный раствор 4-хлорпирроло[2,3-д]пиримидина (119,37 г, 777,30 ммоль) в N,N-диметилацетамиде (237 мл). Колбу и капельную воронку промыли N,N-диметилацетамидом (30 мл). Сразу выделилось большое количество газа. Смесь стала слегка мутной и окрасилась в оранжевый цвет. Смесь перемешивали при 0°C в течение 60 мин пока она не стала светлоричневой и мутной. К смеси медленно добавили [2-(триметилсилил)этокси]метилхлорид (152,40 г, 914,11 ммоль) и перемешивали реакционную смесь при 0°C в течение 1 ч. Реакцию погасили медленным добавлением 12 мл H<sub>2</sub>O. Добавили дополнительное количество воды (120 мл), а затем метил трет-бутиловый эфир (МТБЭ) (120 мл). Смесь перемешивали в течение 10 мин. Органический слой отделили. Водный слой экстрагировали еще одной порцией МТБЭ (120 мл). Органические экстракты объединили, промыли насыщенным соевым раствором (120 мл×2) и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, 4-хлор-7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-д]пиримидина в виде темного маслянистого вещества. Выход: 85,07 г (97%); ЖХ-МС: 284,1 (M+H)<sup>+</sup>. Его использовали для следующей реакции без очистки.

Стадия D. 4-(1Н-Пиразол-4-ил)-7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-д]пиримидин



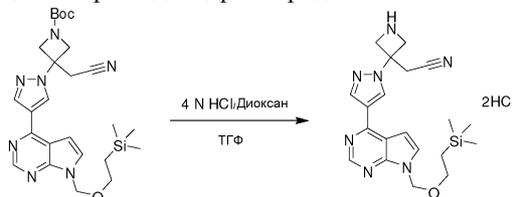
В 1000-мл круглодонную колбу загрузили 4-хлор-7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин (10,00 г, 35,23 ммоль), 1-бутанол (25,0 мл), 1-(1-этоксиэтил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксоборолан-2-ил)-1Н-пиразол (15,66 г, 52,85 ммоль), воду (25,0 мл) и карбонат калия (12,17 г, 88,08 ммоль). Этот раствор дегазировали 4 раза, каждый раз наполняя азотом. К раствору добавили тетраakis(трифенилфосфин)палладий(0) (4,071 г, 3,523 ммоль). Раствор дегазировали 4 раза, каждый раз наполняя азотом. Смесь перемешивали в течение ночи при 100°C. После охлаждения до комнатной температуры смесь отфильтровали через слой целита и промыли целит этилацетатом (42 мл). Фильтрат объединили и отделили органический слой. Водный слой экстрагировали этилацетатом. Органические экстракты объединили и концентрировали при пониженном давлении с температурой бани 30-70°C с получением конечного соединения, 4-(1Н-пиразол-4-ил)-7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидина. Выход: 78%. ЖХ-МС: 316,2 (M+H)<sup>+</sup>.

Стадия Е. трет-Бутил 3-(цианометил)-3-[4-(7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилат



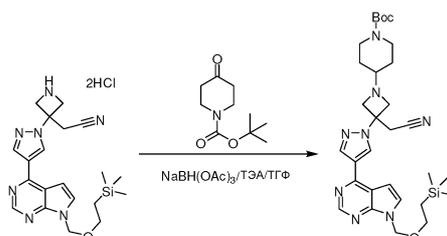
В 2-л круглодонную колбу, оснащенную в верхней части мешалкой, септой и подачей азота, загрузили трет-бутил 3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилат (9,17 г, 0,0472 моль), 4-(1Н-пиразол-4-ил)-7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин (14,9 г, 0,0472 моль) и ацетонитрил (300 мл). Полученный раствор был гетерогенным. К этому раствору частями шприцом за 3 мин добавили 1,8-дизабицикло[5.4.0]ундец-7-ен (8,48 мл, 0,0567 моль) при комнатной температуре. Раствор медленно стал гомогенным и желтого цвета. Реакционную смесь оставили перемешиваться при комнатной температуре на 3 ч. Реакция завершилась по данным ВЭЖХ и ЖХ/МС, ее концентрировали на ротационном испарителе для удаления ацетонитрила (~150 мл). Добавили EtOAc (100 мл), а затем 100 мл 20% солевого раствора. Две фазы разделили. Водную фазу экстрагировали 150 мл EtOAc. Объединенные органические фазы сушили над MgSO<sub>4</sub>, отфильтровали и концентрировали с получением оранжевого маслянистого вещества. В результате очистки флэш-хроматографией (150 г диоксида кремния, 60% EtOAc/гексаны, загрузка с CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) получили указанное в заголовке соединение, трет-бутил 3-(цианометил)-3-[4-(7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилат в виде желтого маслянистого вещества (21,1 г, выход 88%). ЖХ-МС: [M+H]<sup>+</sup>=510,3.

Стадия F. {3-[4-(7-{{2-(Триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила дигидрохлорид



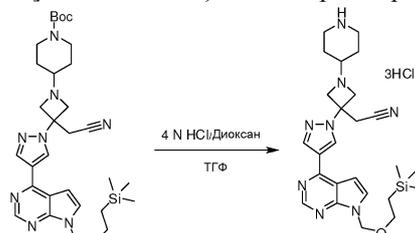
К раствору трет-бутил 3-(цианометил)-3-[4-(7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилата (2 г, 3,9 ммоль) в 10 мл ТГФ добавили 10 мл 4 н. HCl в диоксане. Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и концентрировали *in vacuo* с получением 1,9 г (99%) указанного в заголовке соединения в виде твердого белого порошка, который использовали для следующей реакции без очистки. ЖХ-МС: [M+H]<sup>+</sup>=410,3.

Стадия G. трет-Бутил 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}пиперидин-1-карбоксилат



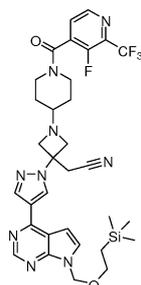
В раствор {3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила дигидрохлорида (2,6 г, 6,3 ммоль), трет-бутил 4-оксо-1-пиперидинкарбоксилата (1,3 г, 6,3 ммоль) в ТГФ (30 мл) добавили N,N-диизопропилэтиламин (4,4 мл, 25 ммоль) и триацетоксидборгидрид натрия (2,2 г, 10 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. После добавления 20 мл насыщенного солевого раствора этот раствор экстрагировали EtOAc. Экстракт сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и концентрировали. Остаток очистили на комбинированной флэш-колонке, элюируя 30-80% EtOAc в гексанах с получением заданного продукта, трет-бутил 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}пиперидин-1-карбоксилата. Выход: 3,2 г (86%); ЖХ-МС:  $[\text{M}+\text{H}]^+=593,3$ .

Стадия Н. {1-Пиперидин-4-ил-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила тригидрохлорид



К раствору трет-бутил 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}пиперидин-1-карбоксилата (3,2 г, 5,4 ммоль) в 10 мл ТГФ добавили 10 мл 4 н. HCl в диоксане. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Удалив растворители при пониженном давлении, получили 3,25 г (100%) {1-пиперидин-4-ил-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила тригидрохлорида в виде твердого белого порошка, который использовали непосредственно в следующей реакции. ЖХ-МС:  $[\text{M}+\text{H}]^+=493,3$ .  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  9,42 (с, 1H), 9,21 (с, 1H), 8,89 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 7,97 (с, 1H), 7,39 (д, 1H), 5,68 (с, 2H), 4,96 (д, 2H), 4,56 (м, 2H), 4,02-3,63 (м, 2H), 3,55 (с, 2H), 3,53 (т, 2H), 3,49-3,31 (3, 3H), 2,81 (м, 2H), 2,12 (д, 2H), 1,79 (м, 2H), 0,83 (т, 2H), -0,10 (с, 9H).

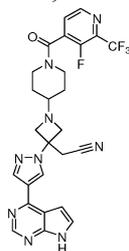
Стадия I. {1-[1-[3-Фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил]-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил



Смесь {1-пиперидин-4-ил-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила тригидрохлорида (1,22 г, 2,03 ммоль), 3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиновой кислоты (460 мг, 2,2 ммоль), бензотриазол-3-илокситрис(диметиламино)фосфония гексафторфосфата (1,07 г, 2,42 ммоль) и триэтиламина (2,0 мл, 14 ммоль) в диметилформамиде (DMF) (20,0 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Данные ЖХ-МС показали, что реакция завершена. К реакционной смеси добавили EtOAc (60 мл) и насыщенный водный раствор  $\text{NaHCO}_3$  (60 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 10 мин органическую фазу отделили, а водный слой экстрагировали EtOAc три раза. Объединенную органическую фазу промыли насыщенным солевым раствором, сушили над безводным  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , отфильтровали и выпарили при пониженном давлении. В результате очистки флэш-хроматографией получили заданный продукт, {1-[1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил]-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-

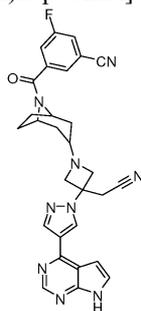
ил}ацетонитрил. ЖХ-МС: 684,3 (M+H)<sup>+</sup>.

Стадия J. {1-{1-[3-Фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил

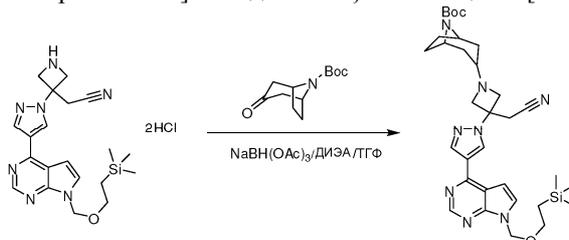


В раствор {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (56 мг, 0,1 ммоль) в метиленхлориде (1,5 мл) добавили трифторуксусную кислоту (1,5 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. После удаления растворителей в вакууме остаток растворили в метанольном растворе, содержащем 20% этилендиамина. После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 ч раствор очищали с использованием ВЭЖХ (способ В) с получением указанного в заголовке соединения. ЖХ-МС: 554,3 (M+H)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 9,71 (с, 1H), 8,82 (с, 1H), 8,55 (д, J=4,6 Гц, 1H), 8,39 (с, 1H), 8,30 (с, 1H), 7,52 (т, J=4,6 Гц, 1H), 7,39 (дд, J<sub>1</sub>=3,4 Гц, J<sub>2</sub>=1,5 Гц, 1H), 6,77 (дд, J<sub>1</sub>=3,6 Гц, J<sub>2</sub>=0,7 Гц, 1H), 4,18 (м, 1H), 3,75 (м, 2H), 3,63 (дд, J<sub>1</sub>=7,8 Гц, J<sub>2</sub>=3,7 Гц, 2H), 3,45 (м, 2H), 3,38 (с, 2H), 3,11 (м, 1H), 2,57 (м, 1H), 1,72 (м, 1H), 1,60 (м, 1H), 1,48 (м, 1H), 1,40 (м, 1H).

Пример 2. 3-[(3-{3-(Цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-8-азабицикло[3.2.1]окт-8-ил)карбонил]-5-фторбензонитрил

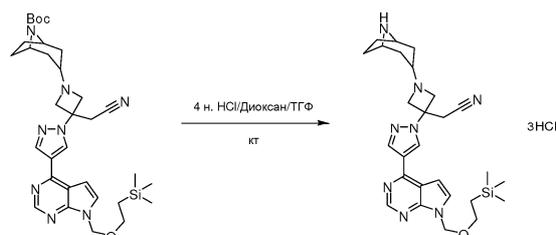


Стадия А. трет-Бутил 3-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат



К раствору 3-[4-(7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила дигидрохлорида (2,6 г, 6,3 ммоль) в ТГФ (30 мл) добавили трет-бутил 3-оксо-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилат (1,3 г, 6,3 ммоль), N,N-диизопропилэтиламин (4,4 мл, 25 ммоль) и триацетоксиборгидрид натрия (2,2 г, 10 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи и погасили добавлением 20 мл насыщенного солевого раствора. Раствор экстрагировали EtOAc. Экстракт сушили над безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. После удаления растворителя остаток очистили на комбинированной флэш-колонке, элюируя 30-80% EtOAc в гексанах с получением заданного продукта, трет-бутил 3-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата. ЖХ-МС: 619,3 (M+H)<sup>+</sup>.

Стадия В. {1-(8-Азабицикло[3.2.1]окт-3-ил)-3-[4-(7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила тригидрохлорид

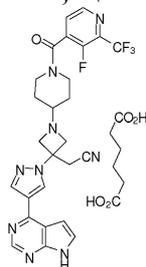


К раствору трет-бутил 3-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-8-азабицикло[3.2.1]октан-8-карбоксилата (123 мг, 0,2 ммоль) в ТГФ (3 мл) добавили 4 н. раствор HCl в диоксане (3 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 2 ч раствор концентрировали. Полученный остаток использовали для следующей реакции. ЖХ-МС: 519,3 (M+H)<sup>+</sup>.

Стадия С. 3-[(3-{3-(Цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-8-азабицикло[3.2.1]окт-8-ил)карбонил]-5-фторбензонитрил.

Смесь {1-(8-азабицикло[3.2.1]окт-3-ил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (100,0 мг, 0,193 ммоль), 3-циано-5-фторбензойной кислоты (31,8 мг, 0,193 ммоль), бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)фосфония гексафторфосфата (93,8 мг, 0,212 ммоль) и триэтиламина (0,108 мл, 0,771 ммоль) в ДМФ (3,0 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. В результате очистки ВЭЖХ получили продукт связывания в виде белого порошка. Найденное ЖХМС: 666,3 (M+H)<sup>+</sup>. Белый порошок растворили в трифторуксусной кислоте (2 мл) и метиленхлориде (2 мл). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч. Растворители выпарили до сухости. Остаток обрабатывали метанолом (3 мл) и этилендиамином (0,3 мл, 4 ммоль) в течение 1 ч при комнатной температуре. В результате очистки с использованием ВЭЖХ по способу А получили указанное в заголовке соединение, 3-[(3-{3-(цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-8-азабицикло[3.2.1]окт-8-ил)карбонил]-5-фторбензонитрил в виде соли ТФК. Найденное ЖХМС: 536,3 (M+H)<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>): δ 8,93 (с, 1H), 8,81 (с, 1H), 8,51 (с, 1H), 7,97 (с, 1H), 7,81 (с, 1H), 7,72 (м, 3H), 7,18 (с, 1H), 4,53 (м, 2H), 3,80 (м, 1H), 3,57 (м, 6H), 1,55-2,08 (м, 8H).

Пример 3. {1-{1-[3-Фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила адипинокислая соль



#### Скрининг.

Свободное основание {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил (пример 1) является аморфным веществом. Отборочное исследование соли выполнили с использованием фармацевтически приемлемых кислот для образования кристаллических солей примера 1. Адипиновую кислоту определили с получением кристаллической соли адипиновой кислоты примера 1. Для оптимизации была выбрана первоначально полученная твердая форма (форма I) соли адипиновой кислоты примера 1 с температурой плавления 17 °С. Эта форма является кристаллической формой, что подтверждается рентгеновской порошковой дифрактометрией (XRPD), дифференциальной сканирующей калориметрией (DSC) и термogravиметрическим анализом (ТГА). Установили, что стехиометрия этой соли составляет 1:1 (свободное основание к адипиновой кислоте) по <sup>1</sup>H ЯМР спектроскопии и элементному анализу.

Полиморфное отборочное исследование выполнили на адипиновой соли примера 1. Исследования фазового равновесия выполнили суспендированием кристаллов формы I в различных растворителях (MeCN, CHCl<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, МИБК, МЭК, ацетон, толуол, гексан, гептан, ТГФ, МТБЭ, EtOH, i-PrOH, n-BuOH, EtOAc, i-PrOAc при 25 или 50 °С. При 25 °С все исследованные растворители дали одинаковую кристаллическую форму I после суспендирования. При 50 °С наблюдались те же результаты, за исключением этанола. Диаграмма XRPD твердого вещества, полученного из этанольной суспензии, показала наличие свободного основания, что может быть объяснено простой диссоциацией соли. Результаты исследований фазового равновесия позволяют предположить, что форма I является устойчивой кристаллической формой. Кроме того, многократные партии (объемом от грамма до килограмма) адипинокислой соли примера 1, полученные на сегодняшний день, установлены как партии одной и той же кристаллической формы (формы I). Для запуска образования формы I при кристаллизации использовались затравки. Однако так-

же наблюдалось, что форма I была получена даже при кристаллизации без затравки.

Получение.

Адипиновую кислоту (790 г, 5,406 моль) растворили в метаноле (29 л) при 16°C. 2-(3-(4-(7Н-Пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрил, свободное основание (2,85 кг, 5,149 моль) добавили к раствору адипиновой кислоты в метаноле при 16°C. Реакционную смесь нагревали с дефлегматором в течение 2 ч. Полученную реакционную смесь охладили до комнатной температуры и удалили растворитель дистилляцией при пониженном давлении с получением неочищенной соли адипиновой кислоты. Неочищенную соль адипиновой кислоты растворили в ацетоне (14 л) при температуре окружающей среды. К раствору неочищенной соли адипиновой кислоты в ацетоне добавляли н-гептан (20 л) в течение 2 ч при 18°C для осаждения соли. Полученную взвесь перемешивали при 18°C в течение 1 ч. Соль выделили фильтрацией. Влажный осадок на фильтре промыли н-гептаном (6 л). Продукт сушили на фильтровальной воронке под всасыванием в течение 18 ч с получением неочищенной соли адипиновой кислоты 2-(3-(4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрила (3,572 кг, 5,105 моль, выход 99,2%) в виде белого кристаллического вещества.

Неочищенную соль адипиновой кислоты можно дополнительно очистить перекристаллизацией. Неочищенную соль адипиновой кислоты (3,378 кг, 4,828 моль) суспендировали в ацетоне (24 л) при температуре окружающей среды. Полученную суспензию нагрели до 55°C и перемешивали при 50-60°C с получением прозрачного раствора. Раствор отфильтровали через проходной фильтр для удаления твердых частиц. К раствору добавляли н-гептан (24 л) при 55°C в течение 2 ч для осаждения соли. После завершения добавления н-гептана взвесь охладили до 30°C в течение 3 ч. Чистую соль адипиновой кислоты выделили фильтрацией. Влажный осадок на фильтре промыли смесью н-гептана и ацетона (2:1, об./об., 6,8 л). Продукт сушили на фильтровальной воронке под всасыванием в течение 15 ч и дополнительно сушили в вакуумной печи при 55°C в течение 42 ч с получением чистой соли адипиновой кислоты 2-(3-(4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил)-1-(1-(3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил)пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил)ацетонитрила (3,116 кг, выход 92,2%) в виде белого кристаллического вещества.

Для соли адипиновой кислоты: Т.пл. 178°C; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 12,14 (с, 1H), 12,02 (ушир.с, 2H), 8,81 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,66 (д, J=4,7 Гц, 1H), 8,42 (с, 1H), 7,90 (дд, J=4,7, 4,7, 1H), 7,60 (дд, J=2,3, 3,5 Гц, 1H), 7,06 (дд, J=1,8, 3,6 Гц, 1H), 4,08 (м, 1H), 3,74 (м, 2H), 3,57 (м, 2H), 3,55 (м, 2H), 3,39 (м, 1H), 3,25 (м, 1H), 3,07 (м, 1H), 2,56 (м, 1H), 2,19 (м, 4H), 1,77 (м, 1H), 1,62 (м, 1H), 1,48 (м, 4H), 1,36-1,12 (м, 2H); <sup>13</sup>C ЯМР (100 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ 174,4, 160,3, 152,2 (<sup>1</sup>J<sub>CF</sub>=265,7 Гц), 152,2, 150,9, 149,6, 146,3 (<sup>4</sup>J<sub>CF</sub>=5,8 Гц), 139,5, 135,0 (<sup>2</sup>J<sub>CF</sub>=17,3 Гц), 134,5 (<sup>2</sup>J<sub>CF</sub>=35,3, 11,9 Гц), 129,2, 127,6, 126,8, 121,7, 120,6 (<sup>1</sup>J<sub>CF</sub>=274,0 Гц, <sup>3</sup>J<sub>CF</sub>=4,8 Гц), 117,4, 113,0, 100,0, 61,4, 60,5, 57,0, 44,2, 33,4, 28,6, 27,9, 27,2, 24,0; <sup>19</sup>F ЯМР (376 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) δ -64,54 (д, J=15,8 Гц, 3F), -129,34 (м, 1F); Аналитические значения, рассчитанные для: C<sub>32</sub>H<sub>33</sub>F<sub>4</sub>N<sub>9</sub>O<sub>5</sub>: C, 54,93; H, 4,75; F, 10,86; N, 18,02; найденные: C, 54,68; H, 4,56; F, 10,94; N, 17,90. ЖХМС, рассчитанное для C<sub>26</sub>H<sub>24</sub>F<sub>4</sub>N<sub>9</sub>O (M+H)<sup>+</sup> для свободного основания: m/z 554,2; найдено: 554,2.

Обращенно-фазовой ВЭЖХ определили химическую чистоту, составляющую 99,57% площади; термограмма DSC выявила одно основное эндотермическое событие с началом пика при 175,9°, что предположительно связано с плавлением соединения с пиком при 177,9° (см. фиг. 1). DSC сканировали от исходной температуры 30°C до конечной температуры 280°C при скорости нагревания 10°C/мин. Термограмма ТГА показала небольшую потерю веса 0,29%, наблюдаемую от 20 до 100°C, и существенную потерю веса 62%, которая наблюдалась при дальнейшем нагревании от 100 до 600°C (см. фиг. 2). Термограмма ТГА была получена при нагревании образца от 20 до 600°C при скорости нагревания 20°C/мин. Диаграмма XRPD демонстрирует кристаллическую природу соли адипиновой кислоты (см. фиг. 3). Данные DSC, ТГА и XRPD согласовались с данными формы I.

Параметры DSC: прибор дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) Mettler Toledo, модель № 822; алюминиевая кювета для образцов (40 мкл); общие условия: 30-280°C при 10°C/мин.

Параметры ТГА: прибор ТА, модель № Q500. Общие исходные условия способа: изменение при скорости 20°C/мин до 600°C.

Условия XRPD: прибор - рентгеновский порошковый дифрактометр (XRPD) Rigaku MiniFlex; рентгеновское излучение от меди Cu при 1,054056Å с фильтром K<sub>β</sub>; порошок образца диспергировали на держателе образцов нулевого фона; общие условия измерения:

Начальный угол - 3.

Угол остановки - 45.

Отбор образцов - 0,02.

Скорость сканирования - 2.

Таблица 1

## Данные XRPD

2-Тета (°)	d (Å)	Фон	Высота	И%	Площадь	А%	Полная ширина кривой на уровне полу макси- мума (FWHM)
3,84	22,9919	7	341	24,4	19142	100	0,955
6,92	12,7638	169	461	33	6796	35,5	0,25
8,78	10,0638	164	52	3,7	1571	8,2	0,513
9,28	9,5227	161	47	3,4	760	4	0,275
10,4	8,4994	203	1399	100	15230	79,6	0,185
10,981	8,0506	208	135	9,6	3688	19,3	0,465
11,74	7,532	179	302	21,6	6396	33,4	0,36
14,92	5,933	165	723	51,7	15980	83,5	0,376
15,4	5,7492	179	377	27	6733	35,2	0,303
16,859	5,2547	295	123	8,8	843	4,4	0,117
17,52	5,058	249	316	22,6	12179	63,6	0,655
18,68	4,7463	238	482	34,4	7294	38,1	0,257
19,861	4,4668	240	361	25,8	5072	26,5	0,239
20,98	4,2309	261	547	39,1	11823	61,8	0,368
22,12	4,0153	267	273	19,5	6037	31,5	0,377
22,46	3,9553	280	414	29,6	8893	46,5	0,365
23,28	3,8178	300	546	39	10395	54,3	0,324
23,74	3,7449	254	216	15,5	9220	48,2	0,725
24,38	3,6481	270	256	18,3	2926	15,3	0,194
25,062	3,5503	219	54	3,9	791	4,1	0,249
25,979	3,427	247	212	15,1	3384	17,7	0,272
26,901	3,3116	241	60	4,3	1124	5,9	0,32
27,76	3,2111	213	78	5,6	1985	10,4	0,431
28,839	3,0933	203	170	12,1	2489	13	0,249
29,841	2,9917	205	98	7	1115	5,8	0,194
30,94	2,8879	184	127	9,1	5062	26,4	0,677
31,562	2,8324	184	66	4,7	623	3,3	0,161
32,92	2,7185	181	125	8,9	3846	20,1	0,522
35,14	2,5518	182	147	10,5	4215	22	0,488
35,62	2,5185	173	83	6	5361	28	1,093
36,96	2,4302	178	52	3,7	1724	9	0,559
37,359	2,4051	178	89	6,4	2358	12,3	0,45
38,86	2,3156	173	72	5,2	3599	18,8	0,846
39,279	2,2918	177	77	5,5	2214	11,6	0,486

Пример 4. Фармацевтические композиции {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила, соли адипиновой кислоты.

Опытные капсулы были произведены с использованием обычного способа сухого смешивания. Исходные опытные партии были выполнены на 200 мг веса смеси, как для 10 мг, так и для 50 мг капсул. Композиция силикатированной микрокристаллической целлюлозы была выбрана на основании данных растворимости и стабильности состава, полученных на опытных замесах. {1-{1-[3-Фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил, соль адипиновой кислоты ("соль адипиновой кислоты") может быть получена так, как показано в примере 358. Состав опытной капсулы силикатированной микрокристаллической целлюлозы перечислен в табл. А и В ниже.

Таблица А

## Компоненты и состав 10 мг капсулы

Компонент	Состав в мг/капсулу
Соль адипиновой кислоты	12,64*
Силикатированная микрокристаллическая целлюлоза**	187,36
Капсула 2 размера (белая непрозрачная)	--
Итого	200,0

\* - фактор превращения соли составляет 0,7911;

\*\* - состоит из 98%-ной микрокристаллической целлюлозы NF и 2%-го коллоидного диоксида кремния NF.

Таблица В

## Компоненты и состав 50 мг капсулы

Компонент	Состав в мг/капсулу
Соль адипиновой кислоты	63,20*
Силикатированная микрокристаллическая целлюлоза**	136,80
Капсула 2 размера (белая непрозрачная)	--
Итого	200,0

\* - фактор превращения соли составляет 0,7911;

\*\* - состоит из 98%-ной микрокристаллической целлюлозы NF и 2%-го коллоидного диоксида кремния NF.

Формула замеса для 10 и 50 мг капсул представлена в табл. С и D. Капсулы получают по следующим этапам:

1. Предварительно смешивают необходимое количество соли адипиновой кислоты и примерно эквивалентное количество силикатированной микрокристаллической целлюлозы (SMCC).
2. Смесь с 1 стадии пропускают через соответствующее сито (например, 40 меш).
3. Оставшуюся SMCC просеивают через такое же сито, которое использовалось на 2 этапе.
4. Просеянную SMCC с 3 стадии смешивают со смесью со 2 стадии в соответствующем смесителе (например, смесителе Turbula) в течение около 5 мин.
5. Капсулы заполняют смесью до заданного веса наполнения.

Таблица С

## Формула замеса для 225 г смеси для 10 мг капсул

Компонент	г/замес
Соль адипиновой кислоты	15,80
Силикатированная микрокристаллическая целлюлоза	209,20
Капсула 2 размера (белая непрозрачная)	--
Итого	225,0

Таблица D

## Формула замеса для 936 г смеси для 50 мг капсул

Компонент	г/замес
Соль адипиновой кислоты	328,66
Силикатированная микрокристаллическая целлюлоза**	607,34
Капсула 2 размера (белая непрозрачная)	--
Итого	963,0

Пример А. Анализ киназы JAK in vitro.

Соединения, описанные в настоящем документе, были исследованы на ингибирующую активность мишеней JAK в соответствии со следующим анализом in vitro, описанным в публикации Park et al., Analytical Biochemistry 1999, 269, 94-104. Каталитические домены JAK1 человека (a.a. 837-1142), Jak2 (a.a. 828-1132) и Jak3 (a.a. 781-1124) с N-концевой меткой His были экспрессированы с использованием бакуловируса в клетках насекомых и были очищены. Каталитическая активность JAK1, JAK2 или JAK3 была

проанализирована измерением фосфорилирования биотинилированного пептида. Фосфорилированный пептид был обнаружен гомогенной флуоресценцией с временным разрешением (HTRF). IC<sub>50</sub> соединений были измерены для каждой киназы в 40-микролитровых реакциях, содержащих фермент, АТФ и 500 нМ пептида в 50 мМ буфера Tris (pH 7,8) с 100 мМ NaCl, 5 мМ DTT и 0,1 мг/мл (0,01%) BSA. Для измерений IC<sub>50</sub> 1 мМ концентрация АТФ в реакциях составила 1 мМ. Реакции были выполнены при комнатной температуре в течение 1 ч, а затем остановлены добавлением 20 мкл 45 мМ ЭДТА, 300 нМ SA-APC, 6 нМ Eu-Py20 в аналитическом буфере (Perkin Elmer, Boston, MA). Связывание с антителом, меченным европием, произошло за 40 мин, а сигнал HTRF был измерен на планшет-ридере Fusion (Perkin Elmer, Boston, MA). В табл. I представлены данные, связанные с соединениями настоящего изобретения.

Таблица I

Данные IC<sub>50</sub> для ферментного анализа JAK (измеренные при 1 мМ АТФ)

Пример	JAK1	JAK2	Отношение IC <sub>50</sub> JAK2/JAK1
	IC <sub>50</sub> (нМ) <sup>1</sup>	IC <sub>50</sub> (нМ) <sup>2</sup>	
1	+	++++	24,5
2	+	+	13,9
3	+	+++	49,2

<sup>1</sup> - для JAK1: 5 нМ или менее (+);<sup>2</sup> - для JAK2: 10 нМ или менее (+); от >50 нМ до 100 нМ (+++) и >100 нМ (++++).

Различные модификации настоящего изобретения, помимо описанных в настоящем документе, являются очевидными для специалиста в данной области по представленным ранее описаниям. Предполагается, что такие модификации также находятся в рамках приложенной формулы изобретения. Каждая ссылка, включая все патенты, патентные заявки и публикации, цитируемые в настоящей заявке, является включенными в настоящую заявку путем ссылки в полном объеме.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения заболевания, выбранного из отторжения аллотрансплантата и заболевания "трансплантат против хозяина" у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества соединения, представляющего собой {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил, или его фармацевтически приемлемой соли.

2. Способ по п.1, где соль представляет собой соль адипиновой кислоты {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила.

3. Способ по п.1 или 2, где заболевание представляет собой отторжение аллотрансплантата.

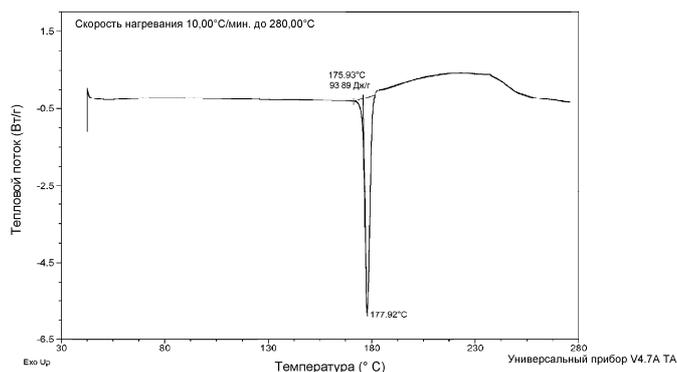
4. Способ по п.1 или 2, где заболевание представляет собой заболевание "трансплантат против хозяина".

5. Применение соединения, представляющего собой {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил, или его фармацевтически приемлемой соли для получения лекарственного средства для лечения заболевания, выбранного из отторжения аллотрансплантата и заболевания "трансплантат против хозяина".

6. Применение по п.5, где соль представляет собой соль адипиновой кислоты {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила.

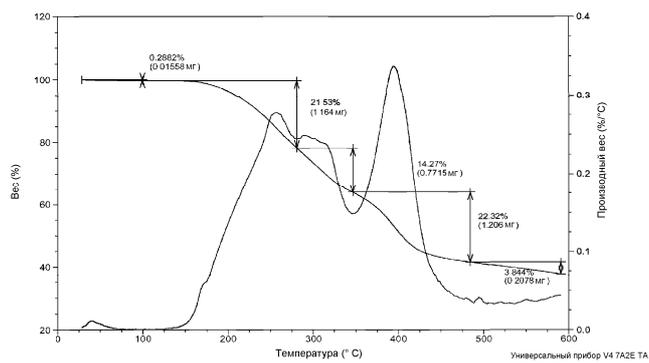
7. Применение по п.5 или 6, где заболевание представляет собой отторжение аллотрансплантата.

8. Применение по п.5 или 6, где заболевание представляет собой заболевание "трансплантат против хозяина".

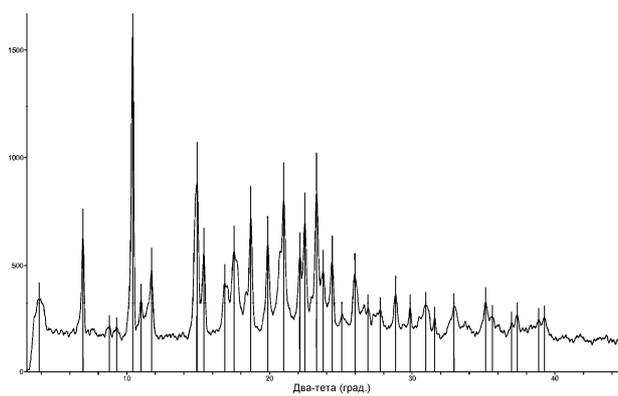


Фиг. 1

036970



Фиг. 2



Фиг. 3

