

(19)

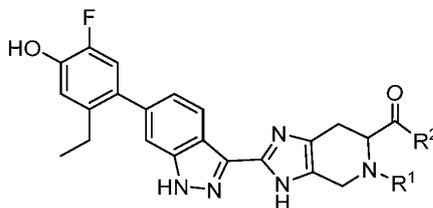


**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037261**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.03.01(21) Номер заявки
201992126(22) Дата подачи заявки
2018.03.08(51) Int. Cl. **C07D 471/04** (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61K 31/397 (2006.01)**(54) ИНГИБИТОРЫ JAK, СОДЕРЖАЩИЕ 4-ЧЛЕННЫЙ ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИЙ АМИД**(31) **62/469,073**(32) **2017.03.09**(33) **US**(43) **2020.02.29**(86) **PCT/US2018/021489**(87) **WO 2018/165392 2018.09.13**(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ТЕРЕВАНС БАЙОФАРМА Ар энд Ди
АйПи, ЭлЭлСи (US)**(72) Изобретатель:
**Фазери Пол Р., Брандт Гари И.Л.,
Смит Камерон, Салливан Стивен
Д.Е., Ван Орден Лори Джин,
Клайншек Мелани А., Крейгер
Гленн Д. (US)**(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)(56) **WO-A1-2013014567**

PETER JONES ET AL.: "Design and Synthesis of a Pan-Janus Kinase Inhibitor Clinical Candidate (PF-06263276) Suitable for Inhaled and Topical Delivery for the Treatment of Inflammatory Diseases of the Lungs and Skin", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 60, no. 2, 4 January 2017 (2017-01-04), pages 767-786, XP055468539, ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/acs.jmedchem.6b01634 page 774; table 5; compounds 2, 22

(57) Настоящее изобретение относится к соединениям формулы (II)



(II)

которые содержат 4-членный гетероциклический амид, где значения радикалов определены в описании, или их фармацевтически приемлемой соли, пригодным в качестве ингибиторов JAK киназы. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим указанные соединения, применению указанных соединений для лечения заболеваний органов дыхательной системы и способам лечения заболеваний органов дыхательной системы с применением указанных соединений.

B1**037261****037261****B1**

Область техники настоящего изобретения

Настоящее изобретение относится к соединениям, пригодным в качестве ингибиторов JAK киназы. Настоящее изобретение также относится к фармацевтическим композициям, содержащим данные соединения, способам применения данных соединений для лечения заболеваний органов дыхательной системы и способам и промежуточным соединениям, пригодным для получения данных соединений.

Уровень техники

Астма представляет собой хроническое заболевание дыхательных путей, для которого отсутствуют способы предотвращения или лечения. Заболевание характеризуется воспалением, фиброзом, гиперчувствительностью и ремоделированием дыхательных путей, все из которых способствуют ограничению воздушного потока. Приблизительно 300 млн людей по всему миру страдают от астмы, и оценено, что количество людей с астмой вырастет более чем на 100 млн к 2025 году. В Соединенных Штатах астма поражает приблизительно 6-8% популяции, делая ее одним из самых распространенных хронических заболеваний в стране. Хотя большинство людей могут добиваться контроля симптомов астмы при применении ингалируемых кортикостероидов, которые можно комбинировать с модификатором лейкотриена и/или бета агонистом пролонгированного действия, остается ряд пациентов с тяжелой астмой, чье заболевание не контролируется общепринятыми терапиями. Тяжелую персистирующую астму определяют как заболевание, которое остается неконтролируемым при высоких дозах ингалируемых кортикостероидов. Тогда как тяжелые астматики составляют приблизительно 5% всех людей, страдающих от астмы, они имеют высокий риск возникновения осложнений и смертности и несут ответственность за непропорциональную долю применения ресурсов здравоохранения среди астматиков. Остается необходимость в новых терапиях для лечения данных пациентов.

Цитокины представляют собой межклеточные сигнальные молекулы, которые включают хемокины, интерфероны, интерлейкины, лимфокины и фактор некроза опухолей. Цитокины являются важными для нормального клеточного роста и иммунорегуляции, но также обуславливают иммунообусловленные заболевания и способствуют росту злокачественных клеток. Повышенные уровни многих цитокинов вовлечены в патологию астматического воспаления. Например, показано, что терапии на основе антител, нацеленные на интерлейкины (IL)-5 и 13, обеспечивают клиническую пользу в подгруппах пациентов с тяжелой астмой. Среди цитокинов, участвующих в астматическом воспалении, многие действуют через сигнальные пути, зависящие от семейства Янус тирозинкиназ (JAK), которые передают сигнал через семейство переносчиков сигнала и активаторов транскрипции (STAT) факторов транскрипции. Цитокины, участвующие в астматическом воспалении, которые передают сигнал через JAK-STAT путь, включают IL-2, IL-3, IL-4, IL5, IL-6, IL-9, IL-11, IL-13, IL-23, IL-31, IL-27, тимусный стромальный лимфопоэтин (TSLP), интерферон- γ (IFN γ) и гранулоцитарно-моноцитарный колониестимулирующий фактор (GM-CSF).

JAK семейство включает четыре члена, JAK1, JAK2, JAK3 и тирозинкиназу 2 (TYK2). Связывание цитокина с JAK-зависимым цитокиновым рецептором стимулирует димеризацию рецептора, что приводит в результате к фосфорилированию остатка тирозина в JAK киназе, осуществляя активацию JAK. Фосфорилированные JAK, в свою очередь, связываются и фосфорилируют различные STAT белки, которые димеризуются, интернализуются в клеточное ядро и непосредственно модулируют транскрипцию гена, приводя, среди других эффектов, к последующим эффектам, связанным с воспалительным заболеванием. JAK обычно ассоциированы с цитокиновыми рецепторами в парах в виде гомодимеров или гетеродимеров. Конкретные цитокины ассоциированы с конкретными JAK спариваниями. Каждый из четырех членов JAK семейства участвует в передаче сигнала по меньшей мере одного из цитокинов, связанных с астматическим воспалением. Как следствие, химический ингибитор с панактивностью относительно всех членов JAK семейства может модулировать широкий диапазон провоспалительных путей, которые способствуют тяжелой астме.

Однако широкий противовоспалительный эффект данных ингибиторов может подавлять нормальное функционирование иммунных клеток, потенциально приводя к повышенному риску заражения. Признаки повышенного риска заражения наблюдали с ингибитором JAK тофацитинибом, который дозировали перорально для лечения ревматоидного артрита. При астме воспаление локализовано в дыхательных путях. Воспаление дыхательных путей является характеристикой других заболеваний органов дыхательной системы в добавлении к астме. Хроническое обструктивное заболевание легких (COPD), кистозный фиброз (CF), пневмония, интерстициальные легочные заболевания (включая идиопатический легочный фиброз), острое повреждение легких, синдром острой дыхательной недостаточности, бронхит, эмфизема, облитерирующий бронхиолит и саркоидоз также представляют собой заболевания дыхательных путей, при которых, как полагают, патофизиология связана с JAK-сигнальными цитокинами. Местное введение JAK ингибитора в легкие ингаляцией предоставляет возможность быть терапевтически эффективным благодаря доставке эффективного антицитокинового агента непосредственно в место действия, ограничивая системное воздействие и, следовательно, ограничивая возможность побочного системного подавления иммунной системы. Остается необходимость в эффективном ингибиторе JAK, пригодном для местного введения в легкие для лечения заболевания органов дыхательной системы.

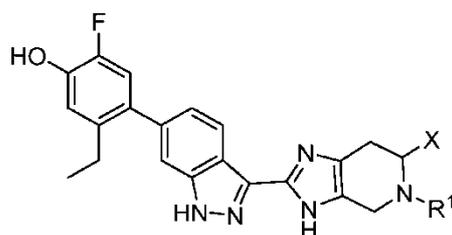
JAK-сигнальные цитокины также играют основную роль в активации T клеток, подтипа иммунных

клеток, которые являются основными для многих иммунных процессов. Патологическая активация Т клеток является критической в этиологии множества заболеваний органов дыхательной системы. Ауто-реактивные Т клетки играют роль в облитерирующем бронхиолите с организующейся пневмонией (также называемом COS). Аналогично COS, этиология отторжения легочного трансплантата связана с нарушенной Т-клеточной активацией Т клеток реципиентов трансплантированным легким донора. Отторжения легочного трансплантата могут возникать на ранней стадии как ранняя дисфункция трансплантата (PGD), организующаяся пневмония (OP), острое отторжение (AR) или лимфоцитарный бронхиолит (LB), или они могут возникать через годы после трансплантации легкого как хроническая дисфункция аллотрансплантата легкого (CLAD). CLAD была ранее известна как облитерирующий бронхиолит (BO), но в настоящее время считается синдромом, который может иметь различные патологические проявления, включая BO, рестриктивную CLAD (rCLAD или RAS) и нейтрофильную дисфункцию аллотрансплантата. Хроническая дисфункция аллотрансплантата легкого (CLAD) представляет собой основную проблему при продолжительном лечении реципиентов с трансплантатом легкого, поскольку она вызывает прогрессирующую потерю функций трансплантированным легким (Gauthier et al., *Curr Transplant Rep.*, 2016, 3(3), 185-191). CLAD плохо реагирует на лечение и, следовательно, остается необходимо в эффективных соединениях, способных предотвращать или лечить данное заболевание. Несколько JAK-зависимых цитокинов, таких как IFN γ и IL-5, активируются при CLAD и отторжении трансплантата легкого (Bergastegui et al, *Clin Transplant.* 2017, 31, e12898). Более того, высокие уровни в легких CXCR3 хемокинов, таких как CXCL9 и CXCL10, которые присутствуют на последующих стадиях JAK-зависимой IFN передачи сигналов, связаны с плохими результатами лечения пациентов с трансплантатами легкого (Shino et al, *PLOS One*, 2017, 12 (7), e0180281). Показано, что системное JAK ингибирование является эффективным при отторжении трансплантата почки (Vicenti et al., *American Journal of Transplantation*, 2012, 12, 2446-56). Следовательно, JAK ингибиторы обладают потенциалом быть эффективными в лечении или предотвращении отторжения трансплантата легкого и CLAD. Аналогичные процессы активации Т клеток, как описано в качестве основы отторжения трансплантата легкого, также считают основной движущей силой заболевания трансплантат против хозяина (GVHD), которое может возникать после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Аналогично CLAD, GVHD легких представляет собой хроническое прогрессирующее заболевание с чрезвычайно плохими результатами лечения, и в настоящее время нет одобренных способов лечения. Ретроспективное многоцентровое исследование 95 пациентов с резистентной к стероидам острой или хронической GVHD, которые получали системный JAK-ингибитор руксолитиниб в качестве терапии спасения, продемонстрировало полный или частичный ответ на руксолитиниб у большинства пациентов, включая пациентов с GVHD легких (Zeiser et al, *Leukemia*, 2015, 29, 10, 2062-68). Поскольку системное JAK ингибирование связано с серьезными побочными эффектами и небольшим терапевтическим индексом, остается необходимость в ингалируемом, направленном в легкие несистемном ингибиторе JAK, предотвращающем и/или лечащем отторжение трансплантата легкого или GVHD легких.

Сущность настоящего изобретения

В одном аспекте настоящее изобретение относится к новым соединениям, обладающим активностью в качестве ингибиторов JAK киназы.

Соответственно, настоящее изобретение относится к соединению формулы (I):



(I)

в котором

R¹ выбран из водорода, C₁₋₃-алкила и C₃₋₆-циклоалкила, и X представляет собой C(O)R²,

где

R² представляет собой -NR¹³R¹⁴, где

R¹³ и R¹⁴, взятые вместе с атомом азота, с которым они соединены, образуют 4-членный гетероцикл, где гетероцикл необязательно замещен NR⁵R⁶ и R⁷,

R⁵ и R⁶ независимо представляют собой C₁₋₃-алкил, или R⁵ и R⁶, взятые вместе с атомом азота, с которым они соединены, образуют 5- или 6-членный гетероцикл, необязательно содержащий атом кислорода,

R⁷ представляет собой C₁₋₃-алкил, необязательно замещенный 5-или 6-членным гетероциклом, содержащим один атом азота,

или его фармацевтически приемлемой соли.

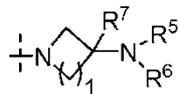
где

R^5 и R^6 независимо представляют собой C_{1-3} алкил или R^5 и R^6 , взятые вместе, образуют $(CH_2)_{4-5}$, R^7 представляет собой водород или C_{1-3} алкил,

или его фармацевтически приемлемой соли.

В другом конкретном аспекте, R^1 представляет собой C_{1-3} алкил;

R^2 представляют собой



где

оба R^5 и R^6 представляют собой метил, или R^5 и R^6 , взятые вместе, образуют $(CH_2)_5$, и R^7 представляет собой водород или метил.

В еще другом аспекте, настоящее изобретение относится к соединению, где соединение представляет собой (S)-(3-(диметиламино)-3-метилазетидин-1-ил)(5-этил-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[5,4-с]пиридин-6-ил)метанон или его фармацевтически приемлемую соль.

В еще другом аспекте, настоящее изобретение относится к соединению, где соединение представляет собой (S)-(3-(диметиламино)-3-метилазетидин-1-ил)(5-этил-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[5,4-с]пиридин-6-ил)метанон.

В еще другом аспекте, настоящее изобретение относится к соединению, где соединение представляет собой (S)-(3-(диметиламино)азетидин-1-ил)(5-этил-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[5,4-с]пиридин-6-ил)метанон или его фармацевтически приемлемую соль.

В еще другом аспекте, настоящее изобретение относится к соединению, где соединение представляет собой (S)-(3-(диметиламино)азетидин-1-ил)(5-этил-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[5,4-с]пиридин-6-ил)метанон.

В еще другом аспекте, настоящее изобретение относится к соединению, выбранному из следующих соединений:

(S)-(3-(диметиламино)азетидин-1-ил)(2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-изопропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанон,

(S)-(3-(диметиламино)азетидин-1-ил)(2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-пропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанон,

(S)-(3-(диметиламино)-3-метилазетидин-1-ил)(2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-пропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанон,

и их фармацевтически приемлемых солей.

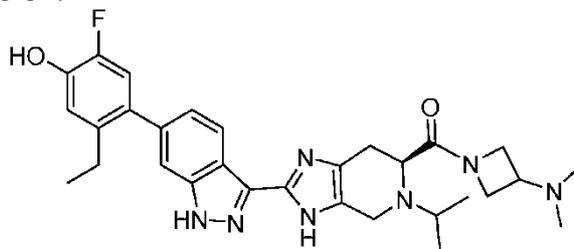
В еще другом аспекте настоящее изобретение относится к соединению, выбранному из следующих соединений:

(S)-(3-(диметиламино)азетидин-1-ил)(2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-изопропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанон,

(S)-(3-(диметиламино)азетидин-1-ил)(2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-пропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанон и

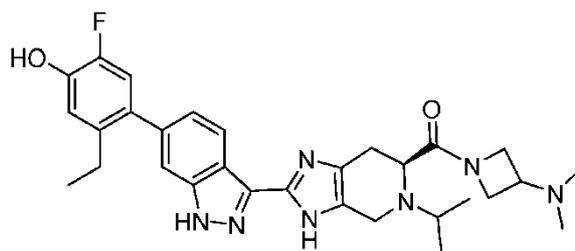
(S)-(3-(диметиламино)-3-метилазетидин-1-ил)(2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-пропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанон.

В еще другом аспекте настоящее изобретение относится к (S)-(3-(диметиламино)азетидин-1-ил)(2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-изопропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанону формулы



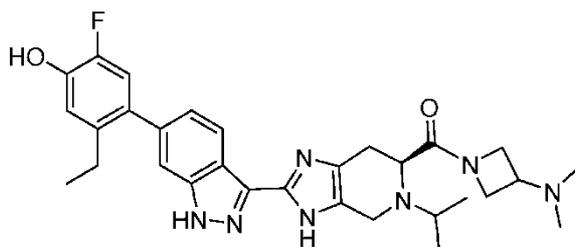
или его фармацевтически приемлемой соли.

В еще другом аспекте, настоящее изобретение относится к соединению формулы



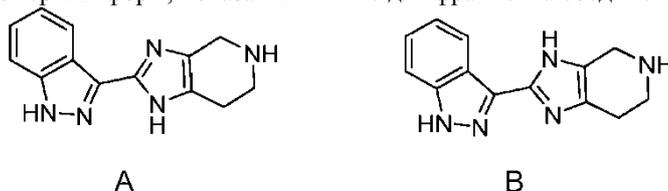
В одном аспекте настоящее изобретение относится к соединениям примеров 2, 4, 8 и табл.1 ниже.

Химические структуры называли в настоящем изобретении согласно договоренностям ИЮПАК, как обеспечивается в программном обеспечении ChemDraw (PerkinElmer, Inc., Cambridge, MA). Например, соединение:



Обозначают как (S)-(3-(диметиламино)азетидин-1-ил)(2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-изопропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанон.

Более того, имидазо часть тетрагидроимидазопиридинового фрагмента в структуре формулы (I) существует в виде таутомерных форм, показанных ниже для фрагмента соединения примера 1



Согласно договоренности ИЮПАК данные репрезентации приводят к различной нумерации атомов имидазольной части: 2-(1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-1H-имидазо[4,5-с]пиридин (структура А) относительно 2-(1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридина (структура В). Ясно, что, хотя структуры показаны или названы в конкретной форме, настоящее изобретение также включает его таутомер.

Соединения настоящего изобретения могут содержать один или более хиральных центров и, следовательно, данные соединения (и их промежуточные соединения) могут существовать в виде рацемических смесей; чистых стереоизомеров (т.е. энантимеров или диастереомеров); стереоизомерно обогащенных смесей и подобных. Предполагается, что хиральные центры, показанные или названные в настоящем изобретении без определенной стереохимии при хиральном центре, включают любой или все возможные стереоизомерные варианты по неопределенному стереоцентру, если не указано иначе. Изображение или название конкретного стереоизомера значит, что указанный стереоцентр имеют указанную стереохимию с пониманием того, что небольшие количества других стереоизомеров могут также присутствовать, если не указано иначе, при условии, что применимость показанного или названного соединения не устраняется присутствием другого стереоизомера.

Соединения формулы (I) также содержат несколько основных групп (например, аминогрупп) и, следовательно, данные соединения могут существовать в виде свободного основания или в виде различных солевых форм, таких как монопротонированная солевая форма, дипротонированная солевая форма, трипротонированная солевая форма или их смеси. Все данные формы включены в объем настоящего изобретения, если не указано иначе.

Настоящее изобретение также включает изотопно-меченные соединения формулы (I), то есть соединения формулы (I), где один или несколько атомов заменены или обогащены атомом, имеющим тот же атомный номер, но атомную массу, отличную от атомной массы, которая преобладает в природе. Примеры изотопов, которые можно вводить в соединение формулы (I), включают, но не ограничиваются ими, ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O и ^{18}O . Особый интерес представляют соединения формулы (I), обогащенные тритием или углеродом-14, которые можно применять, например, в исследованиях распределения в тканях. Также особый интерес представляют соединения формулы (I), обогащенные дейтерием, особенно в месте метаболизма, которые, как ожидается, будут обладать большей метаболической стабильностью. Кроме того, особый интерес представляют соединения формулы (I), обогащенные излучающим позитрон изотопом, таким как ^{11}C , ^{15}O и ^{13}N , которые можно применять, например, в исследова-

ниях с помощью позитронно-эмиссионной томографии (PET).

Определения

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

Термин "алкил" обозначает одновалентную насыщенную углеводородную группу, которая может быть линейной, или разветвленной, или их комбинациями. Если не указано иначе, данные алкильные группы обычно содержат от 1 до 10 атомов углерода. Репрезентативные алкильные группы включают, в качестве примера, метил (Me), этил (Et), н-пропил (n-Pr) или (nPr), изопропил (i-Pr) или (iPr), н-бутил (n-Bu) или (nBu), втор-бутил, изобутил, трет-бутил (t-Bu) или (tBu), н-пентил, н-гексил, 2,2-диметилпропил, 2-метилбутил, 3-метилбутил, 2-этилбутил, 2,2-диметилпентил, 2-пропилпентил и подобные.

Когда конкретное количество атомов углерода предполагается для конкретного термина, число атомов углерода показано перед термином. Например, термин "C₁₋₃ алкил" обозначает алкильную группу, содержащую от 1 до 3 атомов углерода, где атомы углерода находятся в любой химически приемлемой конфигурации, включая линейные или разветвленные конфигурации.

Термин "циклоалкил" обозначает одновалентную насыщенную карбоциклическую группу, которая может быть моноциклической или полициклической. Если не указано иначе, данные циклоалкильные группы обычно содержат от 3 до 10 атомов углерода. Репрезентативные циклоалкильные группы включают, в качестве примера, циклопропил (cPr), циклобутил (cBu), циклопентил, циклогексил, циклогептил, циклооктил, адамантил и подобные.

Термин "гетероциклил", "гетероцикл", "гетероциклический", или "гетероциклическое кольцо" обозначает одновалентную насыщенную или частично ненасыщенную циклическую неароматическую группу, содержащую от 3 до 10 кольцевых атомов, где кольцо содержит от 2 до 9 атомов углерода и от 1 до 4 гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы. Гетероциклические группы могут быть моноциклическими или мультициклическими (то есть сопряженными или соединенными мостиковой связью).

Репрезентативные гетероциклические группы включают, в качестве примера, пирролидинил, пиперидинил, пиперазинил, имидазолидинил, морфолинил, тиоморфолил, индолин-3-ил, 2-имидазолинил, тетрагидропиранил, 1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-2-ил, хинуклидинил, 7-азанорборнанил, нортропанил, и подобные, где точка присоединения находится у любого доступного кольцевого атома углерода или азота. Когда контекст делает очевидной точку присоединения гетероциклической группы, данные группы могут альтернативно называться невалентными группами, т.е. пирролидином, пиперидином, пиперазином, имидазолом, тетрагидропираном и т.д.

Термин "галоген" обозначает фтор, хлор, бром или йод.

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

Термин "лечение" обозначает предотвращение, улучшение или подавление медицинского состояния, заболевания или расстройства, которое лечат (например, заболевание органов дыхательной системы) у пациента (особенно человека); или облегчение симптомов медицинского состояния, заболевания или расстройства.

Термин "фармацевтически приемлемая соль" обозначает соль, приемлемую для введения пациенту или млекопитающему, такому как человек (например, соли, имеющие приемлемую безопасность для млекопитающего при указанном режиме дозирования).

Репрезентативные фармацевтически приемлемые соли включают соли уксусной, аскорбиновой, бензолсульфоновой, бензойной, камфорсульфоновой, лимонной, этансульфоновой, эдисиловой, фумаровой, гентизиновой, глюконовой, глюкуроновой, глутаминовой, гиппуровой, бромистоводородной, хлористоводородной, изетиновой, молочной, лактобионовой, малеиновой, яблочной, миндальной, метансульфоновой, слизиной, нафталинсульфоновой, нафталин-1,5-дисульфоновой, нафталин-2,6-дисульфоновой, никотиновой, азотной, оротовой, памовой, пантотеновой, фосфорной, янтарной, серной, винной, п-толуолсульфокислоты и ксинафоевой кислоты и подобных.

Термин "его соль" обозначает соединение, образующееся, когда водород кислоты заменяют катионом, таким как катион металла или органический катион и подобные. Например, катион может представлять собой протонированную форму соединения формулы (I), то есть форму, в которой одна или несколько аминогрупп протонированы кислотой. Как правило, соль представляет собой фармацевтически приемлемую соль, хотя это не требуется для солей промежуточных соединений, которые не предназначены для введения пациенту.

Термин "защитная группа аминогруппы" обозначает защитную группу, пригодную для предотвращения нежелательных реакций по азоту аминогруппы. Репрезентативные защитные группы аминогруппы включают (но не ограничиваются) формил; ацильные группы, например, алканоильные группы, такие как ацетил и трифторацетил; алкоксикарбонильные группы, такие как треть-бутоксикарбонил (Boc); арилметоксикарбонильные группы, такие как бензилоксикарбонил (Cbz) и 9-флуоренилметоксикарбонил (Fmoc); арилметильные группы, такие как бензил (Bn), тритил (Tr) и 1,1-ди-(4'-метоксифенил)метил; силильные группы, такие как триметилсилил (TMS), трет-бутилдиметилсилил (TBDMS), [2-(триметилсилил)этокси]метил (SEM); и подобные.

Термин "защитная группа гидроксигруппы" обозначает защитную группу, пригодную для предотвращения нежелательных реакций по гидроксигруппе. Репрезентативные защитные группы гидроксигруппы включают, но не ограничиваются, алкильные группы, такие как метил, этил и трет-бутил; ацильные группы, например алканойльные группы, такие как ацетил; арилметильные группы, такие как бензил (Bn), *p*-метоксибензил (PMB), 9-флуоренилметил (Fm) и дифенилметил (бензгидрил, DPM); силильные группы, такие как триметилсилил (TMS) и трет-бутилдиметилсилил (TBS); и подобные.

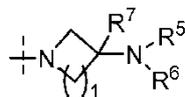
Многочисленные защитные группы и их введение и удаление описаны в Т.В. Greene и Р.Г.М. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Third Edition, Wiley, New York

Общие способы получения

Соединения настоящего изобретения и их промежуточные соединения можно получить в соответствии со следующими общими способами и процедурами, применяя коммерчески доступные или получаемые стандартным способом исходные соединения и реагенты. Заместители и переменные (например, R¹, R² и т.д.), применяемые в следующих схемах, имеют те же значения, что и определенные в другом месте настоящим документе, если не указано иначе. Кроме того, соединения, содержащие кислотный или основной атом или функциональную группу, можно применять или получать в виде соли, если не указано иначе (в некоторых случаях применение соли в конкретной реакции потребует превращения соли в несольевую форму, например, свободное основание, применяя стандартные способы перед проведением реакции).

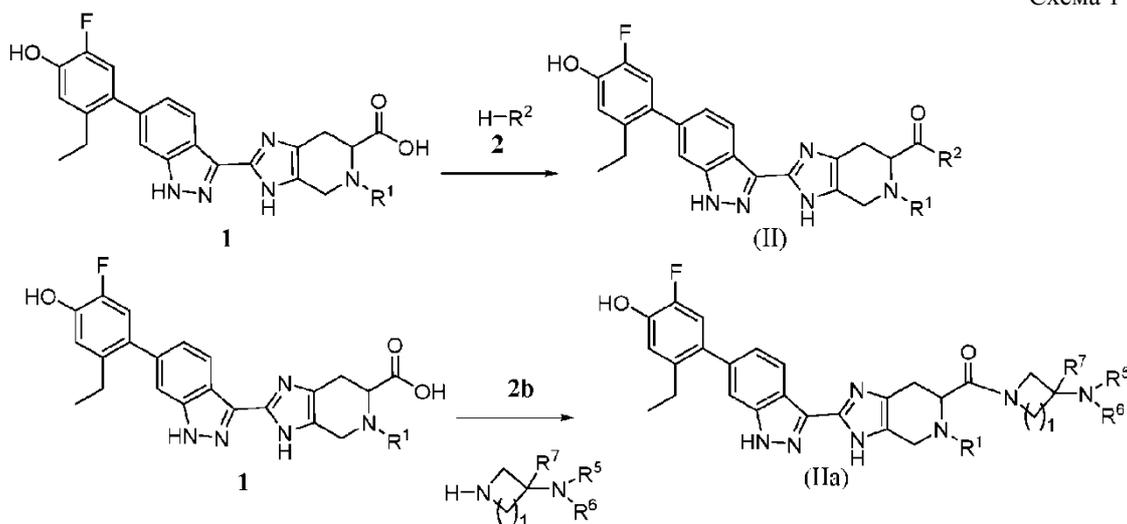
Хотя конкретный вариант осуществления настоящего изобретения может быть показан или описан в следующих способах, специалистам в данной области техники ясно, что другие варианты осуществления или аспекты настоящего изобретения также могут быть получены, применяя данные способы или применяя другие способы, реагенты и исходные вещества, известные специалистам в данной области техники. В частности, ясно, что соединения настоящего изобретения можно получить различными способами, в которых реагенты смешивают в разных порядках, получая различные промежуточные соединения на пути к получению конечных продуктов.

Общий метод получения конечного соединения настоящего изобретения, в котором переменную X определяют как -C(O)R² и R¹ представляет собой C₁₋₃алкил, применяет ключевое промежуточное соединение 1 и амин формулы 2, как показано в общем на схеме 1 и, в частности, для примера, в котором R² определяют как



2b

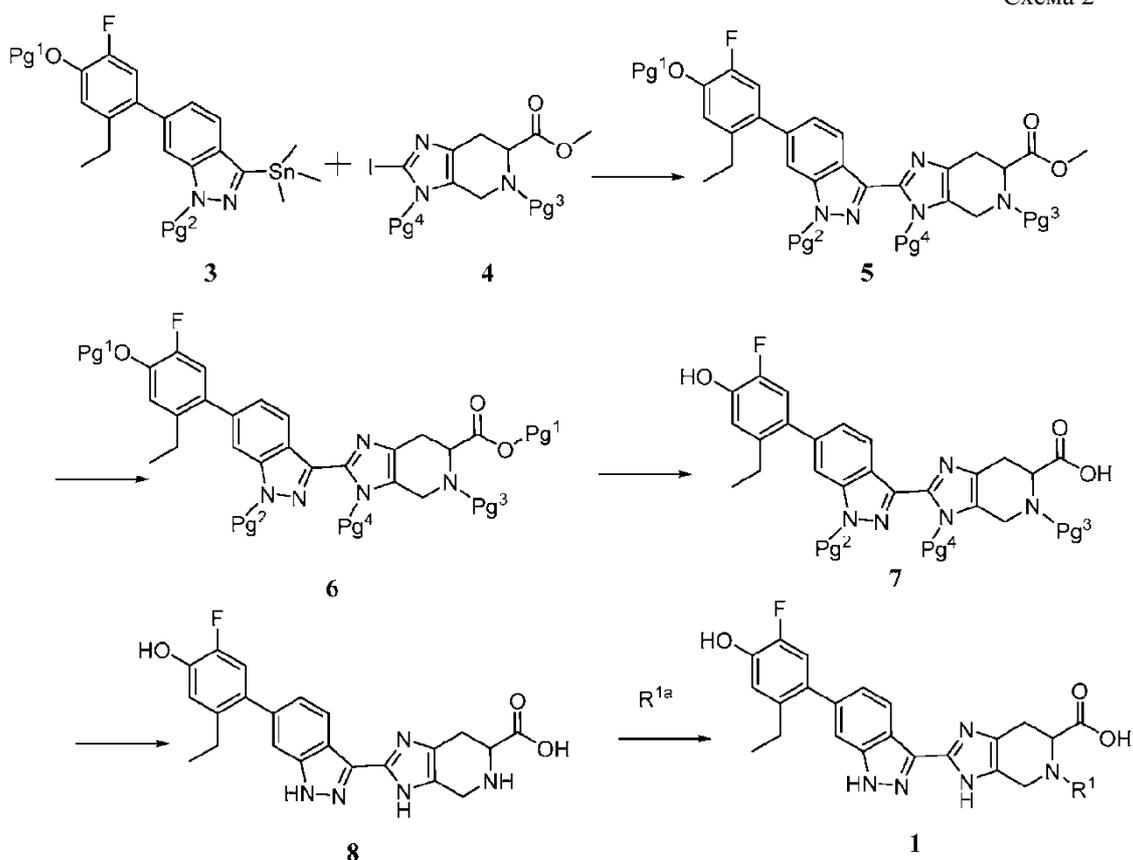
Для конкретного приведения примера репрезентативного амидного конечного продукта формулы (II).
Схема 1



Для получения амидного соединения формулы (II) карбоновая кислота формулы 1 реагирует с амином 2 согласно стандартным условиям образования амидной связи. Обычно карбоновая кислота 1 контактирует с от приблизительно 1 до приблизительно 4 эквивалентов амина 2 в присутствии избытка основания. Как показано в примерах ниже, реакция образования амидной связи может применять конденсирующие агенты, такие как N,N,N',N'-гексафторфосфат тетраметил-О-(7-азабензотриазол-1-ил)уридия (НАТУ) или другие конденсирующие агенты для образования амидной связи, известные в данной области техники. Реакцию обычно проводят при комнатной температуре в течение от приблизительно 2 до приблизительно 24 ч или до того, как реакция по существу не завершится.

Карбоновую кислоту формулы 1 можно получить, как показано на схеме 2.

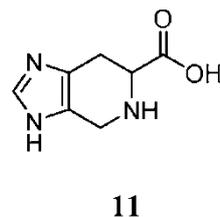
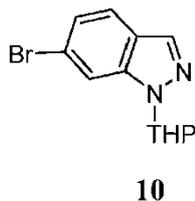
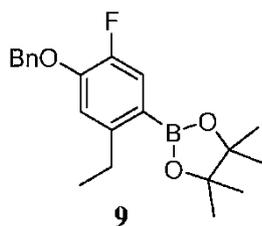
Схема 2



где Pg^1 представляет собой гидрокси-защитную группу и Pg^2 , Pg^3 , и Pg^4 представляют собой различные защитные группы аминогрупп. Как описано в примере ниже, подходящий выбор защитных групп включает бензил или метил в качестве Pg^1 , тетрагидропиранил (THP) в качестве Pg^2 , трет-бутоксикарбонил (Boc) или бензил в качестве Pg^3 и [2(триметилсилил)этокси]метил (SEM) в качестве Pg^4 . Первая стадия схемы 2 представляет собой катализируемую палладием конденсацию по Стилле промежуточного соединения 3 с промежуточным соединением 4, где фенилиндазольное промежуточное соединение 3 содержит триметилстаниловый фрагмент и партнер реакции 4 замещен йодом. Реакцию обычно проводят при повышенной температуре, например при от приблизительно 80°C до приблизительно 180°C в течение от приблизительно 10 до приблизительно 24 ч или до того, как реакция по существу не завершится.

Когда бензил применяют в качестве Pg^1 , на следующей стадии, метиловый эфир промежуточного соединения 5 превращают в бензиловый эфир в промежуточном соединении 6 реакцией 5 с бензиловым спиртом. Обе бензильные защитные группы обычно удаляют катализируемым палладием гидрированием, получая промежуточное соединение 7, которое полностью деблокируют реакцией с кислотой, обычно хлористоводородной кислотой. На финальной стадии, заместитель R^1 вводят восстановительным алкилированием промежуточного соединения 8 реагентом R^{1a} , где R^{1a} представляет собой альдегид или кетон, определенный так, чтобы после восстановления получить R^1 . Например, для введения метильного заместителя R^1 формальдегид применяют в качестве реагента R^{1a} , для введения изопропильной группы в качестве заместителя R^1 ацетон применяют в качестве реагента R^{1a} . Реакцию обычно проводят в присутствии восстанавливающего агента, такого как цианоборгидрид натрия, или триацетоксиборгидрид натрия, или подобных, при температуре окружающей среды в течение периода от приблизительно 10 до приблизительно 24 ч или до того, как реакция по существу не завершится.

Промежуточные соединения 3 и 4 можно получить из продаваемых или легко получаемых исходных соединений, как описано подробно ниже. В частности, способ получения промежуточного соединения 3, в котором Pg^1 представляет собой бензил и Pg^2 представляет собой THP, применяет конденсацию Судзуки-Мияуры соединения 9 с соединением 10, с последующими общепринятыми реакциями, вводя триметилстанильную группу.



Промежуточное соединение 4 можно получить из соединения 11, которое имеется в продаже в рацемической и стереоспецифических формах, и можно также получить из гистидина.

Соответственно в аспекте способа настоящее изобретение относится к способу получения соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемой соли, причем способ включает реакцию соединения формулы 1 с соединением формулы 2, как показано на схеме 1, получая соединение формулы (II) или его фармацевтически приемлемую соль.

В следующем аспекте способа настоящее изобретение относится к способу получения соединения формулы 1, причем способ включает реакцию соединения формулы 8 с R^{1a} в присутствии восстанавливающего агента, где R^{1a} представляет собой альдегид или кетон, определенный так, чтобы после восстановительного алкилирования заместитель R¹, где R¹ представляет собой C₁₋₃алкил, присоединился к соединению формулы 8, давая соединение формулы 1.

В дополнительном аспекте способа настоящее изобретение относится к способу получения соединения формулы 8, причем способ включает деблокирование соединения формулы 7.

В еще другом аспекте настоящее изобретение относится к соединению формулы 1 и соединениям формулы 7 и 8, пригодным в получении соединения формулы 1.

Фармацевтические композиции

Соединения настоящего изобретения и их фармацевтически приемлемые соли обычно применяют в виде фармацевтической композиции или состава. Данные фармацевтические композиции можно преимущественно вводить пациенту путем ингаляции. Кроме того, фармацевтические композиции можно вводить любым приемлемым путем введения, включая (но не ограничиваясь) пероральный, ректальный, назальный, местный (включая трансдермальный) и парентеральный способы введения.

Соответственно в одном из аспектов его составов, настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество и соединение формулы (I), где, как определено выше, "соединение формулы (I)" обозначает соединение формулы (I) или его фармацевтически приемлемую соль. Необязательно, данные фармацевтические композиции могут содержать другие терапевтические и/или препаратобразующие агенты при необходимости. При обсуждении композиций и их применения, "соединение настоящего изобретения" можно также называть в настоящем изобретении "активным агентом". Как применяют в настоящем изобретении, предполагается, что термин "соединение настоящего изобретения" включает все соединения, включенные формулой (I), а также соединения, воплощенные в формуле (II), и их фармацевтически приемлемые соли.

Фармацевтические композиции настоящего изобретения обычно содержат терапевтически эффективное количество соединения настоящего изобретения. Однако специалисту в данной области техники ясно, что фармацевтическая композиция может содержать более чем терапевтически эффективное количество, т.е. сыпучие композиции, или меньше чем терапевтически эффективное количество, т.е. отдельные единичные дозы, разработанные для нескольких введений для получения терапевтически эффективного количества.

Обычно данные фармацевтические композиции будут содержать от приблизительно 0,01 до приблизительно 95% по весу активного агента; включая, например, от приблизительно 0,05 до приблизительно 30% по весу; и от приблизительно 0,1 до приблизительно 10% по весу активного агента.

Любой общепринятый носитель или вспомогательное вещество можно применять в фармацевтических композициях настоящего изобретения. Выбор конкретного носителя или вспомогательного вещества или комбинации носителей или вспомогательных веществ будет зависеть от способа введения, применяемого для лечения конкретного пациента или типа медицинского состояния или заболевания. В связи с этим получение подходящей фармацевтической композиции для конкретного способа введения находится в пределах компетенции специалистов в области фармацевтики. Кроме того, носители или вспомогательные вещества, применяемые в фармацевтических композициях настоящего изобретения, имеются в продаже. В качестве дополнительной иллюстрации, общепринятые способы формулирования описаны в источниках (Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); и H.C. Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999)).

Репрезентативные примеры материалов, которые могут служить в качестве фармацевтически приемлемых носителей, включают (но не ограничиваются) следующие: сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлоза, такая как мик-

рокристаллическая целлюлоза, и ее производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; порошкообразный трагакант; солод; желатин; тальк; вспомогательные вещества, такие как масло какао и воски для суппозиторий; масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; полиолы, такие как глицерин, сорбитол, маннитол и полиэтиленгликоль; эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; агар; буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; альгиновая кислота; апирогенная вода; изотонический солевой раствор; раствор Рингера; этиловый спирт; фосфатные буферные растворы; и другие нетоксичные совместимые вещества, применяемые в фармацевтических композициях.

Фармацевтические композиции обычно получают путем тщательного и равномерного смешения активного агента с фармацевтически приемлемым носителем и одним или несколькими дополнительными ингредиентами. Затем, полученную однородно смешанную смесь можно формовать или загружать в таблетки, капсулы, пилюли и подобные, применяя обычные способы и оборудование.

В одном аспекте фармацевтическая композиция является пригодной для ингаляционного введения. Фармацевтические композиции для ингаляционного введения обычно находятся в форме аэрозоля или порошка. Данные композиции обычно вводят, применяя устройства доставки в виде ингалятора, такие как ингалятор сухого порошка (DPI), ингалятор с отмеренной дозой (MDI), ингалятор-небулайзер или аналогичное устройство доставки.

В конкретном варианте осуществления фармацевтическую композицию вводят ингаляцией, применяя ингалятор сухого порошка. Данные ингаляторы сухого порошка обычно вводят фармацевтическую композицию в виде легкосыпучего порошка, который диспергируется в потоке воздуха пациента во время вдоха. Чтобы получить сыпучую порошковую композицию, терапевтический агент обычно формулируют с подходящим вспомогательным веществом, таким как лактоза, крахмал, маннит, декстроза, полимолочная кислота (PLA), полилактид-со-гликолид (PLGA), или их комбинациями. Обычно терапевтический агент микронизируют и смешивают с подходящим носителем, получая композицию, пригодную для ингаляции.

Репрезентативная фармацевтическая композиция для применения в ингаляторе сухого порошка содержит лактозу и соединение настоящего изобретения в микронизированной форме. Данную сухую порошковую композицию можно получить, например, путем объединения сухой измельченной лактозы с терапевтическим средством и затем сухим смешением компонентов. Затем композицию обычно загружают в дозатор сухого порошка или в ингаляционные картриджи или капсулы для применения с устройством доставки сухого порошка.

Устройства доставки, являющиеся ингаляторами сухого порошка, пригодные для введения терапевтических агентов ингаляцией, описаны в данной области техники, примеры данных устройств имеются в продаже. Например, репрезентативные устройства доставки, являющиеся ингаляторами сухого порошка, или продукты включают Aeolizer (Novartis); Airmax (IVAX); ClickHaler (Innovata Biomed); Diskhaler (GlaxoSmithKline); Diskus/Accuhaler (GlaxoSmithKline); Ellipta (GlaxoSmithKline); Easyhaler (Orion Pharma); Eclipse (Aventis); FlowCaps (Hovione); Handihaler (Boehringer Ingelheim); Pulvinal (Chiesi); Rotahaler (GlaxoSmithKline); SkyeHaler/Certihaler (SkyePharma); Twisthaler (Schering-Plough); Turbuhaler (AstraZeneca); Ultrahaler (Aventis); и подобные.

В другом варианте осуществления фармацевтическую композицию вводят ингаляцией, применяя ингалятор отмеренных доз. Данные ингаляторы отмеренных доз обычно выделяют измеренное количество терапевтического агента, применяя сжатый газ-пропеллент. Соответственно фармацевтические композиции, вводимые с применением ингалятора отмеренных доз, обычно включают раствор или суспензию терапевтического агента в сжиженном пропелленте. Может быть использован любой подходящий сжиженный пропеллент, включая гидрофторалканы (HFA), такие как 1,1,1,2-тетрафторэтан (HFA 134a) и 1,1,1,2,3,3,3-гептафтор-н-пропан (HFA 227); и хлорфторуглероды, такие как CCl₃F. В конкретном варианте осуществления пропеллентом являются гидрофторалканы. В некоторых вариантах осуществления гидрофторалкановая композиция содержит соразтворитель, такой как этанол или пентан, и/или поверхностно-активное вещество, такое как триолеат сорбитана, олеиновая кислота, лецитин и глицерин.

Репрезентативная фармацевтическая композиция для применения в ингаляторе отмеренных доз содержит от приблизительно 0,01 до приблизительно 5% по весу соединения настоящего изобретения; от приблизительно 0 до приблизительно 20% по весу этанола; и от приблизительно 0 до приблизительно 5% по весу поверхностно-активного вещества; причем остаток составляет HFA пропеллент. Данные композиции обычно получают добавлением охлажденного или находящегося под давлением гидрофторалкана в подходящий контейнер, содержащий терапевтический агент, этанол (если присутствует) и поверхностно-активное вещество (если присутствует). Для получения суспензии терапевтический агент микронизируют и затем смешивают с пропеллентом. Затем композицию загружают в аэрозольный баллончик, который обычно образует часть устройства, являющегося ингалятором отмеренных доз.

Устройство, являющееся ингалятором отмеренных доз, пригодное для введения терапевтических агентов ингаляцией, описано в данной области техники, и примеры данных устройств имеются в продаже. Например, репрезентативные устройства, являющиеся ингаляторами отмеренных доз, или продукты

включают AeroBid Inhaler System (Forest Pharmaceuticals); Atrovent Inhalation Aerosol (Boehringer Ingelheim); Flovent (GlaxoSmithKline); Maxair Inhaler (3M); Proventil Inhaler (Schering); Serevent Inhalation Aerosol (GlaxoSmithKline); и подобные.

В другом конкретном аспекте фармацевтическую композиция вводят ингаляцией, применяя распылительный ингалятор. Данные распылительные устройства обычно создают поток высокоскоростного воздуха, который вызывает распыление фармацевтической композиции в виде аэрозоля, который переносится в дыхательные пути пациента. Соответственно при формулировании для применения в распылительном ингаляторе терапевтический агент можно растворять в подходящем носителе, получая раствор. Альтернативно терапевтический агент можно микронизировать или измельчать до наноразмеров и смешивать с подходящим носителем, получая суспензию.

Репрезентативная фармацевтическая композиция для применения в распылительном ингаляторе включает раствор или суспензию, содержащую от приблизительно 0,05 мкг/мл до приблизительно 20 мг/мл соединения настоящего изобретения и вспомогательных веществ, совместимых с составами распылителя. В одном варианте осуществления раствор имеет pH от приблизительно 3 до приблизительно 8.

Распылительные устройства, пригодные для введения терапевтических агентов ингаляцией, описаны в данной области техники, и примеры данных устройств имеются в продаже. Например, репрезентативные распылительные устройства или продукты включают the Respimat Softmist Inhaler (Boehringer Ingelheim); the AERx Pulmonary Delivery System (Aradigm Corp.); the PARI LC Plus Reusable Nebulizer (Pari GmbH); и подобные.

В еще другом аспекте фармацевтические композиции настоящего изобретения можно альтернативно получать в виде лекарственной формы, предназначенной для перорального введения. Подходящие фармацевтические композиции для перорального введения могут быть в виде капсул, таблеток, пилюль, пастилок, саше, драже, порошков, гранул; или в виде раствора или суспензии в водной или неводной жидкости; или в виде жидкой эмульсии масло-в-воде или вода-в-масле; или в виде эликсира или сиропа; и подобных; причем каждый содержит заранее определенное количество соединения настоящего изобретения в качестве активного ингредиента.

При назначении для перорального введения в виде твердой лекарственной формы фармацевтические композиции настоящего изобретения обычно содержат активный агент и один или несколько фармацевтически приемлемых носителей, таких как цитрат натрия или фосфат дикальция. Необязательно или альтернативно данные твердые лекарственные формы могут также содержать наполнители или разбавители, связующие, увлажнители, агенты, замедляющие растворение, ускорители всасывания, смачивающие агенты, абсорбенты, смазывающие агенты, красители и буферные агенты. Агенты, контролирующее высвобождение, смачивающие агенты, покрывающие агенты, подсластители, ароматизаторы и отдушки, консерванты и антиоксиданты также могут присутствовать в фармацевтических композициях настоящего изобретения.

Альтернативные составы могут также включать составы с контролируемым высвобождением, жидкие лекарственные формы для перорального введения, трансдермальные пластыри и парентеральные составы. Традиционные вспомогательные вещества и способы получения данных альтернативных составов описаны, например, со ссылкой на Remington, выше.

Следующие неограничивающие примеры иллюстрируют репрезентативные фармацевтические композиции настоящего изобретения.

Состав сухого порошка

Микронизированное соединение формулы (I) (1 г) смешивают с измельченной лактозой (25 г). Затем данную смесь загружают в отдельные блистеры отслаивающейся блистерной упаковки в количестве, достаточном для получения от приблизительно 0,1 до приблизительно 4 мг соединения формулы I на дозу. Содержимое блистеров вводят, применяя ингалятор сухого порошка.

Состав сухого порошка

Микронизированное соединение формулы (I) (1 г) смешивают с измельченной лактозой (20 г), получая сыпучую композицию, содержащую весовое соотношение соединения к измельченной лактозе 1:20. Смешанную композицию упаковывают в устройство для ингаляции сухого порошка, способное доставлять от приблизительно 0,1 до приблизительно 4 мг соединения формулы I на дозу.

Состав для ингалятора отмеренных доз

Микронизированное соединение формулы (I) (10 г) диспергируют в растворе, полученном растворением лецитина (0,2 г) в деминерализованной воде (200 мл). Полученную суспензию сушат распылением, и затем микронизируют, получая микронизированную композицию, содержащую частицы, имеющие средний диаметр менее чем около 1,5 мкм. Затем микронизированную композицию загружают в картриджи с ингалятором отмеренных доз, содержащие 1,1,1,2-тетрафторэтан под давлением, в количестве, достаточном для получения от приблизительно 0,1 до приблизительно 4 мг соединения формулы I на дозу при введении ингалятором отмеренных доз.

Состав для распыления

Соединение формулы (I) (25 мг) растворяют в растворе, содержащем 1,5-2,5 эквивалента хлористоводородной кислотой, с последующим добавлением гидроксида натрия, доводя pH до 3,5-5,5, и 3% по

весу глицерина. Раствор хорошо перемешивают до растворения всех компонентов. Раствор вводят, применяя распылительное устройство, которое обеспечивает от приблизительно 0,1 до приблизительно 4 мг соединения формулы I на дозу.

Применимость

ЖАК ингибиторы настоящего изобретения разработаны для лечения воспалительного и фиброзного заболевания дыхательных путей. В частности, соединения разработаны для обеспечения возможности доставки сильного антицитокинового агента непосредственно к месту действия заболевания органов дыхательной системы в легком при ограничении системного воздействия.

Показано, что соединения настоящего изобретения являются эффективными ингибиторами ЖАК семейства ферментов: ЖАК1, ЖАК2, ЖАК3 и ТУК2. Кроме того, соединения продемонстрировали сильное ингибирование провоспалительных и профиброзных цитокинов без проявления цитотоксичности в клеточных анализах. Признано, что широкий противовоспалительный эффект ЖАК-ингибиторов может подавлять нормальную функцию иммунных клеток, что потенциально ведет к увеличению риска инфицирования. Следовательно, настоящие соединения были оптимизированы для ограничения поглощения из легких в плазму, таким образом, сводя к минимуму риск иммуносупрессии.

Как описано в экспериментальном разделе ниже, поглощение и распределение типичных соединений определялось в доклинических анализах. Выбранные соединения, протестированные на мышах, показали одновременно высокую концентрацию в легочной ткани и низкую абсорбцию в плазме. Соединения, испытанные на мышах, продемонстрировали воздействие в легких на один-два порядка большее, чем воздействие в плазме. Соединения также демонстрировали значительную задержку в легких мыши, о чем свидетельствует период полувыведения из легких, превышающий примерно 5 ч. Важно, что концентрация тестируемого соединения в легких мыши, как было показано, коррелирует с предсказанным фармакодинамическим эффектом ингибирования ЖАК фермента. Соединения настоящего изобретения, как было показано, ингибируют действие провоспалительных цитокинов IL 13 в легочной ткани мыши. В частности, соединения продемонстрировали зависимое от дозы и концентрации ингибирование IL-13-индуцированного фосфорилирования STAT6 в ткани легкого, что свидетельствует о локальном поражении мишени ЖАК в легком *in vivo*. Данный эффект наблюдали, когда провоспалительные цитокины IL-13 вводили через 4 ч после введения тестируемого соединения, обеспечивая дополнительное доказательство значительного удержания в легких.

Было продемонстрировано, что протестированные соединения проявляют как мощную ингибирующую активность на клеточном уровне, так и значительную задержку в ткани легких. Обширные исследования, проведенные авторами настоящего изобретения, показали, что, хотя можно идентифицировать соединения, которые являются активными на клеточном уровне, или соединения, которые демонстрируют значительную задержку в легком, гораздо труднее обнаружить соединения, которые проявляют обе желаемые характеристики одновременно.

Противовоспалительная активность ЖАК ингибиторов полноценно продемонстрирована в предклинических моделях астмы (Malaviya et al., *Int Immunopharmacol*, 2010, 10, 829,-836; Matsunaga et al., *Biochem and Biophys Res Commun*, 2011, 404, 261-267; Kudlacz et al., *Eur J Pharmacol*, 2008, 582, 154-161.) Соответственно соединения настоящего изобретения, как ожидается, будут пригодны для лечения воспалительных респираторных заболеваний, в частности астмы. Воспаление и фиброз легкого является характеристикой других заболеваний органов дыхательной системы в добавление к астме, таких как хроническое обструктивное заболевание легких (COPD), кистозный фиброз (CF), пневмония, интерстициальные легочные заболевания (включая идиопатический легочный фиброз), острое повреждение легких, синдром острой дыхательной недостаточности, бронхит, эмфизема, облитерирующий бронхиолит и саркоидоз. Настоящие соединения, следовательно, как также ожидается, будут пригодны для лечения хронического обструктивного заболевания легких, кистозного фиброза, пневмонии, интерстициальных легочных заболеваний (включая идиопатический легочный фиброз), острого повреждения легких, синдрома острой дыхательной недостаточности, бронхита, эмфиземы, облитерирующего бронхиолита и саркоидоза.

Соединения настоящего изобретения продемонстрировали ингибирование активации Т-клеток человека, ингибирование цитокинов, связанных с воспалением, и активности на эозинофилах человека и в моделях эозинофилии легких грызунов. Следовательно, соединения настоящего изобретения, вероятно, будут пригодными для лечения определенных специфических заболеваний органов дыхательной системы.

Эозинофильное воспаление дыхательных путей представляет собой характерную особенность заболеваний, которые в совокупности называют эозинофильными заболеваниями легких. (Cottin et al., *Clin. Chest. Med.*, 2016, 37(3), 535-56). Эозинофильные заболевания связаны с передачей сигналов IL-4, IL-13 и IL 5. Эозинофильные заболевания легких включают инфекции (особенно глистные инфекции), пневмонию, вызванную лекарственными средствами (индуцированную, например, терапевтическими препаратами, такими как антибиотики, фенитоин или триптофан), пневмонию, вызванную грибами (например, аллергический бронхолегочный аспергиллез), гиперчувствительную пневмонию и эозинофильный гранулематоз с полиангиитом (ранее известный как синдром Чурга-Штрауса). Эозинофильные заболевания легких неизвестной этиологии включают идиопатическую острую эозинофильную пневмонию, идиопатическую хроническую эозинофильную пневмонию, гиперэозинофильный синдром и синдром Леффле-

ра. Показано, что соединения настоящего изобретения значительно снижают эозинофилию легких в модели дыхательных путей грызунов и эффективно ингибируют передачу сигналов IL-13, IL-4 и IL-2 в клеточных анализах. Кроме того, было показано, что соединение примера 2 эффективно ингибирует опосредованную IL-5 выживаемость эозинофилов человека.

Полиморфизм IL-6 гена связан с повышенными уровнями IL-6 и повышенным риском развития легочной артериальной гипертензии (PAH) (Fang et al., *J Am Soc Hypertens*, 2017, 11(3), 171-177). Подтверждая роль IL-6 в PAH, ингибирование цепи gp130 IL-6 рецептора облегчало заболевание в крысиной модели PAH (Huang et al., *Can J Cardiol*, 2016, 32(11), 1356.e1-1356.e10). Было показано, что соединение примера 2 ингибирует передачу сигнала IL-6.

Цитокины, такие как IFN γ , IL-12 и IL-6, участвуют в ряде неаллергических заболеваний легких, таких как саркоидоз и лимфангиолеиомиоматоз (El-Hashemite et al., *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 2005, 33, 227-230, и El-Hashemite et al., *Cancer Res.*, 2004, 64, 3436-3443). Было показано, что соединение примера 2 ингибирует передачу сигнала IL-6 и IFN γ .

Бронхоэктазия и инфильтративные заболевания легких представляют собой заболевания, связанные с хроническим нейтрофильным воспалением. Было показано, что соединение примера 2 ингибирует цитокины, которые связаны с нейтрофильным воспалением (например, IL-6, IFN γ).

Патологическая активация Т-клеток имеет решающее значение в этиологии множества заболеваний органов дыхательной системы. Аутореактивные Т-клетки играют роль в облитерирующем бронхиолите с организующей пневмонией (также называемом COS). Подобно COS, этиология отторжения трансплантата легкого связана с aberrантной Т-клеточной активацией реципиентных Т-клеток трансплантированного легкого донора. Отторжение трансплантата легкого может произойти как ранняя дисфункция трансплантата (PGD), организующая пневмония (OP), острое отторжение (AR) или лимфоцитарный бронхиолит (LB), так и спустя годы после трансплантации легкого как хроническая дисфункция аллотрансплантата легкого (CLAD). CLAD была ранее известна как облитерирующий бронхиолит (BO), но в настоящее время считается синдромом, который имеет различные патологические проявления, включая BO, рестриктивную CLAD (rCLAD или RAS) и нейтрофильную дисфункцию аллотрансплантата. Хроническая дисфункция аллотрансплантата легкого (CLAD) представляет собой серьезную проблему в долгосрочном лечении реципиентов легкого, поскольку это приводит к тому, что трансплантированное легкое постепенно теряет функциональность (Gauthier et al., *Curr Transplant Rep.*, 2016, 3(3), 185-191). CLAD плохо поддается лечению и, следовательно, существует необходимость в эффективных соединениях, способных предотвращать или лечить данное заболевание. Несколько JAK-зависимых цитокинов, таких как IFN γ и IL-5, активируется при CLAD и отторжении трансплантата легкого (Berastegui et al, *Clin Transplant.* 2017, 31, e12898). Более того, высокие уровни в легком CXCR3 хемокинов, таких как CXCL9 и CXCL10, которые находятся дальше в цепочке JAK-зависимой IFN передачи сигнала, связано с плохими результатами у пациентов с трансплантатом легкого (Shino et al, *PLOS One*, 2017, 12 (7), e0180281). Системное ингибирование JAK, как показано, является эффективным при отторжении трансплантата почки (Vicenti et al., *American Journal of Transplantation*, 2012, 12, 2446-56). Следовательно, JAK-ингибиторы могут быть эффективными в лечении или предотвращении отторжения трансплантата легкого и CLAD. Подобные события активации Т-клеток, описанные в качестве основы для отторжения трансплантата легкого, также считают основным фактором возникновения легочной реакции "трансплантат против хозяина" (GVHD), которая может происходить после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Как и в случае с CLAD, GVHD легких представляет собой хроническое прогрессирующее состояние с крайне плохими исходами, и в настоящее время нет одобренных способов лечения. Ретроспективное многоцентровое исследование 95 пациентов с резистентной к стероидам острой или хронической GVHD, получавших системный JAK-ингибитор руксолитиниб в качестве терапии спасения, продемонстрировало полный или частичный ответ на руксолитиниб у большинства пациентов, включая пациентов с GVHD легких (Zeiser et al, *Leukemia*, 2015, 29, 10, 2062-68). Поскольку системное ингибирование JAK связано с серьезными нежелательными явлениями и небольшим терапевтическим индексом, остается потребность в ингаляционном, направленном на легкие, несистемном JAK-ингибиторе для предотвращения и/или лечения отторжения трансплантата легкого или легочной GVHD. Соединения настоящего изобретения обладают характеристиками, необходимыми для удовлетворения данной потребности. Совсем недавно ингибитор иммунных контрольных точек вызвал пневмонию, еще одно Т-клеточное заболевание легких, возникшее при активном применении ингибиторов иммунных контрольных точек. У больных раком, получавших данные стимуляторы Т-клеток, может развиваться летальная пневмония. Было показано, что соединение примера 2 ингибирует индуцированное анти-CD3 и IL-2 высвобождение IFN γ из активированных Т-клеток, выделенных из периферической крови человека, и продуцирование CXCL9 и CXCL10 в эпителиальных клетках дыхательных путей и, таким образом, обладает потенциалом представлять новый тип лечения данных, лишенных внимания серьезных заболеваний органов дыхательной системы.

В одном аспекте, следовательно, настоящее изобретение относится к способу лечения заболевания органов дыхательной системы у млекопитающего (например, человека), причем способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения настоящего изобретения или

фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель и соединение настоящего изобретения.

В одном аспекте заболевание органов дыхательной системы представляет собой астму, хроническое обструктивное заболевание легких, кистозный фиброз, пневмонию, хроническое обструктивное заболевание легких (COPD), кистозный фиброз (CF), пневмонию, интерстициальные легочные заболевания (включая идиопатический легочный фиброз), острое повреждение легких, синдром острой дыхательной недостаточности, бронхит, эмфизему, облитерирующий бронхиолит или саркоидоз. В другом аспекте заболевание органов дыхательной системы представляет собой астму или хроническое обструктивное заболевание легких.

В одном аспекте заболевание органов дыхательной системы представляет собой легочную инфекцию, эозинофильную болезнь, глистную инфекцию, легочную артериальную гипертензию, саркоидоз, лимфангиолеиомиоматоз, бронхоэктазию, инфильтративное заболевание легких, лекарственную пневмонию, пневмонию, вызванную грибами, аллергический бронхолегочный аспергиллез, гиперчувствительную пневмонию, эозинофильный гранулематоз с полиангиитом, идиопатическую острую эозинофильную пневмонию, идиопатическую хроническую эозинофильную пневмонию, гиперэозинофильный синдром, синдром Леффлера, облитерирующий бронхиолит с организующейся пневмонией (включая PGD, OP, LB, AR и CLAD, BO, рестриктивную CLAD и нейтрофильную дисфункцию аллотрансплантата), заболевание трансплантат против хозяина, облитерирующий бронхиолит с организующейся пневмонией, легочную артериальную гипертензию, бронхоэктазию или индуцированную пневмонию.

Настоящее изобретение дополнительно относится к способу лечения астмы у млекопитающего, причем способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения настоящего изобретения или фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель и соединение настоящего изобретения.

При применении для лечения астмы соединения настоящего изобретения обычно будут вводить в виде однократной суточной дозы или в виде множества доз в сутки, хотя можно применять другие формы введения. Количество активного агента, вводимого в одной дозе, или общее количество, вводимое за день, обычно определяется лечащим врачом, с учетом соответствующих обстоятельств, включая заболевание, подлежащее лечению, выбранный путь введения, фактическое вводимое соединение и его относительную активность, возраст, вес и реакцию конкретного пациента, тяжесть симптомов у пациента, и подобные.

Настоящее изобретение дополнительно относится к способу лечения заболевания органов дыхательной системы, включая (но не ограничиваясь) заболевание, описанное в настоящем изобретении, у млекопитающего, причем способ включает введение млекопитающему терапевтически эффективного количества соединения настоящего изобретения или фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель и соединение настоящего изобретения.

При применении для лечения заболевания органов дыхательной системы, включая (но не ограничиваясь) заболевание, описанное в настоящем изобретении, соединения настоящего изобретения будут обычно вводить в виде однократной суточной дозы или в виде множества доз в сутки, хотя можно применять другие формы введения. Количество активного агента, вводимого в одной дозе, или общее количество, вводимое за день, обычно определяется лечащим врачом, с учетом соответствующих обстоятельств, включая заболевание, подлежащее лечению, выбранный путь введения, фактическое вводимое соединение и его относительную активность, возраст, вес и реакцию конкретного пациента, тяжесть симптомов у пациента и подобное.

В качестве JAK ингибиторов соединения настоящего изобретения могут быть пригодными для множества других заболеваний. Соединения настоящего изобретения могут быть пригодными при различных желудочно-кишечных воспалительных заболеваниях, которые включают (но не ограничиваются) воспалительное заболевание кишечника, язвенный колит (проктосигмоидит, панколит, язвенный проктит и левосторонний колит), болезнь Крона, коллагенозный колит, лимфоцитарный колит, болезнь Бехчета, целиакию, колит, вызванный ингибитором иммунной контрольной точки, илеит, эозинофильный эзофагит, колит, связанный с заболеванием трансплантат против хозяина и инфекционный колит. Язвенный колит (Reimund et al., *J Clin Immunology*, 1996, 16, 144-150), болезнь Крона (Woywodt et al., *Eur J Gastroenterology Hepatology*, 1999, 11, 267-276), коллагенозный колит (Kumawat et al., *Mol Immunology*, 2013, 55, 355-364), лимфоцитарный колит (Kumawat et al., 2013), эозинофильный эзофагит (Weinbrand-Goichberg et al., *Immunol Res*, 2013, 56, 249-260), колит, связанный с заболеванием трансплантат против хозяина (Coghill et al., *Blood*, 2001, 117, 3268-3276), инфекционный колит (Stallmach et al., *Int J Colorectal Dis*, 2004, 19, 308-315), болезнь Бехчета (Zhou et al., *Autoimmun Rev*, 2012, 11, 699-704), целиакия (de Nitto et al., *World J Gastroenterol*, 2009, 15, 4609-4614), колит, вызванный ингибитором иммунной контрольной точки (например, колит, вызванный CTLA-4 ингибитором; (Yano et al., *J Translation Med*, 2014, 12, 191), колит, вызванный PD-1- или PD-L1-ингибитором) и илеит (Yamamoto et al., *Dig liver Dis*, 2008, 40, 253-259) характеризуются повышением уровня определенных провоспалительных цитокинов. Поскольку многие провоспалительные цитокины передают сигнал за счет JAK активации, соединения, описанные в настоящей заявке, могут быть способны облегчать воспаление и обеспечить облегчение симптомов. В

частности, соединения настоящего изобретения могут быть полезными для стимулирования и поддержания ремиссии язвенного колита, а также для лечения болезни Крона, колита, вызванного ингибитором иммунной контрольной точки, и желудочно-кишечных побочных эффектов при заболевании трансплантат против хозяина. Таким образом, настоящее изобретение относится к способу лечения желудочно-кишечных воспалительных заболеваний у млекопитающего (например, у человека), причем способ включает введение млекопитающему соединения настоящего изобретения, или его фармацевтически приемлемой соли, или фармацевтической композиции, содержащей фармацевтически приемлемый носитель и соединение настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемую соль.

Атопический дерматит и другие воспалительные заболевания кожи связаны с повышением провоспалительных цитокинов, которые зависят от JAK-STAT пути. Следовательно, соединения настоящего изобретения или их фармацевтически приемлемые соли могут быть полезными при ряде кожных воспалительных или зудящих заболеваний, которые включают, но не ограничиваются, атопический дерматит, очаговую алопецию, витилиго, псориаз, дерматомиозит, кожную Т-клеточную лимфому (Netchiporouk et al., *Cell Cycle*. 2014; 13, 3331-3335) и подтипы (синдром Сезари, грибковидный микоз, педжетоидный ретикулез, гранулематозная дряблая кожа, лимфоматоидный папулез, хронический лихеноидный парapsoriasis, оспенновидный лихеноидный острый парapsoriasis, CD3 0+ кожная Т-клеточная лимфома, вторичная кожная CD30+ крупноклеточная лимфома, негрибовидный микоз, CD30- кожная Т-крупноклеточная лимфома, плеоморфная Т-клеточная лимфома, лимфома Ленерта, подкожная Т-клеточная лимфома, ангиоцентрическая лимфома, бластная НК-клеточная лимфома), узловатая почесуха, красный плоский лишай, первичный локализованный кожный амилоидоз, буллезный пемфигоид, кожные проявления трансплантат против хозяина, пемфигоид, дискоидная красная волчанка, анулярная гранулема, симплексный хронический лишай, зуд вульвы/мошонки/периаанального канала, склероатрофический лишай, зуд после герпетической невралгии, плоский фолликулярный лишай и декальвирующий фолликулит. В частности, атопический дерматит (Bao et al., *JAK-STAT*, 2013, 2, e24137), гнездная алопеция (Xing et al., *Nat Med*. 2014, 20, 1043-1049), витилиго (Craiglow et al, *JAMA Dermatol*. 2015, 151, 1110-1112), узловатая почесуха (Sunkoly et al., *J Allergy Clin Immunol*. 2006, 117, 411-417), красный плоский лишай (Welz-Kubiak et al., *J Immunol Res*. 2015, ID:854747), первичный локализованный кожный амилоидоз (Tanaka et al., *Br J Dermatol*. 2009, 161, 1217-1224), буллезный пемфигоид (Feliciani et al., *Int J Immunopathol Pharmacol*. 1999, 12, 55-61) и кожные проявления трансплантат против хозяина (Okuyama et al., *J Invest Dermatol*. 2014, 134, 992-1000) характеризуются повышением определенных цитокинов, которые передают сигнал посредством JAK активации. Соответственно соединения настоящего изобретения или их фармацевтически приемлемые соли могут быть способны облегчать ассоциированное кожное воспаление или зуд, вызываемый данными цитокинами. В частности, можно ожидать, что соединения настоящего изобретения или их фармацевтически приемлемые будут пригодными для лечения атопического дерматита и других воспалительных заболеваний кожи. В одном аспекте, следовательно, настоящее изобретение относится к способу лечения воспалительного заболевания кожи у млекопитающего (например, человека), причем способ включает нанесение фармацевтической композиции, содержащей соединение настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтический носитель, на кожу млекопитающего. В одном аспекте воспалительное заболевание кожи представляет собой атопический дерматит.

Было показано, что многие глазные заболевания связаны с повышением уровня провоспалительных цитокинов, которые зависят от пути JAK-STAT. Следовательно, соединения настоящего изобретения или их фармацевтически приемлемые соли могут быть пригодными для лечения ряда заболеваний глаз, которые включают (но не ограничиваются) увеит, диабетическую ретинопатию, диабетический макулярный отек, сухость глаз, возрастную дегенерацию желтого пятна и атопический кератоконъюнктивит. В частности, увеит (Horai and Caspi, *J Interferon Cytokine Res*, 2011, 31, 733-744), диабетическая ретинопатия (Abcouwer, *J Clin Cell Immunol*, 2013, Suppl 1, 1-12), диабетический макулярный отек (Sohn et al., *American Journal of Ophthalmology*, 2011, 152, 686-694), сухость глаз (Stevenson et al, *Arch Ophthalmol*, 2012, 130, 90-100) и возрастная дегенерация желтого пятна (Knickerbein et al, *Int Ophthalmol Clin*, 2015, 55(3), 63-78) характеризуется повышением определенных провоспалительных цитокинов, которые передают сигнал посредством JAK-STAT пути. Соответственно соединения настоящего изобретения или их фармацевтически приемлемые соли могут быть способны облегчить ассоциированное воспаление глаз и обратить вспять прогрессирование заболевания или обеспечить облегчение симптомов. В одном аспекте, следовательно, настоящее изобретение относится к способу лечения глазного заболевания у млекопитающего, причем способ включает введение фармацевтической композиции, содержащей соединение настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтический носитель, на глаз млекопитающего. В одном аспекте глазное заболевание представляет собой увеит, диабетическую ретинопатию, диабетический макулярный отек, сухость глаз, возрастную макулярную дегенерацию или атопический кератоконъюнктивит. В одном аспекте способ включает введение соединения настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемой соли путем интравитреального введения. Соединение настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемую соль также можно применять в сочетании с одним или несколькими соединениями, пригодными для глазных заболеваний.

Соединения настоящего изобретения или их фармацевтически приемлемые соли также могут быть пригодными для лечения других заболеваний, таких как другие воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания или рак. Соединения настоящего изобретения или их фармацевтически приемлемые соли могут быть пригодными для лечения одного или нескольких из артрита, ревматоидного артрита, ювенильного ревматоидного артрита, отторжения трансплантата, ксерофтальмии, псориазического артрита, диабета, инсулинозависимого диабета, болезни двигательных нейронов, миелодиспластического синдрома, боли, саркопении, кахексии, септического шока, системной красной волчанки, лейкоза, хронического лимфоцитарного лейкоза, хронического миелолейкоза, острого лимфобластного лейкоза, острого миелобластного лейкоза, анкилозирующего спондилита, миелофиброза, В-клеточной лимфомы, гепатоцеллюлярного рака, болезни Ходжкина, рака молочной железы, множественной миеломы, меланомы, неходжкинской лимфомы, немелкоклеточного рака легкого, светлоклеточного рака яичника, опухоли яичника, опухоли поджелудочной железы, истинной полицитемии, синдрома Шегрена, саркомы мягких тканей, саркомы, спленомегалии, Т-клеточной лимфомы и большой талассемии.

Комбинационная терапия

Соединения настоящего изобретения или их фармацевтически приемлемые соли можно применять в комбинации с одним или более агентами, которые действуют по тому же механизму или отличными механизмами для лечения заболевания. Различные агенты можно вводить последовательно или одновременно, в разных композициях или в одной композиции. Пригодные классы агентов для комбинационной терапии включают, но не ограничиваются, агонист бета 2 адренорецептора, антагонист мускариновых рецепторов, глюкокортикоидный агонист, антагонист сопряженного с G-белком рецептора-44, антагонист лейкотриена D4, антагонист мускаринового M2 рецептора, антагонист гистаминового рецептора H1, антагонист иммуноглобулина E, ингибитор PDE 4, антагонист IL-4, антагонист мускаринового рецептора M1, антагонист гистаминового рецептора, антагонист IL-13, антагонист IL-5, ингибитор 5-липоксигеназы, агонист бета-адренорецептора, CCR3 хемокиновый антагонист, стимулятор CFTR, модулятор иммуноглобулина, ингибитор лиганда интерлейкина 33, ингибитор PDE 3, ингибитор фосфоинозитид-3-киназы дельта, антагонист тромбоксана A2, ингибитор эластазы, Kit тирозинкиназный ингибитор, лейкотриеновый антагонист E4, лейкотриеновый антагонист, антагонист PGD2, ингибитор лиганда TNF альфа, связывающий TNF агент, ингибитор каскадного комплемента, ингибитор лиганда эотаксина, ингибитор глутатионредуктазы, антагонист рецептора гистамина H4, антагонист IL-6, стимулятор гена IL2, модулятор ПВ Fc-рецептора иммуноглобулина гамма, лиганд интерферона-гамма, ингибитор лиганда интерлейкина 13, ингибитор лиганда интерлейкина 17, антагонист L-селектина, ингибитор эластазы лейкоцитов, антагонист лейкотриена C4, ингибитор лейкотриен C4 синтазы, ингибитор мембранной содержащей медь аминоксидазы, ингибитор металлопротеазы-12, ингибитор металлопротеазы-9, модулятор аллергена клещей, модулятор мускаринового рецептора, агонист никотинового ацетилхолинового рецептора, ингибитор ядерного фактора каппа В, антагонист Р-селектина, ингибитор PDE 5, антагонист рецептора PDGF, ингибитор фосфоинозитид-3-киназы гамма, агонист TLR-7, антагонист TNF, ингибитор Abl тирозинкиназы, антагонист рецептора ацетилхолина, ингибитор кислой хитиназы млекопитающих, агонист рецептора АСТН, модулятор полимеризации актина, антагонист рецептора аденозина A1, стимулятор аденилатциклазы, антагонист адренорецептора, лиганд адренокортикотропного гормона, ингибитор алкогольдегидрогеназы 5, альфа 1 антитрипсиновый стимулятор, альфа 1 протеиназный ингибитор, модулятор рецептора андрогена, стимулятор ангиотензинпревращающего фермента 2, агонист ANP, ингибитор белка Vsc, антагонист бета 1 адренорецептора, антагонист бета 2 адренорецептора, модулятор бета 2 адренорецептора, бета-амилоидный модулятор, ингибитор гена BMP10, ингибитор гена BMP15, ингибитор кальциевых каналов, ингибитор катепсина G, ингибитор гена CCL26, модулятор хемокинов CCR3, антагонист хемокинов CCR4, ингибитор молекулы клеточной адгезии, стимулятор шаперонина, ингибитор хитиназы, антагонист коллагена I, ингибитор комплемента C3, антагонист CSF-1, антагонист хемокинов CXCR2, модулятор общей бета-цепи цитокиновых рецепторов, стимулятор цитотоксического белка Т-лимфоцитов-4, стимулятор дезоксирибонуклеазы I, стимулятор дезоксирибонуклеазы, ингибитор дипептидилпептидазы I, ингибитор ДНК-гиразы, модулятор рецептора простаноида DP, антагонист E-селектина, ингибитор рецептора тирозинкиназы семейства EGFR, модулятор эластина, антагонист эндотелина ET-A, антагонист эндотелина ET-B, ингибитор эпоксидгидролазы, антагонист рецептора FGF3, ингибитор Fyn тирозинкиназы, ингибитор фактора транскрипции GATA 3, модулятор глюкозилцерамидазы, модулятор рецептора глутамата, ингибитор лиганда GM-CSF, стимулятор гуанилатциклазы, ингибитор H+K+ АТФазы, модулятор гемоглобина, агонист гепарина, ингибитор гистондеацетилазы, стимулятор гистонадеацетилазы-2, ингибитор HMG CoA редуктазы, ингибитор I-каппа В киназы-бета, ингибитор гена ICAM1, антагонист IL-17, модулятор рецептора IL-17, антагонист IL-23, модулятор рецептора IL-4, модулятор иммуноглобулина G, агонист иммуноглобулина G1, модулятор иммуноглобулина G1, антагонист Fc рецептора IA иммуноглобулина эпсилон, антагонист Fc рецептора IIВ иммуноглобулина эпсилон, модулятор иммуноглобулина каппа, сенсорилизатор инсулина, лиганд интерферона бета, антагонист рецептора, подобного интерлейкину 1, ингибитор лиганда интерлейкина 18, антагонист рецептора интерлейкина 17A, ингибитор лиганда интерлейкина-1 бета, ингибитор лиганда интерлейкина-5, ингибитор лиганда интерлейкина-б, ингибитор KCNA потенциал-активируемого калиевого канала 3, KCNA,

ингибитор Kit лиганда, агонист ламинина-5, антагонист рецептора лейкотриена CysLT1, антагонист рецептора лейкотриена CysLT2, ингибитор гена LOXL2, ингибитор Lyn тирозинкиназы, ингибитор белка MARCKS, ингибитор MDR-ассоциированного белка 4, модулятор металлопротеазы-2, модулятор металлопротеазы-9, рецептор металлопротеазы-9, антагонист минералокортикоидного рецептора, антагонист мускаринового рецептора M2, антагонист мускаринового рецептора M4, антагонист мускаринового рецептора M5, агонист рецептора А натрийуретического пептида, модулятор рецептора натуральных клеток-киллеров, стимулятор альфа-7 субъединицы никотинового рецептора ACh, модулятор NK-клеточного рецептора, модулятор ядерного фактора каппа-B, агонист рецептора опиоидного фактора роста, ингибитор Р-гликопротеина, P2X3-пуриноцепторный антагонист, р38 MAP-киназный ингибитор, модулятор пептидазы 1, ингибитор фосфолипазы A2, ингибитор фосфолипазы C, ингибитор активатора плазминогена 1, антагонист рецептора фактора активации тромбоцитов, PPAR-гамма агонист, агонист простаглицина, ингибитор протеинтирозинкиназы, стимулятор инозитолфосфатазы 1 домена SH2, ингибитор сигнальной трансдукции, ингибитор натриевых каналов, модулятор STAT-3, ингибитор антигена-1 стволовых клеток, модулятор супероксиддисмутазы, ингибитор CD28 гликопротеина Т-клеточной поверхности, ингибитор CD8 гликопротеина Т-клеточной поверхности, агонист TGF бета, антагонист TGF бета, ингибитор тромбосансинтеазы, ингибитор лиганда тимического стромального лимфопротеина, тимозиновый агонист, лиганд тимозин бета 4, агонист TLR-8, агонист TLR-9, стимулятор гена TLR9, ингибитор топоизомеразы IV, быстрый скелетный мышечный стимулятор тропонина I, быстрый скелетный мышечный стимулятор тропонина T, антагонист рецептора IL-1 типа I, модулятор рецептора TNF II типа, модулятор ионных каналов, стимулятор утероглобина и VIP агонист.

Конкретные агенты, которые можно применять в комбинации с соединениями настоящего изобретения, являющимися JAK ингибиторами, включают (но не ограничиваются) розипторрацетат, бромид умеклидиния, секукинумаб, ацетат метенкефалина, ацетат тридекактида, пропионат флутиказона, сульфорафан, стабилизированный альфа-циклодекстрином, тезепелумаб, фураат мометазона, BI-1467335, дупилумаб, аклидиний, формотерол, AZD-1419, HI-1640V, ривипансел, CMP-001, маннитол, ANB-020, омализумаб, трегализумаб, митизакс, бенрализумаб, голимумаб, рофлумиласт, иматиниб, REGN-3500, мазитиниб, апремиласт, RPL-554, актиммун, адалимумаб, рупатадин, парогрелил, МК-1029, беклометазон дипропионат, фумарат формотерола, могамулизумаб, сератродаст, UCSB-4144, немирализиб, SK-2127107, февиципрант, данириксин, бозентан, абатацепт, EC-18, дувелисид, доципарстат, ципрофлоксацин, салбутамол HFA, эрдостеин, PrEP-001, недокромил, CDX-0158, салбутамол, энобосарм, R-TPR-022, лензилумаб, фураат флутиказона, трифенатат вилантерола, пропионат флутиказона, саметерол, PT-007, PRS-060, реместемцел-L, цитруллин, RPC-4046, оксид азота, DS-102, герилимумаб, актаир, фураат флутиказона, умеклидиний, вилантерол, AG-NPP709, гамунекс, инфликсимаб, ампион, акумапимод, канакинумаб, INS-1007, CYP-001, сирукумаб, пропионат флутиказона, меполизумаб, питавастатин, солитромицин, этанерцепт, ивакафтор, анакинра, MPC-300-IV, бромид гликопиррония, бромид аклидиния, FP-025, ризанкизумаб, гликопирроний, фумарат формотерола, адипоцелл, YPL-001, бромид тиотропия, бромид гликопиррония, малеат ндакатерола, андекаликсимаб, олодатерол, эзомерпразол, вакцина от клеца домашней пыли, аллергенная вакцина от пыльцы полыни обыкновенной, ваворолон, гефапиксант, ревефенацин, гефитиниб, реджойн, типелукаст, бедорадрин, SCM-CGH, SHP-652, RNS-60, бродалумаб, BIO-11006, бромид умеклидиния, трифенатат вилантерола, бромид ипратропия, тралокинумаб, PUR-1800, VX-561, VX-371, олопатадин, тулобутерол, фумарат формотерола, ацетонид триамцинолона, резлизумаб, ксинафоат сальметерола, пропионат флутиказона, дипропионат беклометазона, фумарат формотерола, бромид тиотропия, лигелизумаб, RUTI, бертилимумаб, омализумаб, бромид гликопиррония, SENS-111, дипропионат беклометазона, CHF-5992, LT-4001, индакатерол, бромид гликопиррония, фураат мометазона, фексофенатид, бромид гликопиррония, азитромицин, AZD-7594, формотерол, CHF-6001, батифентерол, OATD-01, олодатерол, CJM-112, розиглитазон, сальметерол, сетипипрант, ингалируемый интерферон бета, AZD-8871, плеканатид, флутиказон, сальметерол, моноглицериды эйкозапентаеновой кислоты, лебрикизумаб, RG-6149, QBKPN, мометазон, индакатерол, AZD-9898, пируват натрия, зилеутон, CG-201, имидафенацин, CNTO-6785, CLBS-03, мометазон, RGN-137, прокатерол, формотерол, CCI-15106, POL-6014, индакатерол, беклометазон, MV-130, GC-1112, аллерговак депо, MEDI-3506, QBW-251, ZPL-389, уденафил, GSK-3772847, левоцетиризин, AXP-1275, ADC-3680, тимапипрант, абедитерол, AZD-7594, бромид ипратропия, сульфат салбутамола, тадекиниг альфа, ACT-774312, дорназа альфа, илопрост, батифентерол, фураат флутиказона, аликафорсен, циклезонид, эмерамид, арформотерол, SB-010, озагрел, BTT-1023, дектрекумаб, левалбутерол, пранлукаст, гиалуриновая кислота, GSK-2292767, формотерол, NOV-14, луцинактант, салбутамол, преднизолон, эбастин, ципецилат дексаметазона, GSK-2586881, BI-443651, GSK-2256294, VR-179, VR-096, hdm-ASIT+, будезонид, GSK-2245035, VTX-1463, эмедастин, декспраимипексол, левалбутерол, N-6022, фосфат натрия дексаметазона, PIN-201104, ОРК-0018, TEV-48107, суплатаст, BI-1060469, гемилукаст, интерферон гамма, далазатид, биластин, пропионат флутиказона, ксинафоат сальметерола, RP-3128, бромид бенциклоквида, реслизумаб, PBF-680, CRTN2 антагонист, пранлукаст, ксинафоат салметреола, пропионат флутиказона, моногидрат бромиды тиотропия, мазилукаст, RG-7990, доксофиллин, абедитерол, бромид гликопиррония, TEV-4 6017, ASM-024, пропионат флутиказона, бромид гликопиррония, ксинафоат салметерола, салбутамол, TA-270, флунизо-

лид, хромогликат натрия, эпсигам, ZPL-521, салбутамол, авиптадил, TRN-157, зафирлукаст, стемпеуцел, пемироласт натрия, надолол, пропионат флутиказона+ксинафоат салметерола, RV-1729, сульфат салбутамола, диоксид углерода+перфтороктилбромид, APL-1, дектрекумаб+VAK-694, лизинацетилсалицилат, зилеутон, TR-4, клеточная терапия на основе мезенхимальных клеток-предшественников из человеческой аллогенной адипозной ткани, MEDI-9314, PL-3994, HMP-301, TD-5471, NKTT-120, пемироласт, дипропионат беклометазона, трантинтерол, альфа луминол моносодия, IMD-1041, AM-211, TBS-5, ARRY-502, сератродаст, рекомбинантная мидисмаза, ASM-8, дефлазакорт, бамбутерол, RBx-10017609, ипротропий+фенотерол, флутиказон+формотерол, эпинастин, WIN-901X, VALERGEN-DS, олигоб-COPD-5/20, тулобутерол, оксис турбухалер, DSP-3025, ASM-024, мизоластин, будезонид+салметерол, LH-011, AXP-E, гистаминовый человеческий иммуноглобулин, YHD-001, теофиллин, амброксол+эрдостеин, раматробан, монтелукаст, пранлукаст, AG-1321001, тулобутерол, ипротропии+салбутамол, триналаст, сулептанат метилпреднизолона, даропат колфорсина, репиринаст и доксофуллин.

Настоящее изобретение также относится к фармацевтической композиции, содержащей соединение настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемую соль и один или более других терапевтических агентов. Терапевтический агент можно выбрать из класса агентов, указанного выше, и из списка конкретного агента, описанного выше. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция является пригодной для доставки в легкие. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция является пригодной для ингаляционного или распыленного введения. В некоторых вариантах фармацевтическая композиция представляет собой сухой порошок или жидкую композицию.

Кроме того, в аспекте способа, настоящее изобретение относится к способу лечения заболевания или расстройства у млекопитающего, включающему введение млекопитающему соединения настоящего изобретения или его фармацевтически приемлемой соли и одного или более других терапевтических агентов.

При применении в комбинированной терапии агенты можно формулировать в одной фармацевтической композиции, или агенты можно обеспечивать в отдельных композициях, которые вводят одновременно или в разное время, одним и тем же или разными способами введения. Данные композиции можно упаковывать отдельно или можно упаковывать вместе в виде набора. Два или более терапевтических агента в наборе можно вводить одним и тем же путем введения или разными путями введения.

Продемонстрировано, что соединения настоящего изобретения являются эффективными ингибиторами ферментов JAK1, JAK2, JAK3 и TYK2 в анализах на связывание ферментов, обладают эффективной функциональной активностью без цитотоксичности в клеточных анализах и проявляют фармакодинамические эффекты JAK ингибирования в предклинических моделях, как описано в следующих примерах.

Примеры

Следующие синтетические и биологические примеры приведены для иллюстрации настоящего изобретения, и не следует интерпретировать их любым способом как ограничивающие объем настоящего изобретения. В примерах ниже следующие сокращения имеют следующие значения, если не указано иначе. Сокращения, не определенные ниже, имеют их общепринятые значения.

ACN=ацетонитрил

DCM=дихлорметан

DIPEA=*N,N*-диизопропилэтиламин

DMF=*N,N*-диметилформамид

EtOAc=этилацетат

h=час (часы)

HATU= *N,N,N',N'*-тетраметил-*O*-(7-азабензотриазол-1-ил) урония

гексафторфосфат

IPA= изопропиловый спирт

IPAc=изопропилацетат

MeOH= метанол

min=минута (минут)

Pd(PPh₃)₄=тетраakis (трифенилфосфин) палладий (0)

RT=комнатная температура

TFA=трифторуксусная кислота

THF=тетрагидрофуран

бис (пинаколато) дибор= 4, 4', 5, 5', 4'', 4'', 5'', 5'' октаметил-

[2, 2'] би [1, 3, 2] диоксабороланил]

Реагенты и растворители приобретали у коммерческих поставщиков (Aldrich, Fluka, Sigma, etc.) и применяли без дополнительной очистки. Протекание реакции контролировали тонкослойной хроматографией (ТСХ), аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографией (аналитической

ВЭЖХ) и масс-спектрометрией. Реакционные смеси обрабатывали, как описано конкретно в каждой реакции; обычно их очищали экстракцией и другими способами очистки, такими как кристаллизация, зависящая от температуры и растворителя, и осаждение. Кроме того, реакционные смеси обычно очищали колоночной хроматографией или препаративной ВЭЖХ, обычно применяя колонки C18 или BDS и обычные элюенты. Типичные условия препаративной ВЭЖХ описаны ниже.

Характеризацию продуктов реакции обычно проводили масс и ^1H -ЯМР спектрометрией. Для ЯМР анализа, образцы растворяли в дейтерированном растворителе (таком как CD_3OD , CDCl_3 или d_6 -DMSO), и ^1H -ЯМР спектры регистрировали на Varian Gemini 2000 приборе (400 МГц) в стандартных условиях наблюдения. Масс-спектрометрическое определение проводили способом ионизации в электроспрее (ESMS) Applied Biosystems (Foster City, CA) прибором модели API 150 EX или Waters (Milford, MA) 3100 прибором, соединенным с системой автоматической очистки.

Условия препаративной ВЭЖХ:

колонка C18, 5 мкм 21,2×150 мм, или C18, 5 мкм 21×250, или C14, 5 мкм 21×150 мм;

температура колонки: комнатная температура;

скорость потока 20,0 мл/мин;

подвижные фазы: А=вода+0,05% TFA,

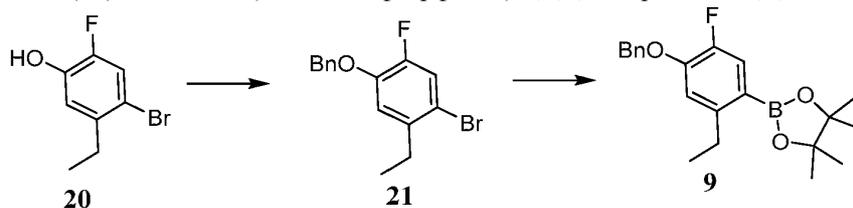
В=ACN+0,05% TFA;

вводимый объем 100-1500 мкл;

длина волны детектора 214 нм.

Неочищенные соединения растворяли в 1:1 вода:уксусная кислота при приблизительно 50 мг/мл. Четырехминутный аналитический пробный прогон осуществляли, применяя 2,1×50 мм C18 колонку, с последующим 15- или 20-минутным препаративным прогоном, применяя 100 мкл инъекцию с градиентом на основе % В удерживания аналитического пробного прогона. Точные градиенты зависели от образцов. Образцы с близко идущими примесями проверяли на 21×250 мм C18 колонке и/или 21×150 мм C14 колонке для наилучшего разделения. Фракции, содержащие требуемый продукт, идентифицировали масс-спектрометрическим анализом.

Получение 1. 2-(4-(Бензиолокси)-2-этил-5-фторфенил)-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (9).



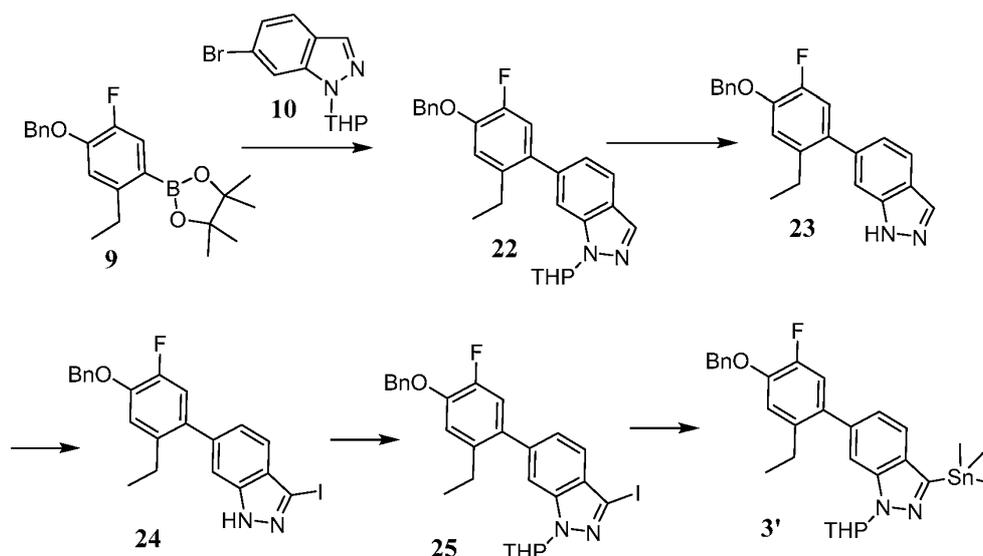
(а) 1-(Бензиолокси)-4-бром-5-этил-2-фторбензол (21).

К раствору 4-бром-5-этил-2-фторфенола (20) (20 г, 91,032 ммоль) в ACN (250 мл) добавляли K_2CO_3 (31,55 г, 228,3 ммоль), с последующим добавлением бензилоксида (13,10 мл, 109,58 ммоль) по каплям. Полученную в результате реакцию смесь перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Водный слой экстрагировали EtOAc (три раза), объединяли и промывали соляным раствором. Органический слой сушили над Na_2SO_4 и упаривали при пониженном давлении, получая заявленное в заголовке промежуточное соединение в виде бледно-желтой маслянистой жидкости (25 г, 8 9% выход). ^1H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 7,48-7,30 (м, 5H), 7,27 (д, $J=10,5$ Гц, 1H), 6,87 (д, $J=8,7$ Гц, 1H), 5,12 (с, 2H), 2,66 (кв, $J=7,5$ Гц, 2H), 1,16 (т, $J=7,5$ Гц, 3H).

(б) 2-(4-(Бензиолокси)-2-этил-5-фторфенил)-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан (9).

К раствору продукта предшествующей стадии (21) (12,5 г, 40,45 ммоль) в диоксане (100 мл) добавляли бис(пинаколато)дибор (15,40 г, 60,67 ммоль) и KOAc (11,9 г, 121,35 ммоль). Реакционную смесь продували азотом в течение 15 мин, с последующим добавлением [1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен]дихлорпалладия(II), комплекс с дихлорметаном (1,65 г, 2,023 ммоль). Полученную в результате реакцию смесь перемешивали и нагревали при 110°C в течение 3 ч, фильтровали через целит, и остаток промывали EtOAc. Фильтрат разбавляли избытком EtOAc (200 мл) и промывали водой (100 мл), с последующим соляным раствором (100 мл), сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме, получая неочищенный продукт, который очищали колоночной хроматографией на (100-200) силикагеле, элюируя 3-5% EtOAc:гексан, получая требуемый продукт в виде грязно-белого твердого остатка (9,50 г, 66% выход). ^1H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 7,54-7,27 (м, 6H), 6,81 (д, $J=7,9$ Гц, 1H), 5,16 (с, 2H), 2,84 (кв, $J=7,5$ Гц, 2H), 1,32 (с, 12H), 1,14 (т, $J=7,5$ Гц, 3H).

Получение 2. 6-(4-(Бензиолокси)-2-этил-5-фторфенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-3-(триметилстаннил)-1H-индазола (3').



(а) 6-(4-(Бензиолокси)-2-этил-5-фторфенил)-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол (22).

К раствору 6-бром-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазола (10) (50 г, 178,57 ммоль) и 2-(4-(бензиолокси)-2-этил-5-фторфенил)-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолана (9) (76,3 г, 214,29 ммоль) в DMF:H₂O (480:120 мл) добавляли K₃PO₄ (94,64 г, 446,86 ммоль). Реакционную смесь дегазировали азотом в течение 15 мин, затем добавляли Pd(PPh₃)₂Cl₂ катализатор (6,26 г, 8,93 ммоль), смесь снова дегазировали азотом в течение 5 мин при перемешивании и нагревали при 100-110°C в течение 5 ч. Реакционную смесь фильтровали через целит, и остаток промывали EtOAc. Фильтрат разбавляли EtOAc, промывали холодной водой и соляным раствором, сушили над сульфатом натрия и концентрировали в вакууме, получая неочищенный продукт, который очищали колоночной флэш-хроматографией, получая заявленное в заголовке промежуточное соединение в виде белого твердого остатка (65 г, 86% выход). (m/z): [M+H]⁺ рассчитан для C₂₇H₂₇FN₂O₂ 431,21 найдено 431,46. ¹H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 8,06-7,98 (м, 2H), 7,70 (д, J=8,2 Гц, 1H), 7,51-7,32 (м, 5H), 7,08 (дд, J=809,6, 8,3 Гц, 1H), 7,03 (д, J=11,9 Гц, 1H), 6,95 (д, J=8,5 Гц, 1H), 5,76-5,64 (м, 1H), 5,20 (с, 2H), 4,04 (д, J=10,1 Гц, 1H), 3,72 (т, J=9,7 Гц, 1H), 2,52 (кв, J=7,5 Гц, 2H), 2,22-2,02 (м, 3H), 1,80-1,71 (м, 3H), 1,06 (т, J=7,5 Гц, 3H).

(б) 6-(4-(Бензиолокси)-2-этил-5-фторфенил)-1Н-индазол (23).

К раствору продукта предшествующей стадии (22) (65 г, 151,16 ммоль) в метаноле (700 мл) добавляли конц. HCl (120 мл), и полученную в результате смесь нагревали при 60-65°C в течение 3 ч, охлаждали до комнатной температуры и концентрировали в вакууме. Остаток растворяли в EtOAc и промывали насыщенным NaHCO₃ водным раствором и водой. Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали в вакууме, получая заявленное в заголовке промежуточное соединение в виде белого твердого остатка (52 г, 99% (неочищенный)). ¹H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 8,13 (с, 1H), 7,77 (д, J=8,3 Гц, 1H), 7,59-7,30 (м, 6H), 7,10 (д, J=8,3 Гц, 1H), 7,01 (д, J=11,8 Гц, 1H), 6,96 (д, J=8,4 Гц, 1H), 5,21 (с, 2H), 2,53 (кв, J=7,5 Гц, 2H), 1,05 (т, J=7,5 Гц, 3H).

(с) 6-(4-(Бензиолокси)-2-этил-5-фторфенил)-3-йод-1Н-индазол (24).

К раствору 6-(4-(бензиолокси)-2-этил-5-фторфенил)-1Н-индазола (23) (56 г, 161,18 ммоль) в DMF (400 мл) добавляли KOH (36,2 г, 647,39 ммоль), и смесь перемешивали в течение 5 мин. Раствор йода (82,2 г, 323,69 ммоль) в DMF (100 мл) добавляли медленно при 0°C и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, разбавляли водой (3×150 мл) и экстрагировали EtOAc (3×200 мл). Органический слой промывали насыщенным водным раствором метабисульфата натрия (3×200 мл) и водой (400 мл), сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали при пониженном давлении, получая неочищенный продукт, который очищали колоночной флэш-хроматографией, получая заявленное в заголовке промежуточное соединение в виде коричневатого полутвердого остатка (64 г, 84% выход). ¹H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 10,49 (с, 1H), 7,57-7,32 (м, 7H), 7,16 (д, J=8,3 Гц, 1H), 7,04-6,91 (м, 2H), 5,20 (с, 2H), 2,51 (кв, J=7,4 Гц, 2H), 1,04 (т, J=7,5 Гц, 3H).

(д) 6-(4-(Бензиолокси)-2-этил-5-фторфенил)-3-йод-1-(тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)-1Н-индазол (25)

К охлажденному на льду раствору продукта предшествующей стадии (24) (60 г, 127,12 ммоль) в DCM (700 мл) добавляли п-толуолсульфокислоту (4,84 г, 25,423 ммоль) с последующим добавлением 3,4-дигидро-2Н-пирана (17,43 мл, 190,68 ммоль) по каплям. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, разбавляли DCM и промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃ и соляным раствором. Органический слой сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали при пониженном давлении, получая неочищенный продукт, который очищали флэш-хроматографией (силикагель), получая заявленное в заголовке промежуточное соединение в виде грязно-белого твердого остатка

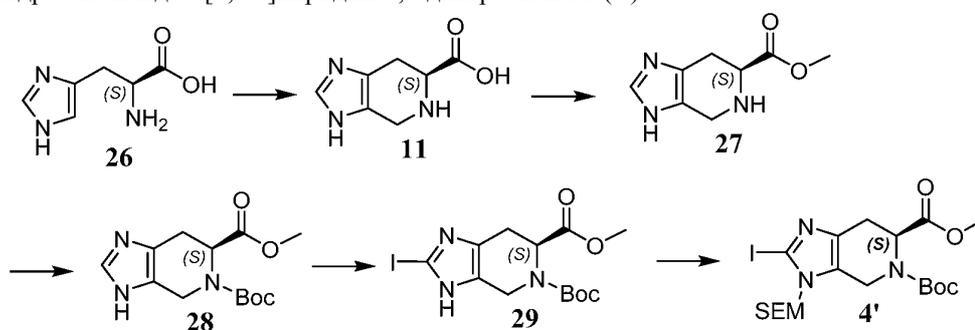
(64 г, 91% выход). (m/z): $[M+H]^+$ рассчитан для $C_{27}H_{26}FIN_2O_2$ 557,10 найдено 557,30. 1H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 7,56-7,31 (м, 7H), 7,14 (д, J=8,3 Гц, 1H), 7,01 (д, J=11,8 Гц, 1H), 6,95 (д, J=8,5 Гц, 1H), 5,68 (д, J=9,3 Гц, 1H), 5,20 (с, 2H), 4,08-3,99 (м, 1H), 3,77-3,64 (м, 1H), 2,50 (кв, J=7,2 Гц, 2H), 2,23-1,97 (м, 3H), 1,81-1,68 (м, 3H), 1,06 (т, J=7,4 Гц, 3H).

(е) 6-(4-(Бензиолокси)-2-этил-5-фторфенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-3-(триметилстаннил)-1H-индазол (3').

К раствору 6-(4-(бензиолокси)-2-этил-5-фторфенил)-3-йод-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазола (25) (20 г, 35,97 ммоль) в толуоле (150 мл) добавляли гексаметилдиолово (9,2 мл, 43,17 ммоль). Реакционную смесь дегазировали азотом в течение 20 мин с последующим добавлением тетракис (2,0 г, 1,80 ммоль) и затем перемешивали при 100°C в течение 2 ч, охлаждали до комнатной температуры, фильтровали через целит и остаток промывали EtOAc. Фильтрат концентрировали и очищали колоночной хроматографией (над нейтральным оксидом алюминия), элюируя 2-5%. EtOAc:гексан, получая заявленное в заголовке соединение (17,50 г, 82% выход). (m/z): $[M+H]^+$ рассчитан для $C_{27}H_{26}FIN_2O_2$ 557,10 найдено 557,30.

(m/z): $[M+H]^+$ рассчитан для $C_{30}H_{35}FN_2O_2Sn$ 595,17, 593,17 найдено 595,49, 593,55. 1H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 7,68 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,57-7,29 (м, 6H), 7,13-7,00 (м, 2H), 6,96 (д, J=8,4 Гц, 1H), 5,81-5,68 (м, 1H), 5,21 (с, 2H), 4,13-4,00 (м, 1H), 3,81-3,66 (м, 1H), 2,54 (кв, J=7,3 Гц, 2H), 2,23-2,00 (м, 2H), 1,87-1,59 (м, 4H), 1,08 (т, J=7,5 Гц, 3H), 0,47 (с, 9H).

Получение 3. 5-(Трет-бутил) 6-метил (S)-2-йод-3-((2-триметилсилил)этокси)метил-3,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5,6-дикарбоксилат (4').



(а) (S)-4,5,6,7-Тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновая кислота (11).

К перемешиваемой суспензии L-гистидина (26) (50 г, 322,24 ммоль) в воде (420 мл) добавляли конц. HCl (29 мл) по каплям при 0°C, с последующим добавлением формальдегида (55 мл, 676,72 ммоль) одной порцией при 0°C. Полученную в результате реакцию смесь перемешивали в течение 30 мин, и затем нагревали при 75°C в течение 6 ч и концентрировали. Полученный в результате неочищенный остаток перемешивали в течение 2 ч с диэтиловым эфиром, фильтровали и промывали IPA:THF (100:300 мл), получая HCl соль заявленного в заголовке промежуточного соединения в виде грязно-белого твердого остатка (75 г, 99% выход (неочищенный)). (m/z): $[M+H]^+$ рассчитан для $C_7H_9N_3O_2$ 168,07 найдено 168,17.

(б) Метил (S)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоксилат (27).

К перемешиваемому раствору продукта предшествующей стадии (11) (75,0 г, 312,5 ммоль) в метаноле (1500 мл) добавляли $SOCl_2$ (45,6 мл, 625 ммоль) по каплям при 0°C и перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч, затем кипятили с обратным холодильником (70°C) в течение 1 ч. Растворитель удаляли перегонкой и неочищенный продукт растирали с метанолом, с последующим растиранием с диэтиловым эфиром, получая неочищенную HCl соль заявленного в заголовке промежуточного соединения в виде грязно-белого твердого остатка (80 г, неочищенный). 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 9,05 (с, 1H), 4,71 (дд, J=9,4, 5,2 Гц, 1H), 4,36 (д, J=15,5 Гц, 1H), 4,30 (д, J=15, 6 Гц, 1H), 3,82 (с, 3H), 3,44-3,21 (м, 2H).

(с) 5-(трет-Бутил) 6-метил (S)-3,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5,6-дикарбоксилат (28).

К перемешиваемому раствору продукта предшествующей стадии (27) (80,0 г, 314,96 ммоль) в метаноле (1000 мл) добавляли DIPEA (282 мл, 1574 ммоль), с последующим добавлением ди-трет-бутил дикарбоната (172 мл, 787,48 ммоль) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч, и затем добавляли жидкий NH_3 (150 мл, 25% в воде) и реакцию смесь перемешивали снова в течение 16 ч при комнатной температуре, метанол удаляли отгонкой и остаток экстрагировали в DCM (3×200 мл). Объединенные органические экстракты сушили над безводным Na_2SO_4 , концентрировали и очищали флэш-хроматографией (100-200 мэш силикагель), элюируя 5% MeOH:DCM, получая заявленное в заголовке промежуточное соединение (41 г, 46% выход). (m/z): $[M+H]^+$ рассчитан для $C_{13}H_{19}O_4$ 282,14 найдено 282,21. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 11,85 (с, 1H), 7,50 (с, 1H), 5,18 (дд, J=49,3, 5,1 Гц, 1H), 4,51 (т, J=14,2 Гц, 1H), 4,09 (дд, J=43,9, 16,1 Гц, 1H), 3,59 (с, 3H), 3,08 (д, J=15,5 Гц, 1H), 2,94 (д, J=15, 1 Гц, 1H), 1,45 (с, 9H).

(д) 5-(трет-Бутил) 6-метил (S)-2-йод-3,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5,6-дикарбоксилат (29).

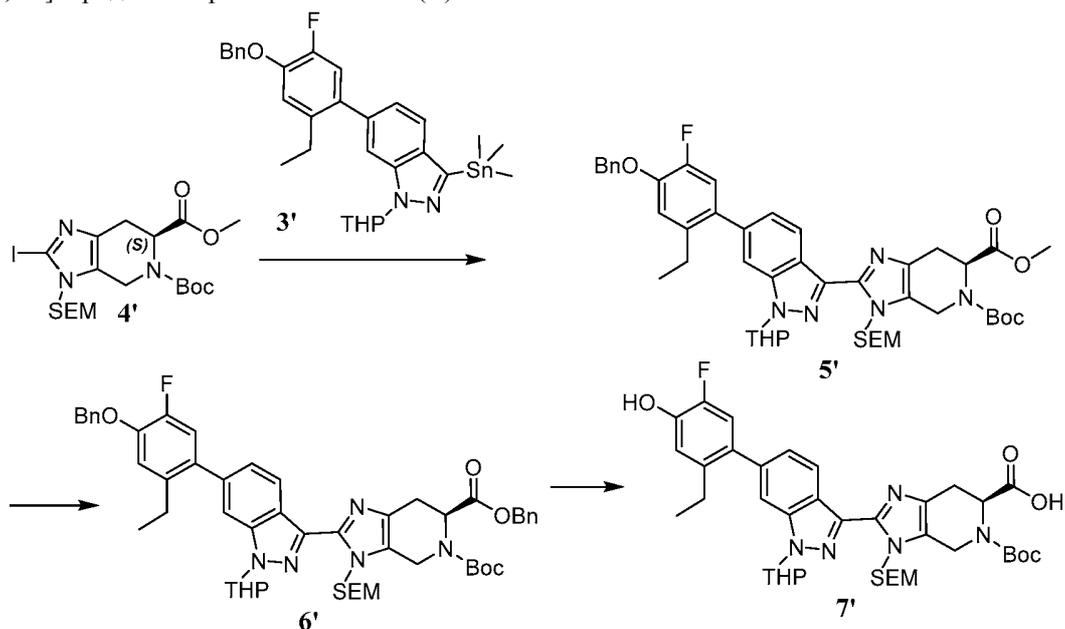
К раствору продукта предшествующей стадии (29) (41,0 г, 14 5,9 ммоль) в THF (500 мл) добавляли N-йодсукцинимид (66,0 г, 291,8 ммоль) при 0°C, и полученную в результате смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч, разбавляли водой и экстрагировали этилацетат. Органическую часть промывали 10% раствором тиосульфата натрия (3×200 мл). Объединенный органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, и концентрировали, получая заявленное в заголовке соединение 60 г (неочищенный), которое применяли на следующей стадии без дополнительной очистки. (m/z): [M+H]⁺ рассчитан для C₁₃H₁₈IN₃O₄ 408,03 найдено 408,31. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,48 (с, 1H), 5,34-4,97 (м, 1H), 4,67-4,35 (м, 1H), 4,12-3,95 (м, 1H), 3,60 (с, 3H), 3,14-2,82 (м, 2H), 1,44 (с, 9H).

(е) 5-(трет-Бутил) 6-метил (S)-2-йод-3-((2-триметилсилил)этокс)метил-3,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5,6-дикарбоксилат (4').

К перемешиваемому раствору 5-(трет-бутил) 6-метил (S)-2-йод-3,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5,6-дикарбоксилата (29) (40 г, 0,098 моль) в DMF (150 мл) добавляли DIPEA (35,1 мл, 0,19 моль) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 10 мин, затем добавляли 2-(триметилсилил)этоксиметилхлорид (19,1 мл, 0,10 моль) по каплям при 0°C. Полученную в результате реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч при комнатной температуре. После 4 ч добавляли охлажденную воду, и реакционную смесь экстрагировали EtOAc (2×200 мл). Органический слой сушили над безводным сульфатом натрия, концентрировали, и очищали колоночной флэш-хроматографией, элюируя 20-35% EtOAc:гексан, получая заявленный в заголовке продукт в виде бледно-желтой вязкой жидкости (27 г).

(m/z) : [M+H]⁺ рассчитан для C₁₉H₃₂IN₃O₅Si 538,12 найдено 538,42. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 5,33-5,04 (м, 3H), 4,79-4,56 (м, 1H), 4,54-4,14 (м, 1H), 3,60 (с, 3H), 3,47 (т, J=7,8 Гц, 2H), 3,31-3,16 (м, 1H), 2,97 (т, J=18,9 Гц, 1H), 1,44 (с, 9H), 0,92-0,74 (м, 2H), -0,03 (с, 9H).

Получение 4. (6S)-5-(трет-бутоксикарбонил)-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-3-ил)-3-((2-триметилсилил)этокс)метил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновая кислота (7').



(а) 5-(трет-Бутил) 6-метил (6S) -2-(6-(4-(бензилокси)-2-этил-5-фторфенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-3-ил)-3-((2-триметилсилил)этокс)метил-3,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5,6-дикарбоксилат (5').

К перемешиваемому раствору 5-(трет-бутил) 6-метил (S)-2-йод-3-((2-триметилсилил)этокс)метил-3,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5,6-дикарбоксилата (4') (17,0 г, 31,65 ммоль) в толуоле (500 мл) добавляли 6-(4-(бензилокси)-2-этил-5-фторфенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-3-(триметилстаннил)-1H-индазол (3') (20 г, 34,82 ммоль). Реакционную смесь продували аргоном в течение 15 мин, добавляли Pd(PPh₃)₄ (3,6 г, 3,16 ммоль) и йодид меди (1,20 г, 6,33 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при 120°C в течение 16 ч. Реакционную смесь фильтровали через целит, фильтрат концентрировали при пониженном давлении и очищали колоночной хроматографией на силикагеле (Redisep 80 г колонка, элюируя DCM в течение 10 мин, и затем 15-20% EtOAc в гексане, получая заявленное в заголовке промежуточное соединение в виде желтого твердого остатка (15,10 г, 58% выход). (m/z): [M+H]⁺ рассчитан для C₄₆H₅₈FN₅O₇Si 840,41 найдено 840,54. ¹H ЯМР (400 МГц, хлороформ-d) δ 8,43 (с, 1H), 7,54-7,33 (м, 6H), 7,20 (с, 1H), 7,05 (д, J=11,4 Гц, 1H), 6,95 (д, J=8,5 Гц, 1H), 6,09-5,69 (м, 3H), 5,59-5,36 (м, 1H), 5,20 (с, 2H), 4,97-4,80 (м, 1H), 4,12-3,90 (м, 1H), 3,68 (с, 3H), 3,57-3,47 (м, 2H), 3,40 (д, 1H),

3,21-3,05 (м, 1H), 2,74-2,34 (м, 4H), 2,25-2,07 (м, 2H), 1,94-1,65 (м, 4H), 1,54 (с, 9H), 1,12-0,99 (м, 3H), 0,91-0,75 (м, 2H), -0,12 (с, 9H).

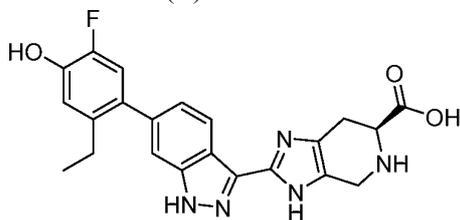
(b) 6-Бензил 5-(трет-бутил) (6S)-2-(6-(4-(бензилокси)-2-этил-5-фторфенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-3-ил)-3-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-3,4,6,7-тетрагидро-5H-имидазо[4,5-с]пиридин-5,6-дикарбоксилат (6').

В круглодонную колбу добавляли продукт предшествующей стадии (5') (15,0 г, 17,85 ммоль) в толуоле (400 мл), бензиловый спирт (46,3 мл) и $Ti(OEt)_4$ (7,15 мл, 35,70 ммоль), и реакционную смесь энергично кипятили с обратным холодильником (140°C) в течение 48 ч, разбавляли водой и экстрагировали DCM. Суспензию фильтровали, фильтрат сушили над Na_2SO_4 , концентрировали при пониженном давлении и очищали колоночной хроматографией на силикагеле (Redisep 80 г колонка, 0-5% EtOAc в гексане) в течение 20 мин, удаляя избыток бензилового спирта, затем элюируя 10-15% EtOAc в гексане), получая заявленное в заголовке промежуточное соединение. 1H ЯМР соответствовал структуре, (m/z): $[M+H]^+$ рассчитан для $C_{52}H_{62}FN_5O_7Si$ 916,44 найдено 916,86.

(c) (6S)-5-(трет-бутоксикарбонил)-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-3-ил)-3-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновая кислота (7').

К перемешиваемому раствору продукта предшествующей стадии (6') (21,0 г, 22,92 ммоль) в 1:1 IPA:THF (400 мл) добавляли $Pd(OH)_2$ (5,0 г). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч в атмосфере баллона с водородом, фильтровали через целит, концентрировали при пониженном давлении и очищали колоночной хроматографией на силикагеле (Redisep 80 г колонка, элюируя 25-40% EtOAc в гексане), получая заявленное в заголовке соединение (6,1 г, 8,29 ммоль) в виде грязно-белого твердого остатка. (m/z): $[M+H]^+$ рассчитан для $C_{38}H_{50}FN_5O_7Si$ 736,35 найдено 736,5. 1H ЯМР соответствовал структуре, (m/z): $[M+H]^+$ рассчитан для $C_{38}H_{50}FN_5O_7Si$ 736,35 найдено 736,5. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6) δ 12,94 (с, 1H), 9,86 (с, 1H), 8,34 (т, J=7,6 Гц, 1H), 7,66 (с, 1H), 7,20 (д, J=8,7 Гц, 1H), 7,03 (д, J=11,8 Гц, 1H), 6,93 (д, J=9, 1 Гц, 1H), 6,11-5,77 (м, 3H), 5,33-5,06 (м, 1H), 4,87-4,56 (м, 1H), 4,52-4,14 (м, 1H), 3,97-3,69 (м, 2H), 3,53-3,40 (м, 2H), 3,23-3,11 (м, 1H), 3,11-2,93 (м, 1H), 2,47-2,44 (м, 2H), 2,13-1,96 (м, 2H), 1,68 (д, J=70,9 Гц, 4H), 1,48 (с, 9H), 1,02 (т, J=7,5 Гц, 3H), 0,86-0,68 (м, 2H), -0,17 (с, 9H).

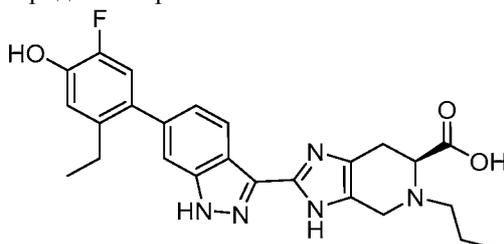
Получение 5. (S)-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновая кислота (8').



8'

К перемешиваемому раствору (6S)-5-(трет-бутоксикарбонил)-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1-(тетрагидро-2H-пиран-2-ил)-1H-индазол-3-ил)-3-((2-(триметилсилил)этокси)метил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновой кислоты (7') (5,7 г, 7,75 ммоль) в 5:1 диоксан:вода (60 мл) добавляли конц. HCl (20 мл) по каплям при 0°C. Реакционную смесь нагревали и перемешивали при 90°C в течение 16 ч и упаривали в вакууме, получая неочищенный остаток, который затем растирали с охлажденным диэтиловым эфиром и ацетонитрилом, получая HCl соль заявленного в заголовке соединения (3,6 г, 95% выход) в виде светло-коричневого твердого остатка, (m/z): $[M+H]^+$ рассчитан для $C_{22}H_{20}FN_5O_3$ 422,16 найдено 422,24. 1H ЯМР (400 МГц, D $_2$ O/DMSO- d_6) δ 8,22 (д, J=8,4 Гц, 1H), 7,49 (с, 1H), 7,19 (д, J=8,1 Гц, 1H), 6,99 (д, J=11,9 Гц, 1H), 6,91 (д, J=9,0 Гц, 1H), 4,56-4,51 (м, 1H), 4,36 (д, J=15,5 Гц, 1H), 4,30 (д, J=15,5 Гц, 1H), 3,35-3,25 (м, 1H), 3,15-3,05 (м, 1H), 2,4-2,55 (м, 2H), 0,97 (т, J=7,5 Гц, 3H).

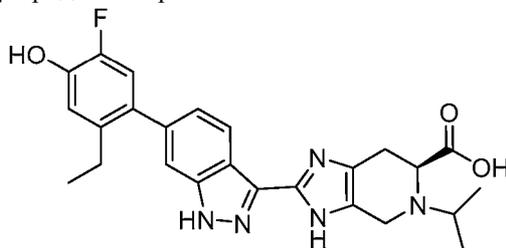
Получение 6. (S)-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-пропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновая кислота.



К раствору (S)-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-

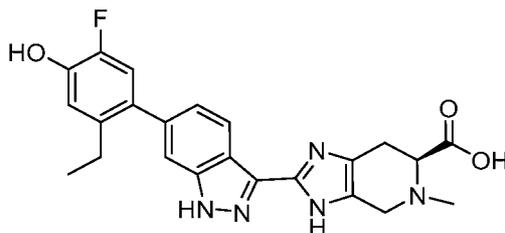
имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновой кислоты, HCl (400 мг, 0,874 ммоль) (8') и пропиональдегида (0,095 мл, 1,310 ммоль) в DMF (7 мл), добавляли цианоборгидрид натрия (165 мг, 2,62 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли боргидрид натрия (33 мг, 0,874 ммоль), раствор концентрировали и очищали препаративной ВЭЖХ, получая TFA соль заявленного в заголовке соединения (179 мг, 37% выход). (m/z): [M+H]⁺ рассчитан для C₂₅H₂₆FN₅O₃ 464,20 найдено 464,5.

Получение 7. (S)-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-изопропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновая кислота.



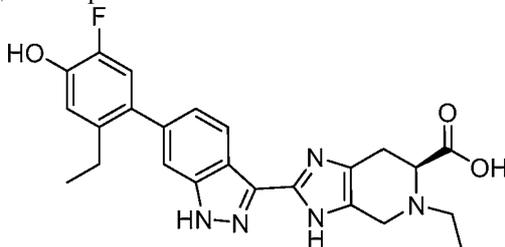
К раствору (S)-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновой кислоты, HCl (8') (400 мг, 0,874 ммоль), ацетону (0,192 мл, 2,62 ммоль) и уксусной кислоте (0,150 мл, 2,62 ммоль) в DMF (7 мл) добавляли цианоборгидрид натрия (274 мг, 4,37 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли боргидрид натрия (33 мг, 0,874 ммоль), раствор концентрировали и очищали препаративной ВЭЖХ, получая TFA соль заявленного в заголовке соединения (115 мг, 23% выход). (m/z): [M+H]⁺ рассчитан для C₂₅H₂₆FN₅O₃ 464,20 найдено 464,5.

Получение 8. (S)-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-метил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновая кислота.



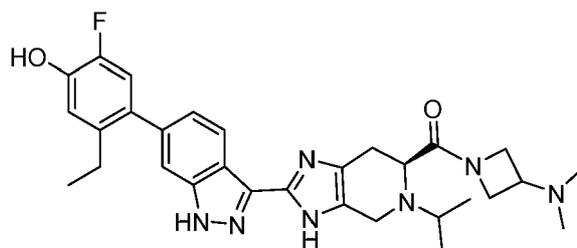
К раствору (S)-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновой кислоты, HCl (8') (300 мг, 0,655 ммоль) и 37% по весу формальдегида в воде (0,059 мл, 0,786 ммоль) в DMF (5 мл), добавляли цианоборгидрид натрия (165 мг, 2,62 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли боргидрид натрия 25 мг, 0,655 ммоль, раствор концентрировали и очищали флэш-хроматографией (100 г колонка, 5-75% ACN/вода), получая TFA соль заявленного в заголовке соединения (85 мг, 24% выход). (m/z): [M+H]⁺ рассчитан для C₂₃H₂₂FN₅O₃ 436,17, найдено 436,45.

Получение 9. (S)-5-этил-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновая кислота.



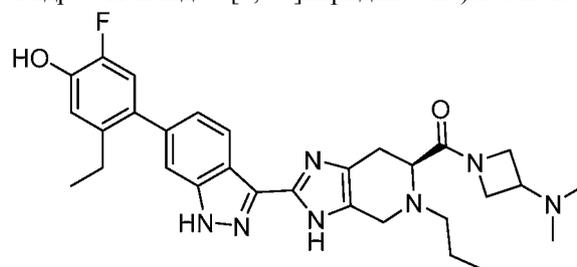
К раствору (S)-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновой кислоты, HCl (8') (450 мг, 0,983 ммоль) и ацетальдегида (0,083 мл, 1,474 ммоль) в DMF (7 мл) добавляли цианоборгидрид натрия (247 мг, 3,93 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли боргидрид натрия (112 мг, 2,95 ммоль), раствор концентрировали, растворяли в 1:1 уксусная кислота:вода+300 мкл TFA (7 мл) и очищали флэш-хроматографией (100 г колонка, 5-65% ACN/вода), получая TFA соль заявленного в заголовке соединения (165 мг, 0,293 ммоль, 30% выход). (m/z): [M+H]⁺ рассчитан для C₂₄H₂₄FN₅O₃ 450,19 найдено 450.

Пример 2. (S)-(3-(диметиламино)азетидин-1-ил)(2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-изопропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанон.



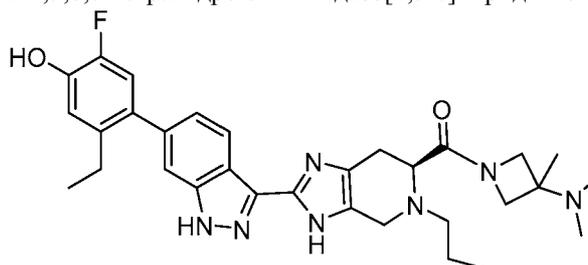
К раствору (S)-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-пропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновой кислоты, TFA (179 мг, 0,310 ммоль), N,N-диметилазетидин-3-амина, 2 HCl (107 мг, 0,465 ммоль) и DIPEA (0,162 мл, 0,930 ммоль) в DMF (4 мл) добавляли HATU (177 мг, 0,465 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли гидразин (5 экв.), реакционную смесь концентрировали и очищали препаративной ВЭЖХ, получая TFA заявленного в заголовке соединения (63 мг, 26% выход). (m/z): [M+H]⁺ рассчитан для C₃₀H₃₆FN₇O₂ 546,29 найдено 546,7. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 9,90 (с, 1H), 8,29 (дд, 1H), 7,34 (с, 1H), 7,07 (д, 1H), 7,01 (д, 1H), 6,89 (д, 1H), 4,35-4,18 (м, 1H), 4,11-3,94 (м, 1H), 3,94-3,73 (м, 3H), 3,70-3,57 (м, 2H), 3,06-2,94 (м, 2H), 2,87-2,66 (м, 2H), 2,48-2,40 (м, 2H), 2,13-2,00 (м, 6H), 1,07 (т, 3H), 1,03-0,93 (м, 6H).

Пример 4. (S)-(3-(диметиламино)азетидин-1-ил)(2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-пропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанон.



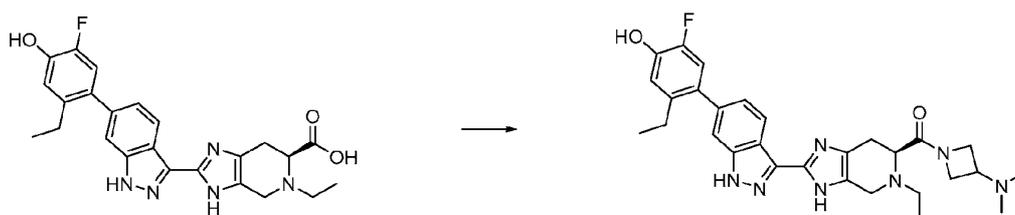
К раствору (S)-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-пропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновой кислоты, TFA (30 мг, 0,052 ммоль), N,N-диметилазетидин-3-амина, 2HCl (27,0 мг, 0,156 ммоль) и DIPEA (0,064 мл, 0,364 ммоль) в DMF (1,5 мл) добавляли HATU (29,6 мг, 0,078 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли гидразин (5 экв.), реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин, концентрировали и очищали препаративной ВЭЖХ, получая TFA соль заявленного в заголовке соединения (29,6 мг, 74% выход). (m/z) : [M+H]⁺ рассчитан для C₃₀H₃₆FN₇O₂ 546,29 найдено 546,6.

Пример 8. (S)-(3-(диметиламино)-3-метилазетидин-1-ил)(2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-пропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанон.



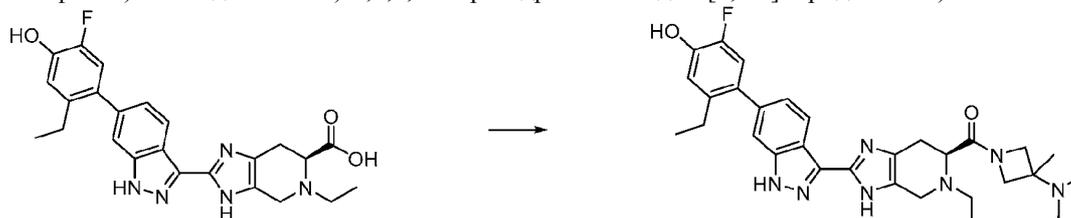
К раствору (S)-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-пропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновой кислоты, TFA (30 мг, 0,052 ммоль), N,N-3-триметилазетидин-3-амина, 2 HCl (29,2 мг, 0,156 ммоль) и DIPEA (0,073 мл, 0,416 ммоль) в DMF (1 мл), добавляли HATU (29,6 мг, 0,078 ммоль), и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли гидразин (5 экв.), реакционную смесь концентрировали и очищали препаративной ВЭЖХ, получая TFA соль заявленного в заголовке соединения (24,7 мг, 60% выход). (m/z): [M+H]⁺ рассчитан для C₃₁H₃₈FN₇O₂ 560,31 найдено 560,2.

Пример 8-22. (S)-(3-(диметиламино)азетидин-1-ил)(5-этил-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанон.



(S)-5-этил-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновую кислоту, TFA (30 мг, 0,053 ммоль), N,N-диметилазетидин-3-амин (16 мг, 0,16 ммоль) и DIPEA (0,037 мл, 0,213 ммоль) растворяли в DMF (1,0 мл), затем добавляли НАТУ (30,4 мг, 0,080 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. Добавляли гидразин (15 мкл), затем раствор концентрировали и очищали препаративной ВЭЖХ, получая TFA соль заявленного в заголовке продукта конденсации (27 мг, 66% выход). (m/z): [M+H]⁺ рассчитан для C₂₉H₃₄FN₇O₂ 532,6, найдено 532,2.

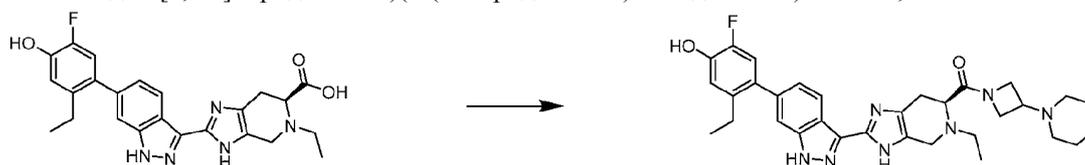
Пример 8-23. (S)-(3-(диметиламино)-3-метилазетидин-1-ил)(5-этил-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанон.



(S)-5-этил-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновую кислоту, TFA (30 мг, 0,053 ммоль), N,N,3-триметилазетидин-3-амин (18 мг, 0,16 ммоль) и DIPEA (0,037 мл, 0,213 ммоль) растворяли в DMF (1,0 мл), затем добавляли НАТУ (30,4 мг, 0,080 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. Добавляли гидразин (15 мкл), затем раствор концентрировали и очищали препаративной ВЭЖХ, получая TFA соль заявленного в заголовке продукта конденсации (28 мг, 68% выход).

(m/z): [M+H]⁺ рассчитан для C₃₀H₃₆FN₇O₂ 546,7, найдено 546,2.

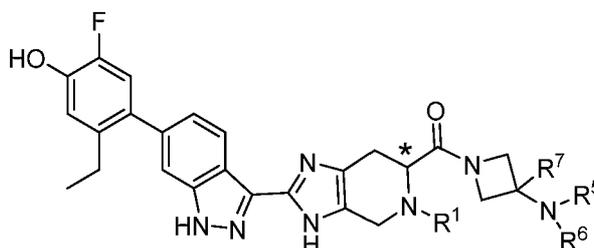
Пример 8-14. (S)-(5-этил-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)(3-(пиперидин-1-ил)азетидин-1-ил)метанон, 2TFA.



(S)-5-этил-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-карбоновую кислоту, TFA (40 мг, 0,071 ммоль), 1-(3-азетидинил)пиперидин (29,9 мг, 0,213 ммоль) и DIPEA (0,050 мл, 0,284 ммоль) растворяли в DMF (1,5 мл), затем добавляли НАТУ (40,5 мг, 0,106 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Добавляли гидразин (0,011 мл, 0,355 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 10 мин. Затем раствор концентрировали, очищали препаративной ВЭЖХ, получая TFA соль заявленного в заголовке соединения (36 мг, 63% выход). (m/z): [M+H]⁺ рассчитан для C₃₂H₃₈FN₇O₂ 572,7 найдено 572,5.

Применяя аналогичные способы получения, получали соединения табл. 1. В следующих таблицах пробел в любом столбце обозначает атом водорода, * в структуре в заголовке таблицы обозначает хиральный центр и обозначение (R) или (S) перед заместителем обозначает конфигурацию атома углерода, к которому присоединен заместитель.

Таблица 1



Прим ер №.	*	R ¹	R ⁵	R ⁶	R ⁷	Формула	рассчи танная [M+H] ⁺	найден ная [M+H] ⁺
8-1		CH ₃	-(CH ₂) ₅ -			C ₃₁ H ₃₆ FN ₇ O ₂	558,29	557,7
8-2		CH ₃	CH ₃	CH ₃		C ₂₈ H ₃₂ FN ₇ O ₂	518,26	517,8
8-3		nPr	CH ₃			C ₃₀ H ₃₆ FN ₇ O ₂	546,29	546,2
8-4		C ₂ H ₅	-(CH ₂) ₅ -			C ₃₂ H ₃₈ FN ₇ O ₂	572,31	571,7
8-5		nPr	-(CH ₂) ₅ -			C ₃₃ H ₄₀ FN ₇ O ₂	586,32	585,7
8-6		iPr	-(CH ₂) ₅ -			C ₃₃ H ₄₀ FN ₇ O ₂	586,32	585,9
8-7		iPr	CH ₃	CH ₃		C ₃₀ H ₃₆ FN ₇ O ₂	546,29	546,2
8-8		C ₂ H ₅	CH ₃	CH ₃		C ₂₉ H ₃₄ FN ₇ O ₂	532,28	532,2
8-9		CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	C ₂₉ H ₃₄ FN ₇ O ₂	532,28	532,2
8-10		C ₂ H ₅	CH ₃	CH ₃	CH ₃	C ₃₀ H ₃₆ FN ₇ O ₂	546,29	546,2
8-11		nPr	CH ₃	CH ₃	CH ₃	C ₃₁ H ₃₈ FN ₇ O ₂	560,31	560,2
8-12		iPr	CH ₃	CH ₃	CH ₃	C ₃₁ H ₃₈ FN ₇ O ₂	560,31	560,3
8-13	(R)	nPr	CH ₃	CH ₃	CH ₃	C ₃₀ H ₃₆ FN ₇ O ₂	546,29	546,5
8-14	(S)	C ₂ H ₅	-(CH ₂) ₅ -			C ₃₂ H ₃₈ FN ₇ O ₂	572,31	572,3
8-15	(R)	C ₂ H ₅	-(CH ₂) ₅ -			C ₃₂ H ₃₈ FN ₇ O ₂	572,31	572,2
8-16	(S)	iPr	CH ₃	CH ₃	CH ₃	C ₃₁ H ₃₈ FN ₇ O ₂	560,31	560,2
8-17	(R)	iPr	CH ₃	CH ₃		C ₃₀ H ₃₆ FN ₇ O ₂	546,29	546,2
8-18	(R)	iPr	CH ₃	CH ₃	CH ₃	C ₃₁ H ₃₈ FN ₇ O ₂	560,31	560,2
8-19	(R)	nPr	CH ₃	CH ₃	CH ₃	C ₃₁ H ₃₈ FN ₇ O ₂	560,31	560,6
8-20	(R)	C ₂ H ₅	CH ₃	CH ₃		C ₂₉ H ₃₄ FN ₇ O ₂	532,28	532,2
8-21	(R)	C ₂ H ₅	CH ₃	CH ₃	CH ₃	C ₃₀ H ₃₆ FN ₇ O ₂	546,29	546,2
8-22	(S)	C ₂ H ₅	CH ₃	CH ₃		C ₂₉ H ₃₄ FN ₇ O ₂	532,28	532,2
8-23	(S)	C ₂ H ₅	CH ₃	CH ₃	CH ₃	C ₃₀ H ₃₆ FN ₇ O ₂	546,29	546,2

Биологические анализы

Соединения настоящего изобретения характеризовали в одном или более из следующих биологических анализов.

Анализ 1: биохимические JAK киназные анализы.

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

Последовательно разбавленные соединения предварительно инкубировали с каждым из четырех JAK ферментов и субстратом в белых 384-луночных микропланшетах (Corning) при температуре окружающей среды в течение 1 ч. Затем добавляли АТФ, вызывая киназные реакции в 10 мкл суммарном объеме, с 1% DMSO. Конечные концентрации фермента для JAK 1, 2, 3 и Tyk2 составляли 4,2 нМ, 0,1 нМ, 1 нМ, и 0,25 нМ соответственно; соответствующие применяемые K_m АТФ концентрации составляли 25 мкМ, 3 мкМ, 1,6 мкМ, и 10 мкМ; тогда как концентрация субстрата составляла 200 нМ для всех четырех анализов. Киназные реакции проводили в течение 1 ч при температуре окружающей среды до добавления 10 мкл препарата EDTA (конечная концентрация 10 мМ) и Tb-анти-pSTAT1 (pTyk701) антитела (Life Technologies, 2 нМ конечная концентрация) в буфере для разведения TR-FRET. (Life Technologies). Планшеты оставляли для инкубации при температуре окружающей среды в течение 1 ч, после чего их считывали на Envision ридере (Perkin Elmer). Сигналы отношения эмиссии (520 нм/495 нм) регистрировали и применяли для расчета значений ингибирования в процентах относительно ДМСО и фоновых контролей.

Для анализа зависимости реакции от дозы наносили на график данные ингибирования в процентах относительно концентрации соединения, и значения IC₅₀ определяли на основе модели надежной ап-

проксимации с 4 параметрами с помощью программного обеспечения Prism (GraphPad Software). Результаты выражали как pIC_{50} (отрицательный логарифм IC_{50}), и впоследствии переводили в pK_i (отрицательный логарифм константы диссоциации, K_i), применяя уравнение Ченга-Прусоффа.

Испытуемые соединения, имеющие наименьшую величину K_i или наибольшую величину pK_i в каждом из четырех JAK анализов, показывают большее ингибирование JAK активности.

Анализ 2: клеточный JAK1 анализ активности.

Клеточный анализ AlphaScreen JAK1 активности осуществляли измерением вызванного интерлейкином-13 (IL-13, R&D Systems) STAT6 фосфорилирования в BEAS-2B клетках эпителия легкого человека (ATCC). Анти-STAT6 антитело (Cell Signaling Technologies) конъюгировали с AlphaScreen акцепторными шариками (Perkin Elmer), тогда как анти-pSTAT6 (pTyr641) антитело (Cell Signaling Technologies) биотинилировали, применяя EZ-Link Sulfo-NHS-Biotin (Thermo Scientific).

BEAS-2B клетки выращивали при 37°C в 5% CO₂ увлажненном инкубаторе в 50% DMEM/50% F-12 среде (Life Technologies), дополненной 10% FBS (Hyclone), 100 ед/мл пенициллином, 100 мкг/мл стрептомицина (Life Technologies) и 2 мМ GlutaMAX (Life Technologies). В 1 день анализа клетки высевали при плотности 7500 клеток/лунка в белых покрытых поли-6-лизином 384-луночных планшетах (Corning) с 25 мкл среды и позволяли прикрепиться в течение ночи в инкубаторе. Во 2 день анализа среду удаляли и заменяли 12 мкл буфера для анализа (сбалансированный солевой раствор Хенкса /HBSS, 25 мМ HEPES и 1 мг/мл бычий сывороточный альбумин/BSA), содержащего количества испытуемых соединений для определения зависимости эффекта от дозы. Соединения последовательно разбавляли в DMSO и затем разбавляли 1000-кратно в среде, получая конечную концентрацию в DMSO 0,1%. Клетки инкубировали с испытуемыми соединениями при 37°C в течение 1 ч с последующим добавлением 12 мкл предварительно нагретого IL-13 (80 нг/мл в буфере для анализа) для стимуляции. После инкубирования при 37°C в течение 30 мин буфер для анализа (содержащий соединение и IL-13) удаляли, добавляли 10 мкл буфера для лизиса клеток (25 мМ HEPES, 0,1% SDS, 1% NP-40, 5 мМ MgCl₂, 1,3 мМ EDTA, 1 мМ EGTA, и добавку ингибиторов протеаз Complete Ultra mini и PhosSTOP от Roche Diagnostics). Планшеты встряхивали при температуре окружающей среды в течение 30 мин перед добавлением реагентов для детекции. Добавляли вначале смесь биотин-анти-pSTAT6 и анти-STAT6 конъюгированных акцепторных шариков и выдерживали при температуре окружающей среды в течение 2 ч с последующим добавлением конъюгированных со стрептавидином донорных шариков (Perkin Elmer). После минимум 2 ч инкубирования планшеты для анализа считывали на Envision планшетном ридере. AlphaScreen люминесцентные сигналы регистрировали и применяли для расчета величин ингибирования в процентах относительно DMSO и фоновых контролей.

Для анализа эффекта от дозы данные по ингибированию в процентах откладывали на графике относительно концентрации соединения, и IC_{50} величины определяли из модели надежной аппроксимации с 4 параметрами с помощью программного обеспечения Prism. Результаты можно также выразить в виде отрицательного логарифма IC_{50} величины, pIC_{50} .

Испытуемые соединения, имеющие меньшую IC_{50} величину или большую pIC_{50} величину в данном анализе показывают большее ингибирование STAT6 фосфорилирования, вызванного IL-13.

Результаты анализов in Vitro

Отобранные соединения настоящего изобретения тестировали в четырех JAK ферментативных анализах: JAK1, JAK2, JAK3 и Tyk2 и BEAS-2B клеточном анализе активности, описанных выше. Как показано в таблице ниже, наблюдали, что JAK1 ферментативная активность была предиктором и rap-JAK ферментативной активности и клеточной активности в BEAS-2B анализе. Следовательно, все из полученных соединений тестировали в JAK1 ферментативном анализе и BEAS-2B клеточном анализе и подавляющее большинство также тестировали в JAK3 ферментативном анализе. Все из соединений показывали JAK1 K_i величины от 0,04 нМ до 0,6 нМ (pK_i от 9,2 до 10,4). Соединения, тестируемые в JAK3 ферментативном анализе, показали K_i величины от 0,08 нМ до 0,5 нМ (pK_i от 9,3 до 10,1). Испытуемые соединения показали IC_{50} величины в BEAS-2B анализе от 3 нМ до 100 нМ (pIC_{50} от 7 до 8,5).

Таблица 2

Номер примера	JAK1 K_i (нМ)	JAK2 K_i (нМ)	JAK3 K_i (нМ)	Tyk2 K_i (нМ)	BEAS-2B IC_{50} (нМ)
2	0,04	0,02	0,10	0,32	4,1
4	0,06		0,13		7,4
8	0,06		0,16		8,5

8-1	0,06		0,18		6,3
8-2	0,06		0,25		12,6
8-3	0,06		0,16		5,0
8-4	0,06		0,13		10,0
8-5	0,08		0,20		25,1
8-6	0,06		0,25		15,8
8-7	0,06		0,20		3,1
8-8	0,08		0,28		5,0
8-9	0,05		0,16		7,1
8-10	0,08		0,32		3,2
8-11	0,10		0,32		6,3
8-12	0,06		0,25		4,0
8-13	0,1		0,32		4,0
8-14	0,08		0,20		12,6
8-15	0,08	0,03	0,40	0,40	5,6
8-16	0,10		0,32		5,0
8-17	0,05		0,13		8,0
8-18	0,10		0,32		4,0
8-19	0,06		0,20		8,0
8-20	0,05		0,20		5,0
8-21	0,05		0,25		4,0
8-22	0,06		0,32		5,25
8-23	0,05		0,2		7,7

Анализ 3: фармакокинетические параметры в плазме и легких мыши.

Количества испытуемых соединений в плазме и легких и их соотношения определяли следующим образом. В анализе применяли мышей BALB/c от Charles River Laboratories. Испытуемые соединения индивидуально формулировали в 20% пропиленгликоле в pH4 цитратном буфере при концентрации 0,2 мг/мл, и 50 мкл дозирующего раствора вводили в трахею мыши вдыханием через рот. В различные моменты времени (обычно 0,167, 2, 6, 24 ч) после дозирования, пробы крови отбирали пункцией сердца и интактные легкие вырезали у мышей. Образцы крови центрифугировали (Eppendorf центрифуга, 5804R) в течение 4 мин при приблизительно 12000 об/мин при 4°C для сбора плазмы. Легкие промокали досуха, взвешивали и гомогенизировали при разведении 1:3 в стерильной воде. Количества тестируемого соединения в плазме и легких определяли LC-MS анализом в сравнении с аналитическими стандартами, построенными в виде стандартной кривой в тестовой матрице. Отношение в легком к плазме определяли как отношение AUC легкого в мкг ч/г к AUC плазмы в мкг ч/мл, где AUC обычно определяют как площадь под кривой зависимости тестируемого соединения от времени. Соединения настоящего изобретения демонстрировали воздействие в легких на один-два порядка больше, чем воздействие в плазме у мышей. Все соединения, представленные в данном анализе, имели период полувыведения от приблизительно 4,5 до приблизительно 14 ч.

Анализ 4: мышинная модель pSTAT6 индукции, стимулированной IL-13, в ткани легкого.

IL-13 представляет собой важный цитокин, лежащий в основе патофизиологии астмы (Kudlacz et al. Eur. J. Pharmacol, 2008, 582,154-161). IL-13 связывается с рецепторами клеточной поверхности, активируя члены Janus семейства киназ (JAK), которые затем фосфорилируют STAT6, и затем активируют последующие транскрипционные пути. В описанной модели дозу IL-13 доставляли местно в легкие мышей, вызывая фосфорилирование STAT6 (pSTAT6), которое затем измеряли как конечный результат.

Взрослых balb/c мышей от Harlan применяли в данном анализе. В день исследования животных слегка анестезировали изофлураном и вводили либо носитель, либо испытуемое соединение (1 мг/мл, общий объем 50 мкл за несколько вдохов) вдыханием через рот. Животных помещали в латеральное положение после введения дозы и контролировали на полное восстановление после анестезии, прежде чем вернуть в их домашнюю клетку. Через четыре часа животных снова ненадолго анестезировали и вводили либо носитель, либо IL-13 (0,03 мкг суммарная доставляемая доза, 50 мкл общего объема) вдыханием через рот, перед контролем восстановления после анестезии и помещением обратно в их домаш-

ние клетки. Через 1 ч после введения носителя или IL-13 собирали легкие для обнаружения pSTAT6, применяя анти- pSTAT6 ELISA (кроличье mAb антитело для захвата/покрытия; мышинное mAb антитело для обнаружения/отчета: анти-pSTAT6-pY641; вторичное антитело: антимишинный IgG-HRP) и анализировали на общую концентрацию лекарственного средства, как описано выше в анализе 3.

Отобранные соединения настоящего изобретения тестировали в анализе. Активность в модели подтверждалась снижением уровня pSTAT6, присутствующего в легких обработанных животных, через 5 ч по сравнению с обработанными носителем и подверженными воздействию IL-13 контрольными животными. Разница между контрольными животными, которым вводили носитель и подвергали воздействию IL-13, и контрольными животными, которым вводили носитель и подвергали воздействию носителя, определяли 0 и 100% ингибирующий эффект соответственно в любом данном эксперименте. Типичные соединения настоящего изобретения тестировали в анализе, и они показали ингибирование фосфорилирования STAT6 через 4 ч после воздействия IL-13, как описано ниже.

Подтверждая релевантность пути JAK-STAT при воспалении дыхательных путей, соединения, которые продемонстрировали *in vivo* направленное воздействие в IL13-индуцированной pSTAT6 мышинной модели, впоследствии тестировали, и они доказали эффективность в мышинной модели эозинофильного воспаления, вызванного аллергенами.

Результаты анализов *in Vivo*

Отобранные соединения настоящего изобретения охарактеризовывали и в фармакокинетическом анализе (анализ 3) и в фармакодинамическом анализе (анализ 4). Хорошая корреляция наблюдалась между концентрацией тестируемых соединений в легких, определенной в фармакокинетическом анализе и в фармакодинамическом анализе, в аналогичные моменты времени после дозирования. Наблюдение значительной концентрации соединения в легком мыши подтверждало, что наблюдаемое ингибирование индуцированной IL-13 индукции pSTAT6 было результатом активности тестируемого соединения.

В следующей таблице для отношения воздействия в легких к воздействию в плазме (анализ 3), А обозначает соотношение 100-200, В обозначает соотношение 50-100 и С обозначает соотношение 20-50. Для ингибирования в процентах индуцированной IL-13 индукции pSTAT6 (анализ 4) А представляет собой от 60 до 80% ингибирования, В представляет собой от 40 до 60% ингибирования и С представляет собой от 25 до 40% ингибирования.

Таблица 3

Номер примера	Отношение в легком к плазме анализ 3	pSTAT6 ингибирование анализ 4
2	А	В
4	С	А
8	В	В
8-3	С	В
8-7	С	В
8-13		В
8-15		С
8-16	В	С
8-22	В	В
8-23	В	В

Анализ 5: мышинная модель вызванного *Alternaria alternate* эозинофильного воспаления легкого.

Эозинофилия дыхательных путей представляет собой особенность астмы у людей. *Alternaria alternata* представляет собой грибковый аэроаллерген, который может усиливать астму у людей и вызывать эозинофильное воспаление в легких мышей (Navaux et al. Clin Exp Immunol. 2005 Feb;139(2):179-88). На мышцах продемонстрировано, что альтернария опосредованно активизирует тканерезидентные врожденные лимфоидные клетки 2 типа в легком, которые реагируют (например, IL-2 и IL-7), высвобождают JAK-зависимые цитокины (например, IL-5 и IL-13) и координируют эозинофильное воспаление (Bartemes et al. J Immunol. 2012 Feb 1;188 (3) :1503-13).

Семи-девятидневных самцов мышей C57 от Taconic применяли в исследовании. В день исследования животных слегка анестезировали изофлураном и вводили либо носитель, либо испытуемое соединение (0,03-1,0 мг/мл, общий объем 50 мкл за несколько вдохов) посредством ротоглоточного вдыхания. Животных помещали в латеральное положение после введения дозы и контролировали на полное восстановление после анестезии, прежде чем возвратиться в их домашнюю клетку. Через час животных снова ненадолго анестезировали и подвергали воздействию либо носителя, либо экстракта альтернарии (общий

вес доставляемого экстракта 200 мкг, суммарный объем 50 мкл) посредством ротоглоточного вдыхания, после чего их отслеживали на восстановление после анестезии и возвращали в их домашнюю клетку. Через 48 ч после введения альтернативы собирали жидкость бронхоальвеолярного лаважа (BALF) и подсчитывали эозинофилы в BALF, применяя гематологическую систему Advia 120 (Siemens).

Отобранные соединения настоящего изобретения, демонстрирующие активность в фармакодинамическом анализе IL-13-pSTAT6 *in vivo*, тестировали в данном анализе с альтернативой. Активность в модели подтверждалась снижением уровня эозинофилов, присутствующих в BALF обработанных животных через 48 ч, по сравнению с обработанными носителем контрольными животными, подверженными воздействию альтернативы. Данные выражены в процентах ингибирования реакции эозинофилов BALF при обработке носителем и воздействии альтернативы. Чтобы рассчитать процент ингибирования, количество эозинофилов BALF для каждого состояния переводят в проценты среднего количества эозинофилов в BALF при обработке носителем и воздействии альтернативы и вычитают из ста процентов. Типичные соединения настоящего изобретения тестировали в данном анализе, и они продемонстрировали ингибирование количества эозинофилов BALF через 48 ч после воздействия альтернативы, как описано ниже.

Результаты анализа *In Vivo*

Все протестированные соединения продемонстрировали диапазон ингибирования (73-93%) альфа-индуцированных эозинофилов BALF. Следующая таблица отражает максимальный статистически значимый процент ингибирования уровня индукции эозинофилов при обработке носителем и воздействии альтернативы.

Таблица 4

Номер примера	Процент ингибирования эозинофилов в BALF, вызванного альтернативой
2	74
4	79

Анализ 6: анализ выживаемости эозинофилов, опосредованной IL-5.

Активность тестируемых соединений на выживаемость эозинофилов, опосредованную IL-5, измеряли в эозинофилах человека, выделенных из цельной крови человека (AllCells). Поскольку IL-5 передает сигналы через JAK, данный анализ обеспечивает измерение клеточной активности JAK.

Эозинофилы человека выделяли из свежей цельной крови человека (AllCells) здоровых доноров. Кровь смешивали с 4,5% декстраном (Sigma-Aldrich) в 0,9% растворе хлорида натрия (Sigma-Aldrich). Красные кровяные клетки оставляли для осаждения на 35 мин. Верхний слой, богатый лейкоцитами, удаляли и наносили на фиколл-пак (GE Healthcare) и центрифугировали при 600 g в течение 30 мин. Слои плазмы и мононуклеарных клеток удаляли до того, как слой гранулоцитов лизировали водой для удаления любых загрязняющих красных кровяных клеток. Эозинофилы дополнительно очищали, применяя набор для выделения эозинофилов человека (Miltenyi Biotec). Фракцию очищенных эозинофилов инкубировали с анти- CD16 FITC (Miltenyi Biotec) в течение 10 мин при 4°C в темноте. Чистоту анализировали, применяя проточный цитометр LSRII (BD Biosciences).

Клетки выращивали в 37°C, 5% CO₂ увлажненном инкубаторе в RPMI 1640 (Life Technologies), дополненной 10% термоинактивированной фетальной бычьей сывороткой (FBS, Life Technologies), 2 mM Glutamax (Life Technologies), 25 mM HEPES (Life Technologies) и 1X Pen/Strep (Life Technologies). Клетки высевали при 10000 клеток/лунка в среде (50 мкл). Планшет центрифугировали при 300g в течение 5 мин и надосадочные жидкости удаляли. Соединения последовательно разбавляли в DMSO и затем разбавляли 500-кратно до 2х конечной концентрации для анализа в среде. Испытуемые соединения (50 мкл/лунка) добавляли к клеткам и выдерживали при 37°C, 5% CO₂ в течение 1 ч, с последующим добавлением IL-5 (R&D Systems; конечные концентрации 1 нг/мл и 10 пг/мл) в предварительно нагретой среде для анализа (50 мкл) в течение 72 ч.

После стимуляции цитокинами, клетки центрифугировали при 300 g в течение 5 мин и дважды промывали холодным DPBS (Life Technologies). Для получения информации о жизнеспособности и апоптозе клетки инкубировали с йодидом пропидия (Thermo Fisher Scientific) и APC Annexin V (BD Biosciences) и анализировали, применяя проточный цитометр LSRII (BD Biosciences). Значения IC₅₀ определяли из анализа кривых жизнеспособности процента жизнеспособности клеток в зависимости от концентрации соединения. Данные выражены в виде pIC₅₀ (отрицательный десятичный логарифм IC₅₀). Соединение примера 2 показало значение pIC₅₀ 7,6±0,5 в присутствии 10 пг/мл IL-5 и значение pIC₅₀ 6,2±0,1 в присутствии 1 нг/мл IL-5.

Анализ 7: ингибирование индуцированных IFN γ и IL-27 хемокинов CXCL9 и CXCL10 в человеческой 3D культуре дыхательных путей.

EpiAirway тканевые культуры получали у Mattek (AIR-100). Культуры получали у доноров с астмой. Во вставке для культивирования клеток, человеческие трахеальные/бронхиальные эпителиальные

клетки выращивали и дифференцировали на основе из пористой мембраны, обеспечивающей воздушно-жидкостное взаимодействие с нагретой культуральной средой снизу клеток и газообразной атмосферой для тестирования над. Ткани выращивали в поддерживающей среде (Mattek, AIR-100-MM) в 37°C, 5% CO₂ увлажненном инкубаторе. Тестировали четырех доноров. В 0 день тканевые культуры обрабатывали испытуемыми соединениями при 10, 1 и/или 0,1 мкМ. Соединения разбавляли в диметилсульфоксиде (DMSO, Sigma) до конечной концентрации 0,1%. DMSO при 0,1% применяли в качестве контроля со средой. Испытуемые соединения инкубировали с культурами в течение 1 ч при 37°C, 5% CO₂, с последующим добавлением предварительно нагретой среды, содержащей IFN γ (R&D Systems) или IL-27 (R&D Systems) при конечной концентрации 100 нг/мл. Тканевые культуры выдерживали в течение 8 дней. Среду заменяли каждые 2 дня на свежую среду, содержащую соединения и IFN γ или IL-27. В 8 день, тканевые культуры и надосадочные жидкости собирали для анализа. Образцы надосадочной жидкости анализировали на CXCL10 (IP-10) и CXCL9 (MIG), применяя luminex анализ (EMD Millipore). Данные выражали как % ингибирование \pm стандартное отклонение (\pm STDV). Ингибирование в процентах определяли ингибирующей активностью соединения относительно вызванной IFN γ или IL-27 CXCL10 или CXCL9 секреции, по сравнению с клетками, обработанными средой. Данные представляет собой среднее 3 или 4 доноров. Соединение примера 2 было способно ингибировать вызванную IFN γ CXCL10 секрецию на 101% \pm 2,0 (при 10 мкМ), 65% \pm 29 (при 1 мкМ) и 6% \pm 11 (при 0,1 мкМ) по сравнению с контролем со средой. Соединение примера 2 было способно ингибировать вызванную IFN γ CXCL9 секрецию на 93% \pm 13 (при 10 мкМ) и 24% \pm 49 (при 1 мкМ) по сравнению с средой. Соединение примера 2 было способно ингибировать вызванную IL-27 CXCL10 секрецию на 108% \pm 11 (при 10 мкМ), 101% \pm 6 (при 1 мкМ) и 69% \pm 10 (при 0,1 мкМ), по сравнению с контролем со средой. Соединение примера 2 было способно ингибировать вызванную IL-27 CXCL9 секрецию на 100% \pm 0 (при 10 мкМ), 97% \pm 3,6 (при 1 мкМ) и 57% \pm 28 (при 0,1 мкМ), по сравнению с контролем со средой.

Анализ 8: анализ клеточной JAK активности: ингибирование IFN γ , стимулированного IL-2/анти-CD3, в человеческих PBMC.

Активность тестируемого соединения по ингибированию интерферона-гамма (IFN γ), стимулированного интерлейкином-2 (IL-2)/анти-CD3, измеряли в мононуклеарных клетках периферической крови человека (PBMC), выделенных из цельной крови человека (Stanford Blood Center). Поскольку IL-2 передает сигналы через JAK, этот анализ обеспечивает измерение клеточной активности JAK.

(1) Мононуклеарные клетки периферической крови человека (PBMC) выделяли из цельной крови человека здоровых доноров, применяя градиент фикола. Клетки выращивали в 37°C, 5% CO₂ увлажненном инкубаторе в RPMI (Life Technologies), дополненной 10% инактивированной нагреванием фетальной бычьей сывороткой (FBS, Life Technologies), 2 mM Glutamax (Life Technologies), 25 mM HEPES (Life Technologies) и 1X Pen/Strep (Life Technologies). Клетки высевали при 200000 клеток/лунку в среде (50 мкл) и выращивали в течение 1 ч. Соединения последовательно разбавляли в ДМСО и затем разбавляли еще в 500 раз (до 2х конечной концентрации для анализа) в среде. Испытуемые соединения (100 мкл/лунку) добавляли к клеткам и инкубировали при 37°C, 5% CO₂ в течение 1 ч с последующим добавлением IL-2 (R & D Systems; конечная концентрация 100 нг/мл) и анти-CD3 (BD Biosciences; конечная концентрация 1 мкг/мл) в предварительно нагретой среде для анализа (50 мкл) в течение 24 ч.

(2) После стимуляции цитокинами клетки центрифугировали при 500 g в течение 5 мин и надосадочные жидкости удаляли и замораживали при -80°C. Для определения ингибирующей активности тестируемого соединения в ответ на IL-2/анти-CD3, концентрации IFN γ в надосадочной жидкости измеряли ELISA (R & D Systems). Величины IC₅₀ определяли из анализа кривых ингибирования концентрации IFN γ в зависимости от концентрации соединения. Данные выражали как pIC₅₀ (отрицательный десятичный логарифм IC₅₀). Соединение примера 2 показало значение pIC₅₀ около 7,1 в данном анализе.

Анализ 9: анализ клеточной JAK активности: ингибирование pSTAT5, стимулированного IL-2, в CD4+T клетках.

Активность тестируемого соединения по ингибированию стимулированного интерлейкином-2 (IL-2)/анти-CD3 фосфорилирования STAT5 измеряли в CD4-позитивных (CD4+) T-клетках в мононуклеарных клетках периферической крови человека (PBMC), выделенных из цельной крови человека (Stanford Blood Center), применяя проточную цитометрию. Поскольку IL-2 передает сигналы через JAK, данный анализ обеспечивает измерение клеточной активности JAK.

CD4+ T-клетки идентифицировали, применяя анти-CD4 антитело, конъюгированное с фикоэритробином (PE) (клон RPA-T4, BD Biosciences), тогда как анти-pSTAT5-антитело, конъюгированное с Alexa Fluor 647 (pY694, клон 47, BD Biosciences), применяли для обнаружения фосфорилирование STAT5.

(1) следовали протоколу анализа 8 параграф (1), за исключением того, что стимуляцию цитокином анти-CD3 проводили в течение 30 мин, вместо 24 ч.

(2) После стимуляции цитокинами, клетки фиксировали предварительно нагретым фиксирующим раствором (200 мкл; BD Biosciences) в течение 10 мин при 37°C, 5% CO₂, промывали дважды буфером DPBS (1 мл, Life Technologies) и ресуспендировали в ледяном Perm буфере III (1000 мкл, BD Biosciences)

в течение 30 мин при 4°C. Клетки промывали дважды 2% FBS в DPBS (буфер FACS) и затем ресуспендировали в буфере FACS (100 мкл), содержащем анти-CD4 PE (разведение 1:50) и анти-CD3 анти-CD3Alexa Fluor 647 (разведение 1: 5) в течение 60 мин при комнатной температуре в темноте. После инкубирования клетки дважды промывали буфером FACS перед анализом, применяя проточный цитометр LSRII (BD Biosciences). Для определения ингибирующей активности испытуемых соединений в ответ на IL2/анти-CD3, медиановую интенсивность флуоресценции (MFI) pSTAT5 измеряли в CD4+ Т-клетках. Значения IC₅₀ определяли из анализа кривых ингибирования MFI в зависимости от концентрации соединения. Данные выражены в виде pIC₅₀ (отрицательный десятичный логарифм IC₅₀). Соединение примера 2 показало значение pIC₅₀ около 7,3 в этом анализе.

Анализ 10: анализ клеточной JAK активности: ингибирование pSTAT6, стимулированного IL-4, в CD3+ Т клетках.

Активность тестируемого соединения по ингибированию стимулированного интерлейкином-4 (IL-4) фосфорилирования STAT6 измеряли в CD3-позитивных (CD3+) Т-клетках мононуклеарных клеток периферической крови человека (PBMC), выделенных из цельной крови человека (Stanford Blood Center), применяя проточную цитометрию. Поскольку IL-4 передает сигналы через JAK, этот анализ обеспечивает измерение клеточной активности JAK.

CD3+ Т клетки идентифицировали, применяя анти-CD3 антитело, конъюгированное с фикоэритробином (PE) (клон UCNT1, BD Biosciences), тогда как анти-pSTAT6 антитело, конъюгированное с Alexa Fluor 647 (pY641, клон 18/P, BD Biosciences), применяли для детекции фосфорилирования STAT6.

Мононуклеарные клетки периферической крови человека (PBMC) выделяли из цельной крови человека здоровых доноров, как в анализах 8 и 9. Клетки высевали при 250000 клеток/лунка в среде (200 мкл), выращивали в течение 1 ч, и затем ресуспендировали в среде для анализа (50 мкл) (RPMI, дополненной 0,1% бычьим сывороточным альбумином (Sigma), 2 mM Glutamax, 25 mM HEPES и 1X Penstrep), содержащей различные концентрации испытуемых соединений. Соединения последовательно разбавляли в ДМСО и затем разбавляли еще в 500 раз (до 2х конечной концентрации для анализа) в среде для анализа. Испытуемые соединения (50 мкл) выдерживали с клетками при 37°C, 5% CO₂ в течение 1 ч, с последующим добавлением IL-4 (50 мкл) (R&D Systems; конечная концентрация 20 нг/мл) в предварительно нагретой среде для анализа в через 30 мин. После стимуляции цитокинами клетки фиксировали предварительно нагретым фиксирующим раствором (100 мкл) (BD Biosciences) в течение 10 мин при 37°C, 5% CO₂, промывали дважды буфером FACS (1 мл) (2% FBS в DPBS) и ресуспендировали в ледяном Perm буфере III (1000 мкл) (BD Biosciences) в течение 30 мин при 4°C. Клетки дважды промывали буфером FACS и затем ресуспендировали в буфере FACS (100 мкл), содержащем анти-CD3 PE (разведение 1:50) и анти-pSTAT6 Alexa Fluor 647 (разведение 1:5) в течение 60 мин при комнатной температуре в темноте. После выдерживания клетки дважды промывали буфером FACS перед анализом, применяя проточный цитометр LSRII (BD Biosciences).

Для измерения ингибирующей активности испытуемого соединения в ответ на IL-4, медиановую интенсивность флуоресценции (MFI) pSTAT6 измеряли в CD3+ Т клетках. IC₅₀ величины определяли из анализа кривых ингибирования MFI относительно концентрации соединения. Данные выражали как pIC₅₀ (отрицательный десятичный логарифм IC₅₀). Соединение примера 2 показало pIC₅₀ величину 7,9 в данном анализе.

Анализ 11: анализ клеточной JAK активности: ингибирование pSTAT3, стимулированного IL-6, в CD3+ Т клетках.

Протокол, аналогичный протоколу анализа 10, применяли для определения активности испытуемого соединения по ингибированию фосфорилирования STAT3, стимулированного интерлейкином-6 (IL-6). Анти-pSTAT3 антитело, конъюгированное с Alexa Fluor 647 (pY705, клон 4/P, BD Biosciences), применяли для детекции фосфорилирования STAT3.

Соединение примера 2 показало pIC₅₀ величину 7,2 в данном анализе.

Кристаллическая структура

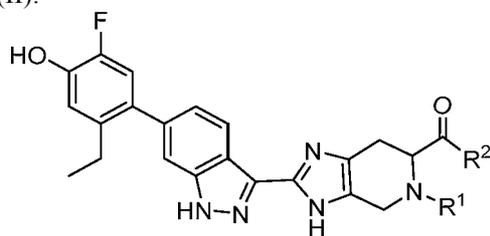
Совместную кристаллическую структуру получали для соединения примера 2, связанного с человеческим JAK1, при разрешении 2,28 Å. Лиганд наблюдали связанным с АТФ-связывающим сайтом. Семь специфических водородных связей определяли на основе расстояния 3,5 Å или меньше между атомами, являющимися донорами и акцепторами. Особо следует отметить водородные связи между карбонилем экзациклического амида соединения примера 2 и боковой цепью Arg879 JAK1. В более ранних модельных исследованиях данное взаимодействие было предложено в качестве способа получения селективности в отношении JAK1 по сравнению с другими тирозинкиназами, поскольку остальные близкородственные киназы (например, TRKA, VEGFR, ABL1) не содержали остаток аргинина в эквивалентном месте. Наблюдаемые результаты взаимодействия водородных связей в кристаллической структуре и улучшенной селективности по киному по сравнению с сериями, не содержащими экзациклический амид, подтверждают данную гипотезу дизайна.

Хотя настоящее изобретение описано со ссылкой на конкретные аспекты или варианты его осуществления, специалистам в данной области техники ясно, что могут быть сделаны различные изменения

или могут быть заменены на эквиваленты без отклонения от истинного смысла и объема настоящего изобретения. Кроме того, в той степени, в которой это допускается применимым патентным законодательством и правилами, все публикации, патенты и патентные заявки, цитируемые в данном документе, включены в настоящее изобретение посредством ссылки во всей их полноте в той же степени, как если бы каждый документ был отдельно включен в качестве ссылки в данном документе.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (II):

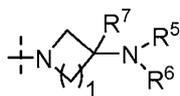


(II)

в котором

R¹ представляет собой C₁₋₃алкил;

R² представляет собой



где

R⁵ и R⁶ независимо представляют собой C₁₋₃алкил, или R⁵ и R⁶, взятые вместе, образуют (CH₂)₄₋₅, R⁷ представляет собой водород или C₁₋₃алкил,

или его фармацевтически приемлемая соль.

2. Соединение по п.1 или его фармацевтически приемлемая соль, где R⁵ и R⁶ представляют собой C₁₋₃алкил.

3. Соединение по п.1, где соединение представляет собой (S)-(3-(диметиламино)-3-метилазетидин-1-ил)(5-этил-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[5,4-с]пиридин-6-ил)метанон или его фармацевтически приемлемую соль.

4. Соединение по п.1, где соединение представляет собой (S)-(3-(диметиламино)азетидин-1-ил)(5-этил-2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[5,4-с]пиридин-6-ил)метанон или его фармацевтически приемлемую соль.

5. Соединение по п.1, где соединение выбрано из

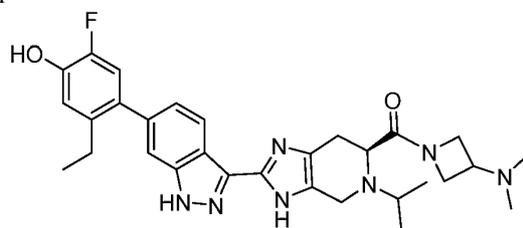
(S)-(3-(диметиламино)азетидин-1-ил)(2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-изопропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанона,

(S)-(3-(диметиламино)азетидин-1-ил)(2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-пропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанона,

(S)-(3-(диметиламино)-3-метилазетидин-1-ил)(2-(6-(2-этил-5-фтор-4-гидроксифенил)-1H-индазол-3-ил)-5-пропил-4,5,6,7-тетрагидро-3H-имидазо[4,5-с]пиридин-6-ил)метанона

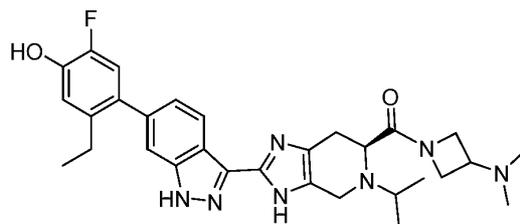
и их фармацевтически приемлемых солей.

6. Соединение формулы



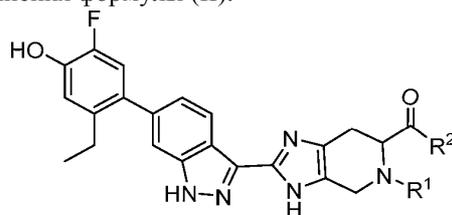
или его фармацевтически приемлемая соль.

7. Соединение формулы



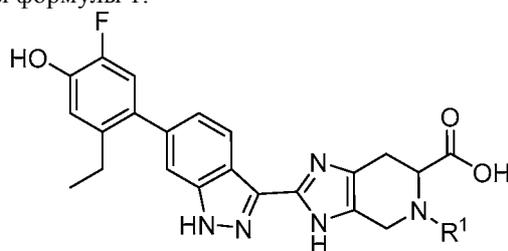
8. Фармацевтическая композиция для лечения воспалительного и фиброзного заболевания органов дыхательной системы или отторжения трансплантата легкого, содержащая соединение по любому из пп.1-7 и фармацевтически приемлемый носитель.

9. Способ получения соединения формулы (II):



(II)

где R^1 и R^2 такие, как определено в п.1, или его фармацевтически приемлемой соли, причем способ включает реакцию соединения формулы 1:



1

с соединением формулы 2:



2

с получением соединения формулы (II) или его фармацевтически приемлемой соли.

10. Применение соединения по любому из пп.1-7 для лечения воспалительного или фиброзного заболевания органов дыхательной системы у млекопитающего.

11. Применение по п.10, где воспалительное или фиброзное заболевание органов дыхательной системы представляет собой астму, хроническое обструктивное заболевание легких, кистозный фиброз, пневмонию, идиопатический легочный фиброз, острое повреждение легких, синдром острой дыхательной недостаточности, бронхит, эмфизему, облитерирующий бронхиолит или саркоидоз.

12. Применение по п.10, где воспалительное или фиброзное заболевание органов дыхательной системы представляет собой астму.

13. Применение по п.10, где воспалительное или фиброзное заболевание органов дыхательной системы представляет собой эозинофильное заболевание, глистную инфекцию, легочную артериальную гипертензию, лимфангиолейомиоматоз, бронхоэктаз, инфильтративное заболевание легкого, медикаментозную пневмонию, пневмонию, вызванную грибом, аллергический бронхолегочный аспергиллез, гиперчувствительную пневмонию, эозинофильный гранулематоз с ангиопатией, идиопатическую острую эозинофильную пневмонию, идиопатическую хроническую эозинофильную пневмонию, гиперэозинофильный синдром, синдром Леффлера, облитерирующий бронхиолит с организующейся пневмонией, заболевание трансплантат легкого против хозяина или пневмонию, вызванную ингибитором иммунных контрольных точек.

14. Применение соединения по любому из пп.1-7 для лечения отторжения трансплантата легкого у млекопитающего.

15. Применение по п.14, где отторжение трансплантата легкого представляет собой раннюю дисфункцию трансплантата, организующуюся пневмонию, острое отторжение, лимфоцитарный бронхиолит или хроническую дисфункцию аллотрансплантата легкого.

16. Применение по п.14, где отторжение трансплантата легкого представляет собой острое оттор-

жение трансплантата легкого.

17. Применение по п.14, где отторжение трансплантата легкого представляет собой хроническую дисфункцию аллотрансплантата легкого.

18. Применение по п.14, где отторжение трансплантата легкого представляет собой облитерирующий бронхиолит, рестриктивную хроническую дисфункцию аллотрансплантата легкого или нейтрофильную дисфункцию аллотрансплантата.

19. Применение соединения по любому из пп.1-7 для получения лекарственного средства для лечения воспалительного или фиброзного заболевания органов дыхательной системы у млекопитающего.

20. Применение по п.19, где воспалительное или фиброзное заболевание органов дыхательной системы представляет собой астму, хроническое обструктивное заболевание легких, кистозный фиброз, пневмонию, идиопатический легочный фиброз, острое повреждение легких, синдром острой дыхательной недостаточности, бронхит, эмфизему, облитерирующий бронхиолит или саркоидоз.

21. Применение по п.20, где воспалительное или фиброзное заболевание органов дыхательной системы представляет собой астму.

22. Применение по п.19, где воспалительное или фиброзное заболевание органов дыхательной системы представляет собой эозинофильное заболевание, глистную инфекцию, легочную артериальную гипертензию, лимфангиолейомиоматоз, бронхоэктаз, инфильтративное заболевание легкого, медикаментозную пневмонию, пневмонию, вызванную грибом, аллергический бронхолегочный аспергиллез, гиперчувствительную пневмонию, эозинофильный гранулематоз с ангиопатией, идиопатическую острую эозинофильную пневмонию, идиопатическую хроническую эозинофильную пневмонию, гиперэозинофильный синдром, синдром Леффлера, облитерирующий бронхиолит с организующейся пневмонией, заболевание трансплантат легкого против хозяина или пневмонию, вызванную ингибитором иммунных контрольных точек.

23. Применение соединения по любому из пп.1-7 для получения лекарственного средства для лечения отторжения трансплантата легкого у млекопитающего.

24. Применение по п.23, где отторжение трансплантата легкого представляет собой раннюю дисфункцию трансплантата, организующуюся пневмонию, острое отторжение, лимфоцитарный бронхиолит или хроническую дисфункцию аллотрансплантата легкого.

25. Применение по п.23, где отторжение трансплантата легкого представляет собой острое отторжение трансплантата легкого.

26. Применение по п.23, где отторжение трансплантата легкого представляет собой хроническую дисфункцию аллотрансплантата легкого.

27. Применение по п.23, где отторжение трансплантата легкого представляет собой облитерирующий бронхиолит, рестриктивную хроническую дисфункцию аллотрансплантата легкого или нейтрофильную дисфункцию аллотрансплантата.

28. Способ лечения воспалительного или фиброзного заболевания органов дыхательной системы у млекопитающего, причем способ включает введение млекопитающему фармацевтической композиции, содержащей соединение по любому из пп.1-7 и фармацевтически приемлемый носитель.

29. Способ по п.28, где воспалительное или фиброзное заболевание органов дыхательной системы представляет собой астму, хроническое обструктивное заболевание легких, кистозный фиброз, пневмонию, идиопатический легочный фиброз, острое повреждение легких, синдром острой дыхательной недостаточности, бронхит, эмфизему, облитерирующий бронхиолит или саркоидоз.

30. Способ по п.29, где воспалительное или фиброзное заболевание органов дыхательной системы представляет собой астму или хроническое обструктивное заболевание легких.

31. Способ по п.28, где воспалительное или фиброзное заболевание органов дыхательной системы представляет собой эозинофильное заболевание, глистную инфекцию, легочную артериальную гипертензию, лимфангиолейомиоматоз, бронхоэктаз, инфильтративное заболевание легкого, медикаментозную пневмонию, пневмонию, вызванную грибом, аллергический бронхолегочный аспергиллез, гиперчувствительную пневмонию, эозинофильный гранулематоз с ангиопатией, идиопатическую острую эозинофильную пневмонию, идиопатическую хроническую эозинофильную пневмонию, гиперэозинофильный синдром, синдром Леффлера, облитерирующий бронхиолит с организующейся пневмонией, заболевание трансплантат легкого против хозяина или пневмонию, вызванную ингибитором иммунных контрольных точек.

32. Способ лечения отторжения трансплантата легкого у млекопитающего, причем способ включает введение млекопитающему фармацевтической композиции, содержащей соединение по любому из пп.1-7 и фармацевтически приемлемый носитель.

33. Способ по п.32, где отторжение трансплантата легкого представляет собой раннюю дисфункцию трансплантата, организующуюся пневмонию, острое отторжение, лимфоцитарный бронхиолит или хроническую дисфункцию аллотрансплантата легкого.

34. Способ по п.32, где отторжение трансплантата легкого представляет собой острое отторжение трансплантата легкого.

35. Способ по п.32, где отторжение трансплантата легкого представляет собой хроническую дис-

функцию аллотрансплантата легкого.

36. Способ по п.32, где отторжение трансплантата легкого представляет собой облитерирующий бронхиолит, рестриктивную хроническую дисфункцию аллотрансплантата легкого или нейтрофильную дисфункцию аллотрансплантата.

