

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202190047** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.03.17

(51) Int. Cl. **C07D 471/14** (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2019.06.14

(54) НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИНГИБИТОРЫ КИНАЗ СЕМЕЙСТВА JAK

(31) 62/685,737; 62/846,290

(72) Изобретатель:

(32) 2018.06.15; 2019.05.10

**Фернандес Филипп (BE), Тиченор
Марк С., Кравчук Пол Дж. (US)**

(33) US

(86) PCT/IB2019/055005

(74) Представитель:

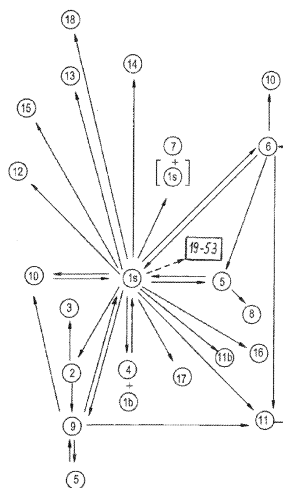
(87) WO 2019/239387 2019.12.19

Медведев В.Н. (RU)

(71) Заявитель:

ЯНССЕН ФАРМАЦЕВТИКА НВ (BE)

(57) Соединения 2-((1г,4г)-4-(имидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-1(6H)-ил)циклогексил)ацетонитрила, содержащие их фармацевтические композиции, способы их получения и способы их применения, включая способы лечения заболеваний, расстройств и состояний, опосредованных JAK.



A1

202190047

202190047

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-566003EA/032

НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИНГИБИТОРЫ КИНАЗ СЕМЕЙСТВА JAK

ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к определенным соединениям имидазопирролопиридина, содержащим их фармацевтическим композициям, способам их получения и способам их применения в качестве ингибиторов JAK для лечения заболеваний, расстройств и состояний, опосредованных JAK.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Внутренние факторы, внешние факторы или их комбинация могут вызывать или могут быть связаны с развитием ненормальных иммунных ответов в теле. В результате развиваются патологические состояния, при которых такие составляющие, как вещества и ткани, которые обычно присутствуют в теле, подвергаются такому иммунному ответу. Эти состояния по существу называются заболеваниями иммунной системы. Поскольку задействована иммунная система тела и повреждение влияет на ткань тела, такие заболевания также называются аутоиммунными заболеваниями. Поскольку такая система и ткань являются частью одного и того же тела, термины «аутоиммунное заболевание» и «заболевание иммунной системы» применяются в настоящем документе взаимозаменяемо, независимо от того, что вызывает ненормальный иммунный ответ. Более того, не всегда ясна сущность или механизм лежащей в основе иммунной проблемы. См., например, D.J. Marks, et al., Crohn's disease: An immune deficiency state, *Clinical Reviews in Allergy and Immunology* 38(1), 20-30 (2010); J.D. Lalande, et al., Mycobacteria in Crohn's disease: How innate immune deficiency may result in chronic inflammation, *Expert Reviews of Clinical Immunology* 6(4), 633-41 (2010); J.K. Yamamoto-Furusho, et al., Crohn's disease: Innate immunodeficiency, *World Journal of Gastroenterology*, 12(42), 6751-55 (2006). В настоящем документе термин «аутоиммунное заболевание» не исключает состояний, причины которых включают в себя внешние факторы или агенты, такие как экологические или бактериальные факторы, а также внутренние факторы, такие как генетическая восприимчивость. Соответственно, такое состояние, как болезнь Крона (CD), в настоящем документе называют аутоиммунным заболеванием, независимо от того, инициируется ли оно самим телом или внешними факторами. См., например, J. L. Casanova, et al., Revisiting Crohn's disease as a primary immunodeficiency of macrophages, *J. Exp. Med.* 206 (9), 1839-43 (2009).

Среди различных нежелательных эффектов, вызываемых аутоиммунными заболеваниями, чаще всего наблюдается по меньшей мере один из следующих: повреждение, а иногда и разрушение тканей и изменения органов, которые могут влиять на рост и функционирование органов. Примеры аутоиммунных заболеваний влияют на большинство основных органов, эндокринные и экзокринные железы, кровь и мышцы и на множество систем, таких как пищеварительная, сосудистая, соединительнотканная и нервная системы. Для лечения аутоиммунных заболеваний часто применяют

иммуносупрессивные средства.

Известно несколько теорий, объясняющих, как возникают аутоиммунные заболевания, некоторые из которых сосредоточены на эндогенных факторах, а другие также включают экзогенные факторы. На молекулярном уровне считается, что сигнальный путь «Янус-киназа/сигнальный трансдуктор и активатор транскрипции (JAK/STAT)» играет важную роль в передаче информации от внеклеточных химических сигналов в ядро клетки, обеспечивая регулирование генов, участвующих в клеточных функциях, таких как иммунитет. Цитокины являются примером внеклеточной молекулы, которая играет важную роль в клеточной сигнализации. Лейкоциты, такие как нейтрофилы, рекрутируются цитокинами и хемокинами, чтобы в конечном итоге вызвать повреждение тканей при хронических воспалительных заболеваниях.

Семейство белков Янус-киназы (JAK) состоит из 4 тирозинкиназ, JAK1, JAK2, JAK3 и Tyk2, которые являются основными элементами системы внутриклеточной сигнализации, опосредованной цитокиновыми рецепторами типа I и типа II. Термин JAK относится к JAK1, JAK2, JAK3 или Tyk2 или любой их комбинации. Каждая JAK избирательно связывается с субъединицами рецептора, которые димеризируются (или мультимеризируются) с образованием функциональных рецепторов. Согласно J.D. Clark, et al., *Discovery and Development of Janus Kinase (JAK) Inhibitors for Inflammatory Diseases*, *J. Med. Chem.* 57(12), 5023-38 (2014), «стадия активации происходит при связывании цитокина с его рецептором, индуцирующем мультимеризацию (димеризацию или образование комплексов более высокого порядка) субъединиц рецептора. Это приводит к тому, что JAK, связанные с каждой субъединицей проксимально по отношению друг к другу, запускают серию событий фосфорилирования, в конечном итоге приводящих к фосфорилированию и активации сигнальных трансдукторов и активаторов транскрипции (STAT-белки). Затем фосфорилированный димер STAT перемещается в ядро клетки, где он связывается с генами-мишенями, модулирующими их экспрессию». После попадания в ядро белки STAT регулируют генную транскрипцию многочисленных медиаторов, участвующих в воспалительном процессе, посредством связывания с определенными сайтами распознавания на ДНК. См., например, публикацию *J. Med. Chem.* 57(12), 5023-38 (2014), приведенную выше. Доступно множество данных, демонстрирующих важность пути JAK/STAT при воспалительных, аутоиммунных заболеваниях и раке. См., например, M. Coskun, et al., *Involvement of JAK/STAT signaling in the pathogenesis of inflammatory bowel disease*, *Pharmacological Research* 76, 1-8 (2013); и J.J. O'Shea, et al., *JAKs and STATs in immunity, immunodeficiency, and cancer*, *The New England Journal of Medicine* 368, 161-70 (2013).

Воспалительные заболевания кишечника, включая болезнь Крона и язвенный колит (UC), характеризуются рецидивирующим воспалением кишечника, нарушением эпителиального барьера и дисбиозом микробиоты. Чрезмерный воспалительный ответ в желудочно-кишечном тракте опосредован несколькими провоспалительными цитокинами, включая TNF α , IFN- γ , IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, IL-21 и IL-23,

которые оказывают влияние на клетки врожденной и адаптивной иммунной системы, включая Т- и В-лимфоциты, эпителиальные клетки, макрофаги и дендритные клетки (DC). См., например, приведенную выше публикацию *Pharmacological Research* 76, 1-8 (2013), S. Danese, et al., JAK inhibition using tofacitinib for inflammatory bowel disease treatment: A hub for multiple inflammatory cytokines, *American Journal of Physiology, Gastrointestinal and Liver Physiology* 310, G155-62 (2016); и M.F. Neurath, Cytokines in inflammatory bowel disease, *Nature Reviews Immunology* 14, 329-42 (2014).

Профилактика и/или уменьшение такого чрезмерного воспалительного ответа являются желательными. В свете механизма такого описанного выше ответа предполагается, что ингибирование JAK (см. изображение на Фиг. 1 в форме зубчатой стрелки, показывающей воздействие универсального ингибитора JAK на сигнальный путь JAK/STAT и воспаление) предотвращает или уменьшает чрезмерный воспалительный ответ. Ингибиторы JAK, которые ингибируют множество таких белков JAK, в настоящем документе называются универсальными ингибиторами JAK. Примеры терапевтических преимуществ такой профилактики или контроля наблюдаются при использовании тофацитиниба, который представляет собой биодоступный при пероральном применении универсальный ингибитор JAK, одобренный в США для лечения ревматоидного артрита и в настоящее время находящийся в клинической разработке в отношении лечения язвенного колита. В клиническом исследовании фазы 2, согласно имеющимся данным, оценивали клиническую эффективность у 194 пациентов с умеренным или тяжелым язвенным колитом. См., например, W.J. Sandborn, et al., Tofacitinib, an oral Janus kinase inhibitor, in active ulcerative colitis, *The New England Journal of Medicine* 367, 616-24 (2012). Опубликованная информация об этом исследовании показывает, что у пациентов, получающих дозы 0,5, 3, 10 и 15 мг два раза в день (BID), частота клинического ответа составляет 32, 48, 61 и 78%, соответственно по сравнению с 42%, наблюдаемыми при использовании плацебо. Дополнительно сообщалось, что вторичная конечная точка клинической ремиссии (балл по шкале Мейо ≤ 2) составляла 13, 33, 48 и 41% по сравнению с 10%, наблюдаемым в группе плацебо. См., например, приведенную выше публикацию *The New England Journal of Medicine* 367, 616-24 (2012). В клиническом исследовании UC фазы 3, согласно имеющимся данным, у 88 из 476 пациентов наблюдалась клиническая ремиссия через 8 недель лечения тофацитинибом (10 мг BID) по сравнению с 10 из 122 пациентов, получавших лечение плацебо. См. W.J. Sandborn, et al. Efficacy and safety of oral tofacitinib as induction therapy in patients with moderate-to-severe ulcerative colitis: results from 2 phase 3 randomised controlled trials, *J. Crohn's Colitis* 10, S15-S (2016). Публикации, относящиеся к болезни Крона, показывают, что тофацитиниб также находился на стадии разработки в отношении лечения CD; однако, по имеющимся сведениям, разработка была прекращена из-за недостаточной клинической эффективности в 4-недельном клиническом исследовании фазы 2 среднетяжелого или тяжелого CD. См. W.J. Sandborn, et al., A phase 2 study of tofacitinib, an oral Janus kinase inhibitor, in patients with Crohn's disease, *Clinical gastroenterology and hepatology: The official clinical practice*

journal of the American Gastroenterological Association 12, 1485-93 e2 (2014). На основании информации, полученной из общедоступной литературы, в настоящее время неясно, связана ли неэффективность тофацитиниба при CD с дизайном клинического исследования, механистическими различиями между UC и CD или с ограничивающими дозу системными неблагоприятными явлениями. См. приведенные выше публикации Pharmacological Research 76, 1-8 (2013); Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association 12, 1485-93 e2 (2014); и C.J. Menet, et al., Triazolopyridines as selective JAK1 inhibitors: from hit identification to GLPG0634, J. Med. Chem. 57, 9323-42 (2014). В свете признаков данного ингибитора JAK желательно найти дополнительные ингибиторы JAK для профилактики и/или уменьшения чрезмерного воспалительного ответа.

В клинических исследованиях фазы 2 и фазы 3 воспалительного заболевания кишечника (ВЗК) с применением тофацитиниба сообщалось о системных неблагоприятных явлениях. См. приведенную выше публикацию The New England Journal of Medicine 367, 616-24 (2012); Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association 12, 1485-93 e2 (2014); и J. Panes, et al. Efficacy and safety of oral tofacitinib for induction therapy in patients with moderate-to-severe Crohn's disease: results of a Phase 2b randomised placebo-controlled trial, J. Crohns Colitis 10, S18-S19 (2016). Эти неблагоприятные явления включают снижение абсолютного числа нейтрофилов (ANC), повышение общего холестерина (липидов низкой и высокой плотности), перфорацию кишечника и инфекцию. Такие неблагоприятные явления согласуются с результатами, наблюдаемыми после лечения тофацитинибом пациентов с ревматоидным артритом (РА) (см., например, J.M. Kremer, et al. The safety and efficacy of a JAK inhibitor in patients with active rheumatoid arthritis: Results of a double-blind, placebo-controlled phase IIa trial of three dosage levels of CP-690,550 versus placebo, Arthritis and Rheumatism 60, 1895-905 (2009)), некоторые из которых, вероятно, обусловлены JAK2-зависимым ингибированием ЕРО, ТРО и колониестимулирующих факторов (csf-2 и GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор)) и/или JAK1-зависимым ингибированием IL-6. См. приведенные выше публикации Arthritis and Rheumatism 60, 1895-905 (2009); и O.H. Nielsen, et al., Will novel oral formulations change the management of inflammatory bowel disease? Expert Opinion on Investigational Drugs 25, 709-18 (2016).

Как показано на Фиг. 1, перорально вводимое лекарственное средство может в принципе проходить по желудочно-кишечному тракту от полости рта к пищеводу (1), желудку (2) через двенадцатиперстную кишку (3) к тощей кишке (4), затем к подвздошной кишке (5), а затем к толстой кишке (6). Относительные площади всасывания для таких различных частей составляют приблизительно 60% для тощей кишки (4), приблизительно 26% для подвздошной кишки (5) и приблизительно 13% для толстой кишки (6). Всасывание в этих различных областях желудочно-кишечного тракта может привести к началу системного распределения, что в свою очередь может привести к нежелательным

побочным эффектам. Желудочно-кишечный тракт имеет очень большую площадь поверхности. См., например, H.F. Helander, et al., Surface area of the digestive tract - revisited, *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 49(6), 681-89 (2014); и K.J. Filipski, et al., Intestinal Targeting of Drugs: Rational Design Approaches and Challenges *Current Topics in Medicinal Chemistry* 13, 776-802 (2013). Такая обширная площадь поверхности всасывания способствует системному распределению веществ, которые могут проходить через стенки различных частей желудочно-кишечного тракта и в кровяное русло, и в свою очередь может приводить к нежелательным побочным эффектам системно-распределенного вещества. Системное распределение для упрощения представлено пунктирными стрелками на Фиг. 1 в виде проникновения через стенки толстой кишки, но такое распределение не ограничивается стенками толстой кишки, поскольку оно также может происходить через стенки других частей желудочно-кишечного тракта, показанных на Фиг. 1, например стенки тонкого кишечника. Следует также понимать, что пунктирные стрелки на Фиг. 1 представляют собой системное распределение за пределами желудочно-кишечного тракта, поскольку известно, что такое системное распределение происходит в связи с физиологией желудочно-кишечного тракта, и что такие пунктирные стрелки просто схематически иллюстрируют такое системное распределение. Описание ткани кишечника, транспорта в кишечнике и метаболизма см., например, в приведенной выше публикации *Current Topics in Medicinal Chemistry* 13, 777-80 (2013).

Одной из основных причин сокращения потенциальных лекарственных средств является безопасность и переносимость. См., например, I. Kola, et al., Can the pharmaceutical industry reduce attrition rates? *Nature Reviews Drug Discovery* 3, 711-5 (2004); M.J. Waring, et al., An analysis of the attrition of drug candidates from four major pharmaceutical companies. *Nature Reviews Drug Discovery* 14, 475-86 (2015); M. Hay, et al., Clinical development success rates for investigational drugs, *Nature Biotechnology* 32, 40-51 (2014); и M.E. Bunnage, Getting pharmaceutical R&D back on target, *Nature Chemical Biology* 7, 335-9 (2011). Повышение локальной тканевой концентрации соединения в нужной ткани-мишени и одновременное ограничение воздействия на другие ткани может уменьшать нежелательные побочные эффекты. См., например, V.P. Torchilin, Drug targeting. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences* 11 Suppl 2, S81-91 (2000). Эта концепция получила широкое признание для некоторых заболеваний и тканей, таких как глаз (см., например, R. Gaudana, et al., Ocular drug delivery, *The AAPS Journal* 12, 348-60 (2010)), кожа (см., например, R. Folster-Holst, et al., Topical hydrocortisone 17-butyrate 21-propionate in the treatment of inflammatory skin diseases: pharmacological data, clinical efficacy, safety and calculation of the therapeutic index, *Die Pharmazie* 71, 115-21 (2016)) и легкое (см., например, J.S. Patil, et al., Pulmonary drug delivery strategies: A concise, systematic review, *Lung India: official organ of Indian Chest Society* 29, 44-9 (2012)). Аналогично этим подходам нацеливания на ткань увеличение концентрации лекарственного средства в кишечнике с одновременным ограничением нежелательного содержания лекарственного средства в

других тканях может увеличить диапазон безопасности. См., например, I.R. Wilding, et al., Targeting of drugs and vaccines to the gut, *Pharmacology & Therapeutics* 62, 97-124 (1994); D. Charriot, Non-systemic drugs: a critical review, *Current Pharmaceutical Design* 18, 1434-45 (2012); и *Current Topics in Medicinal Chemistry* 13, 780 (2013), приведенные выше. Тканеселективная модуляция мишеней в тканях желудочно-кишечного тракта соединениями, обладающими ограниченным системным воздействием, может потенциально улучшить терапевтический индекс таких соединений в отношении лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, включая язвенный колит и болезнь Крона. См., например, O. Wolk, et al., New targeting strategies in drug therapy of inflammatory bowel disease: mechanistic approaches and opportunities, *Expert Opin. Drug Deliv.* 10 (9), 1275-86 (2013). Термин «системные эффекты» используется в настоящем документе для обозначения системного воздействия и последствий любого такого системного воздействия, даже если они не всегда одинаковы.

Поскольку некоторые известные ингибиторы JAK имеют нежелательные эффекты, связанные с их системными эффектами, желательно найти новые ингибиторы JAK в качестве активных веществ для профилактики и/или уменьшения чрезмерного воспалительного ответа, системные эффекты которых отсутствуют или снижены. Кроме того, желательно найти ингибиторы JAK, оказывающие локальное действие на ткани желудочно-кишечного тракта, для лечения таких состояний, как, без ограничений, ВЗК, со сниженными системными эффектами. Из-за той роли, которую играют различные белки JAK, также желательно найти универсальные ингибиторы JAK.

Нацеливание на ткань кишечника может, в принципе, осуществляться в соответствии с различными стратегиями. См., например, приведенную выше публикацию *Current Topics in Medicinal Chemistry* 13, 780-95 (2013), относящуюся к подходам, включающим основанные на физико-химических свойствах, опосредованные транспортом, основанные на пролекарствах и основанные на составе и технологии подходы. Однако считается, что существует «ряд проблем и недостатков, которые характерны для программ нацеливания на ткань» и, в частности, для нацеленных на кишечник соединений, как описано в приведенной выше публикации *Current Topics in Medicinal Chemistry* 13, 795 (2013).

Условия в отношении ВЗК могут распространяться на различные части желудочно-кишечного тракта. Хотя для упрощения в нисходящей ободочной кишке на Фиг. 1 показан только участок (10) заболевания толстой кишки, воспалительное заболевание кишечника может поражать любую часть желудочно-кишечного тракта, как в случае болезни Крона, или прямую кишку и толстую кишку, как в случае язвенного колита. См., например, NIDDK (National Institute of Diabetes, and Digestive and Kidney Diseases, National Institutes of Health, US Department of Health and Human Services, <<http://spotidoc.com/doc/71780/crohns-disease---national-digestive-diseases-information>>, accessed Nov. 29, 2016. Участки ВЗК могут быть, например, подвздошными (локализация в подвздошной кишке), подвздошно-ободочными (поражение частей подвздошной и

толстой кишок) и ободочными (локализация в толстой кишке, как показано в качестве примера на Фиг. 1 в нисходящей ободочной кишке). Таким образом, в некоторых вариантах заболевания желательной может быть доставка лекарственного средства по всей или большей части желудочно-кишечного тракта. В других вариантах заболевания может быть желательным повысить локальную концентрацию в любой конкретной части желудочно-кишечного тракта. В еще одних вариантах желательной может быть комбинация этих двух форм доставки в различные участки в кишечном тракте.

Один из таких вариантов заключается в доставке активного вещества, которое оказывает ограниченное системное воздействие из-за ограниченного всасывания при прохождении через желудочно-кишечный тракт, как показано сплошными стрелками на Фиг. 1, и одновременно может действовать в различных участках желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), т. е. обладает признаком, называемым в настоящем документе «локальными ЖК эффектами». В связи со сниженными системными эффектами для такого вещества можно оценивать более широкий диапазон доз. Было бы также желательно, чтобы такое активное вещество имело низкую проницаемость, чтобы через стенку кишечника в сосудистое русло проходило только небольшое его количество для ограничения нежелательных побочных эффектов при достижении веществом нецелевых областей.

Кроме того, ингибиторы JAK могут рассматриваться в качестве потенциальных средств для лечения других заболеваний. Их можно использовать для лечения глазных болезней, включая синдром сухого глаза (B. Colligris, et al., Recent developments on dry eye disease treatment compounds, Saudi J. Ophthalmol. 28(1), 19-30 (2014)), миелопролиферативных новообразований, миелопролиферативных заболеваний (E.J. Baxter, et al., Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders, Lancet 365, 1054-1061 (2005); C. James, et al., A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera, Nature 434, 1144-1148 (2005); R. Kralovics, et al., A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders, N. Engl. J. Med. 352, 1779-1790 (2005); R.L. Levine, et al., Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia, and myeloid metaplasia with myelofibrosis, Cancer Cell 7, 387-397 (2005); G. Wernig, et al., Efficacy of TG101348, a selective JAK2 inhibitor, in treatment of a murine model of JAK2V617F-induced polycythemia vera, Cancer Cell 13, 311-320 (2008)), миелопролиферативного синдрома, острого миелолейкоза, синдрома системного воспалительного ответа, ювенильного ревматоидного артрита с системным началом, ювенильного идиопатического артрита (H.W. Li, et al., Effect of miR-19a and miR-21 on the JAK/STAT signaling pathway in the peripheral blood mononuclear cells of patients with systemic juvenile idiopathic arthritis, Exp. Ther. Med. 11(6), 2531-2536 (2016)), реакций гиперчувствительности типа III, гиперчувствительности типа IV, воспаления аорты, иридоциклита/увеита/неврита зрительного нерва, ювеноальной спинальной мышечной атрофии, диабетической ретинопатии, диабетического заболевания почек, включая диабетическую нефропатию (F.C. Brosius, et al., JAK inhibition in the

treatment of diabetic kidney disease, *Diabetologia* 59(8), 1624-7, (2016); C.C. Berthier, et al., Enhanced expression of Janus kinase-signal transducer and activator of transcription pathway members in human diabetic nephropathy, *Diabetes* 58(2), 469-77, (2009); E.N. Gurzov, et al., The JAK/STAT pathway in obesity and diabetes, *FEBS J.* 283(16), 3002-15 (2016)), микроангиопатии, воспаления (M. Kopf, et al., Averting inflammation by targeting the cytokine environment, *Nature Reviews Drug Discovery* 9, 703-718 (2010); J.J. O'Shea, et al., A new modality for immunosuppression: targeting the JAK/STAT pathway, *Nature Rev. Drug Discov.* 3, 555-564 (2004)), хронического воспаления, воспалительного заболевания кишечника, включая язвенный колит (UC) и болезнь Крона (R.H. Duerr, et al., A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene, *Science* 314, 1461-1463 (2006); M. Coskun, et al., Involvement of JAK/STAT signaling in the pathogenesis of inflammatory bowel disease, *Pharmacol. Res.* 76, 1-8 (2013); M.J. Waldner, et al., Master regulator of intestinal disease: IL-6 in chronic inflammation and cancer development, *Semin. Immunol.* 26 (1), 75-9 (2014); S. Danese, et al., JAK inhibition using tofacitinib for inflammatory bowel disease treatment: a hub for multiple inflammatory cytokines, *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 310 (3), G155-62 (2016); W. Strober, et al., Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases, *Gastroenterology* 140, 1756-1767 (2011)), аллергических заболеваний, витилиго, атопического дерматита (R. Bissonnette, et al., Topical tofacitinib for atopic dermatitis: a phase IIa randomized trial, *Br. J. Dermatol.* 175 (5), 902-911 (2016); W. Amano, et al., JAK inhibitor JTE-052 regulates contact hypersensitivity by downmodulating T cell activation and differentiation, *J. Dermatol. Sci.* 84, 258-265 (2016); T. Fukuyama, et al., Topically Administered Janus-Kinase Inhibitors Tofacitinib and Oclacitinib Display Impressive Antipruritic and Anti-Inflammatory Responses in a Model of Allergic Dermatitis, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 354(3), 394-405 (2015)), очаговой алопеции (A.K. Alves de Medeiros, et al., JAK3 as an Emerging Target for Topical Treatment of Inflammatory Skin Diseases, *PLoS One* 11(10) (2016); L. Xing, et al., Alopecia areata is driven by cytotoxic T lymphocytes and is reversed by JAK inhibition, *Nat. Med.* 20(9), 1043-9 (2014)), дерматита, склеродермии, острого или хронического иммунного заболевания, связанного с трансплантацией органов (P.S. Changelian, et al. Prevention of organ allograft rejection by a specific Janus kinase 3 inhibitor, *Science* 302, 875-878 (2003); F. Behbod, et al. Concomitant inhibition of Janus kinase 3 and calcineurin-dependent signaling pathways synergistically prolongs the survival of rat heart allografts, *J. Immunol.* 166, 3724-3732 (2001); S. Busque, et al., Calcineurin-inhibitor-free immunosuppression based on the JAK inhibitor CP-690,550: a pilot study in de novo kidney allograft recipients, *Am. J. Transplant.* 9, 1936-1945 (2009)), псориатической артропатии, артропатии при язвенном колите, аутоиммунного буллезного заболевания, аутоиммунной гемолитической анемии, ревматоидного артрита (J.M. Kremer, et al., A randomized, double-blind placebo-controlled trial of 3 dose levels of CP-690,550 versus placebo in the treatment of active rheumatoid arthritis, *Arthritis Rheum.* 54 (annual meeting abstract), L40 (2006); W. Williams, et al., A randomized placebo-controlled study of INCB018424, a selective Janus

kinase1&2 (JAK1&2) inhibitor in rheumatoid arthritis (RA), *Arthritis Rheum.* 58, S431 (2008); N. Nishimoto, et al., Study of active controlled monotherapy used for rheumatoid arthritis, an IL-6 inhibitor (SAMURAI): evidence of clinical and radiographic benefit from an x ray reader-blinded randomised controlled trial of tocilizumab, *Ann. Rheum. Dis.* 66(9), 1162-7 (2007)), интерстициального легочного заболевания, ассоциированного с ревматоидным артритом, системной красной волчанки (A. Goropevšek, et al., The Role of STAT Signaling Pathways in the Pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus, *Clin. Rev. Allergy Immunol.* (предварительная публикация в Интернете) < <http://www.docguide.com/role-stat-signaling-pathways-pathogenesis-systemic-lupus-erythematosus?tsid=5> > May 23, 2016; M. Kawasaki, et al., Possible role of the JAK/STAT pathways in the regulation of T cell-interferon related genes in systemic lupus erythematosus, *Lupus.* 20 (12), 1231-9 (2011); Y. Furumoto, et al., Tofacitinib ameliorates murine lupus and its associated vascular dysfunction, *Arthritis Rheumatol.*, (on-line pre-publication) < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27429362> > Jul 18, 2016)), легочного заболевания, ассоциированного с системной красной волчанкой, легочного заболевания, ассоциированного с дерматомиозитом/полимиозитом (K. Vale, Targeting the JAK/STAT pathway in the treatment of 'Th2-high' severe asthma, *Future Med. Chem.* 8(4), 405-19 (2016)), анкилозирующего спондилита (AS) (C. Thompson, et al., Anti cytokine therapy in chronic inflammatory arthritis, *Cytokine* 86, 92-9 (2016)), AS-ассоциированного легочного заболевания, аутоиммунного гепатита, аутоиммунного гепатита типа 1 (классический аутоиммунный или волчаночный гепатит), аутоиммунного гепатита типа 2 (гепатит с антителами к микросомам печени и почек), аутоиммунно-опосредованной гипогликемии, псориаза (C.L. Leonardi, et al., Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 76-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 1), *Lancet* 371, 1665-1674 (2008); G. Chan, et al., Dose-dependent reduction in psoriasis severity as evidence of immunosuppressive activity of an oral Jak3 inhibitor in humans, *Am. J. Transplant.* 6, S87 (2006); K.A. Papp, et al., Efficacy and safety of tofacitinib, an oral Janus kinase inhibitor, in the treatment of psoriasis: a phase 2b randomized placebo-controlled dose-ranging study, *Br. J. Dermatol.* 167, 668-677 (2012); M. Cargill, et al. A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoriasis-risk genes, *Am. J. Hum. Genet.* 80, 273-290 (2007)), псориаза типа 1, псориаза типа 2, бляшковидного псориаза, среднетяжелого или тяжелого хронического бляшковидного псориаза, аутоиммунной нейтропении, аутоиммунной реакции против сперматозоидов, рассеянного склероза (все подтипы, B.M. Segal, et al., Repeated subcutaneous injections of IL12/23 p40 neutralising antibody, ustekinumab, in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a phase II, double-blind, placebo-controlled, randomised, dose-ranging study, *Lancet Neurol.* 7, 796-804 (2008); Z. Yan, et al., Role of the JAK/STAT signaling pathway in regulation of innate immunity in neuroinflammatory diseases, *Clin. Immunol.* (предварительная публикация в Интернете) <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27713030>>, accessed Oct 3, 2016; E.N. Benveniste, et al., Involvement of the janus kinase/signal transducer and activator of transcription signaling

pathway in multiple sclerosis and the animal model of experimental autoimmune encephalomyelitis, *J. Interferon Cytokine Res.* 34 (8), 577-88 (2014).; Y. Liu, et al., Therapeutic efficacy of suppressing the Jak/STAT pathway in multiple models of experimental autoimmune encephalomyelitis, *J. Immunol.* 192(1), 59-72 (2014)), острой ревматической лихорадки, синдрома Шегрена, легочного заболевания, ассоциированного с синдромом/болезнью Шегрена (T. Fujimura, et al., Significance of Interleukin-6/STAT Pathway for the Gene Expression of REG Ia, a New Autoantigen in Sjögren's Syndrome Patients, in Salivary Duct Epithelial Cells, *Clin. Rev. Allergy Immunol.* (предварительная публикация в Интернете) < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27339601> > Jun 24, 2016), аутоиммунной тромбоцитопении, нейровоспаления, включая болезнь Паркинсона (публикация Z. Yan, et al., Oct. 3, 2016, приведенная выше). Согласно имеющимся данным ингибиторы JAK, кроме воспалительных заболеваний, применяются для лечения рака. (S.J. Thomas, et al., The role of JAK/STAT signaling in the pathogenesis, prognosis and treatment of solid tumors, *British J. Cancer* 113, 365-71 (2015); A. Kontzias, et al., Jakinibs: A new class of kinase inhibitors in cancer and autoimmune disease, *Current Opinion in Pharmacology*, 12(4), 464-70 (Aug. 2012); M. Pesu, et al., Therapeutic targeting of JANUS kinases, *Immunological Reviews*, 223, 132-42 (Jun. 2008); P. Norman, Selective JAK inhibitors in development for rheumatoid arthritis, *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 23(8), 1067-77 (Aug. 2014)). Кроме того, ингибиторы JAK можно использовать для профилактики колоректального рака, поскольку снижение воспаления в толстой кишке может предотвратить рак в этом органе.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к следующим соединениям:

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамид;

2-((1r,4r)-4-(2-(1H-имидазол-4-ил)имидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-1(6H)-ил)циклогексил)ацетонитрил;

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(циклопропилметил)ацетамид;

N-(2-цианоэтил)-2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетамид;

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)ацетамид;

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)ацетамид;

N-(2-циано-2-метилпропил)-2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетамид;

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-((1-гидроксициклобутил)метил)ацетамид;

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)ацетамид;

N-(4-(цианометил)бицикло[2.2.1]гептан-1-ил)-2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетамид;

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(1H-пиразол-3-ил)ацетамид;

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-((1-гидроксициклопропил)метил)ацетамид; и

фармацевтически приемлемым солям таких соединений и их комбинациям.

Термины «соединения изобретения» и «соединение изобретения» включают по меньшей мере одно соединение, выбранное из вышеуказанной группы соединений, находящееся либо в не содержащей растворителя форме, либо в любой одной из гидратированных и/или сольватированных форм, как показано в настоящем документе.

Варианты осуществления настоящего изобретения относятся к соединениям, содержащим их фармацевтическим композициям, способам их получения и очистки, способам их применения в качестве ингибиторов JAK и способам их применения в лечении заболеваний, расстройств и состояний, опосредованных JAK.

Варианты осуществления настоящего изобретения демонстрируют эффекты универсального ингибирования JAK, а также локальные ЖК эффекты и слабые или практически отсутствующие системные эффекты. Более того, варианты осуществления настоящего изобретения с такими признаками можно вводить перорально.

Дополнительный вариант осуществления настоящего изобретения представляет собой способ лечения пациента, у которого диагностировано заболевание, расстройство или медицинское состояние или который страдает от заболевания, расстройства или медицинского состояния, опосредованного JAK, с помощью соединений изобретения или активных агентов изобретения.

Дополнительные варианты осуществления, признаки и преимущества изобретения будут очевидны из следующего подробного описания и практического осуществления изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

Фигура 1

Схематическое представление части желудочно-кишечного тракта человека в виде увеличенного изображения без соблюдения масштаба. Двенадцатиперстная кишка (3), тощая кишка (4) и подвздошная кишка (5) (все показаны схематически) образуют тонкий кишечник после желудка (2) и пищевода (1). Толстый кишечник содержит ободочную кишку (6), которая в свою очередь включает слепую кишку (7) и аппендикс (не показан), восходящую ободочную кишку, поперечную ободочную кишку, нисходящую ободочную кишку, сигмовидную ободочную кишку (петля в ней не показана) и прямую кишку (11). Поперечная ободочная кишка представляет собой участок, находящийся между правым (8) и левым (9) изгибами толстой кишки, восходящая ободочная кишка проходит от слепой кишки (7) к правому изгибу (8) толстой кишки, а нисходящая ободочная кишка

проходит от левого изгиба (9) толстой кишки к прямой кишке (11). Различные типы распределения для удобства показаны в отношении толстой кишки, но они также могут относиться к другим частям желудочно-кишечного тракта. Системное распределение для упрощения представлено пунктирными стрелками на Фиг. 1 в виде проникновения через стенки толстой кишки, но такое распределение не ограничивается стенками толстой кишки, поскольку оно также может происходить через стенки других частей желудочно-кишечного тракта, показанных на Фиг. 1, например стенки тонкого кишечника. Распределение с некоторым проникновением в ткань представлено для простоты сплошными стрелками на Фиг. 1, которые проникают в ткань толстой кишки, но такое проникновение не ограничивается тканью толстой кишки, поскольку оно также может происходить в ткани других частей желудочно-кишечного тракта, показанных на Фиг. 1, например ткани тонкого кишечника. Эффект варианта осуществления ингибитора JAK в соответствии с настоящим изобретением на фигуре показан в виде прерывания сигнального пути JAK/STAT, который в противном случае приведет к воспалению, связанному с воспалительным заболеванием кишечника (ВЗК), такому как болезнь Крона или язвенный колит. В качестве примера, но не в качестве ограничения, участок заболевания с целью иллюстрации показан в виде участка толстой кишки (10) в нисходящей ободочной кишке.

Фигура 2

Схематическое представление, демонстрирующее получение/взаимный переход вариантов осуществления соединения пр. 1. Варианты осуществления 19-36, 38 и 39 были получены из варианта осуществления 1s, а варианты осуществления 37 и 40-53 были получены из варианта осуществления 19, как показано на этой фигуре пунктирной линией со стрелкой и условными обозначениями «19-53» в блоке, показанном на той же фигуре.

Фигура 3

Наложение дифрактограмм высокопроизводительной порошковой рентгеновской дифрактометрии (HT-XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения пр. 1, снизу вверх: 1s, 2 (получен путем уравнивания при комнатной температуре в 1,4-диоксане), 3b (получен путем термоциклирования в циклогексаноне), 1b+4 (получен путем охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в смеси метанол/вода (50/50, об./об.), 5 (получен путем термоциклирования в хлороформе), 6 (получен путем охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в ацетонитриле), 7 (получен из 1s+7, который в свою очередь получен путем уравнивания раствора в гептане), 7 (получен путем десольватации 1s+7, который в свою очередь получен путем уравнивания раствора в гептане), 8 (получен путем десольватации варианта осуществления 5 путем циклирующей дифференциальной сканирующей калориметрии)) и 9 (получен путем десольватации варианта осуществления 2 путем циклирующей дифференциальной сканирующей калориметрии).

Фигура 4

Наложение дифрактограмм высокопроизводительной порошковой рентгеновской

дифрактометрии (HT-XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения пр. 1, снизу вверх: 1s (исходный материал), 1a (получен после того, как несколько форм образцов варианта осуществления 1s были подвергнуты воздействию условий ускоренного старения (ААС) (40 °С и относительная влажность 70%)), 1b (получен путем уравнивания раствора при комнатной температуре в толуоле), 1c (получен путем охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в смеси этилацетат/1,4-диоксан (50/50, об./об.)), 1d (получен путем охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в смеси ацетонитрил/хлороформ (50/50, об./об.)), 1e (получен путем охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в смеси этилацетат/1,4-диоксан (50/50, об./об.)), 1f (получен путем уравнивания раствора при комнатной температуре в п-ксилоле), 1g (получен путем уравнивания раствора при 50 °С в анизоле), 1h (получен путем охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в п-ксилоле).

Фигура 5

Наложение дифрактограмм высокопроизводительной порошковой рентгеновской дифрактометрии (HT-XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения пр. 1, снизу вверх: 1s, 3b (получен путем термоциклирования в циклогексаноне), 3c (получен путем охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в 1,4-диоксане), 3d (получен путем охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в тетрагидрофуране) и 3e (получен путем термоциклирования в изобутаноле).

Фигура 6

Дифрактограммы HR-XRPD варианта осуществления 1s в его исходной форме (“1s”) после четырехдневного воздействия температуры 40°С и относительной влажности 70% (“1s 70 ОБ”) и после четырехдневного воздействия температуры 25°С и относительной влажности 100% (вариант осуществления 10 или “10”).

Фигура 7А

Дифрактограмма порошковой рентгеновской дифрактометрии (XRPD) варианта осуществления 11.

Фигура 7В

Дифрактограмма порошковой рентгеновской дифрактометрии (XRPD) варианта осуществления 12.

Фигура 7С

Дифрактограмма порошковой рентгеновской дифрактометрии (XRPD) варианта осуществления 13.

Фигура 7D

Дифрактограмма порошковой рентгеновской дифрактометрии (XRPD) варианта осуществления 14.

Фигура 7Е

Дифрактограмма порошковой рентгеновской дифрактометрии (XRPD) варианта осуществления 11b.

Фиг. 8

Наложение дифрактограмм порошковой рентгеновской дифрактометрии (XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения Пр. 1, снизу вверх: вариант осуществления 17, вариант осуществления 18, вариант осуществления 15 и вариант осуществления 16.

Фигура 9

Модулированный профиль DSC (“mDSC”) для варианта осуществления 19, показывающий точку стеклования (T_g) при 115, 3 °C («Rev» метка на оси ординат относится к «обратимому»).

Фигура 10A

TGA (термогравиметрический анализ) варианта осуществления 18, демонстрирующий потерю 6,5% мас./мас. в диапазоне от 30°C до 170 °C.

Фигура 10B

ДСК (дифференциальная сканирующая калориметрия) варианта осуществления 18, демонстрирующая эндотермический показатель 52,8 Дж/г от 45°C до 90 °C, эндотермический показатель 31,0 Дж/г при 140,6 °C, экзотермический показатель 24,3 Дж/г при 168.8°C и эндотермический показатель 31.3 Дж/г при 200,0 °C.

Фигура 11

Наложение дифрактограмм порошковой рентгеновской дифрактометрии (XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения Пр. 1, снизу вверх: вариант осуществления 20 и вариант осуществления 21.

Фигура 12A

TGA по варианту осуществления 17, демонстрирующая потерю 4,2% мас./мас. в диапазоне от 30°C до 100 °C.

Фигура 12B

DSC по варианту осуществления 17, демонстрирующая эндотермический показатель 90,3 Дж/г при температуре от 45°C до 100 °C, эндотермический показатель 35,5 Дж/г при 143,8 °C, эндотермический показатель 1,6 Дж/г при 168.3 °C, экзотермический показатель 3,8 Дж/г при 178°C и эндотермический показатель 9,2 Дж/г при 200,0 °C.

Фигура 13

Наложение дифрактограмм порошковой рентгеновской дифрактометрии (XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения Пр. 1, снизу вверх: вариант осуществления 31, вариант осуществления 30, вариант осуществления 17, вариант осуществления 29, вариант осуществления 16, вариант осуществления 26, вариант осуществления 25, вариант осуществления 18, вариант осуществления 24, вариант осуществления 23, вариант осуществления 27 и вариант осуществления 22.

Фигура 14

Наложение дифрактограмм порошковой рентгеновской дифрактометрии (XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения Пр. 1, снизу вверх: вариант

осуществления 32, вариант осуществления 33, вариант осуществления 23, вариант осуществления 34, вариант осуществления 35, вариант осуществления 36, вариант осуществления 25, вариант осуществления 38, вариант осуществления 17, вариант осуществления 39 и вариант осуществления 28.

Фигура 15

Наложение дифрактограмм порошковой рентгеновской дифрактометрии (XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения Пр. 1, снизу вверх: вариант осуществления 46, вариант осуществления 45, вариант осуществления 44, вариант осуществления 43, вариант осуществления 42, вариант осуществления 41, вариант осуществления 40 и вариант осуществления 37.

Фигура 16

Наложение дифрактограмм порошковой рентгеновской дифрактометрии (XRPD) для следующих вариантов осуществления соединения Пр. 1, снизу вверх: вариант осуществления 53, вариант осуществления 52, вариант осуществления 51, вариант осуществления 50, вариант осуществления 49, вариант осуществления 48 и вариант осуществления 47.

Фигура 17А

TGA по варианту осуществления 11, демонстрирующая потерю 4,7% мас./мас. в диапазоне от 155°C до 185 °C.

Фигура 17В

DSC по варианту осуществления 11, демонстрирующая первый эндотермический показатель 57,8 Дж/г при 167,8°C из-за потери растворителя и второй эндотермический показатель 90,8 Дж/г при 194,5°C из-за расплавления образца.

Фигура 18

График изотермы гравиметрической сорбции паров (GVS) по варианту осуществления 11, демонстрирующий изменение массы 0,66% при ОВ 0-90%. Изменение массы на оси ординат относится к массе исходного образца.

Фигура 19А

TGA по варианту осуществления 6, демонстрирующая потерю массы при температурах выше 260 °C, причем потерю массы интерпретируют как связанную с разложением образца.

Фигура 19В

DSC по варианту осуществления 6, демонстрирующая эндотерму 95,8 Дж/г при 194,4°C из-за расплава образца.

Фигура 20А

TGA по варианту осуществления 8, демонстрирующая потерю 1,4% мас.в диапазоне от 40°C до 240 °C, что соответствует потере 0,07 моль 1,4-диоксана.

Фигура 20В

DSC по варианту осуществления 8, демонстрирующая эндотерму 58,6 Дж/г при 199,7°C из-за расплава образца.

Фигура 21А

TGA по варианту осуществления 2, демонстрирующая потерю 7,4% мас./мас. в диапазоне от 75°C до 110 °C, потерю 11,9% мас./мас. в диапазоне от 110°C до 130 °C, потерю 2,0% мас./мас. в диапазоне от 130°C до 165°C и потерю 2,5% мас./мас. в диапазоне от 165°C до 210 °C.

Фигура 21В

DSC по варианту осуществления 2, демонстрирующая эндотермический показатель 86,2 Дж/г при 92,8 °C, эндотермический показатель 11,1 Дж/г при 111,5 °C, эндотермический показатель 45,5 Дж/г при 149,0 °C, экзотермический показатель 20,6 Дж/г при 165,2 °C, эндотермический показатель 3,7 Дж/г при 177,1 °C, эндотермический показатель 43,0 Дж/г при 200,2°C и эндотермический показатель 29,3 Дж/г при 220,6 °C.

Фигура 22А

TGA по варианту осуществления 9.

Фигура 22В

DSC по варианту осуществления 9, демонстрирующая эндотермический показатель 104,4 Дж/г при 221,8 °C.

Фигура 23А

TGA по варианту осуществления 16, демонстрирующая потерю 5,2% мас./мас. в диапазоне от 30°C до 105 °C.

Фигура 23В

DSC по варианту осуществления 16, демонстрирующая эндотермический показатель 48,4 Дж/г при температуре от 35°C до 90 °C, эндотермический показатель 41,8 Дж/г при 147,0 °C, эндотермический показатель 1,0 Дж/г при 166,6 °C, экзотермический показатель 4,4 Дж/г при 180,7°C и эндотермический показатель 7,7 Дж/г при 201,1 °C.

Фигура 24

Порошковая рентгеновская дифракция (XRPD) варианта осуществления 11 (обозначена как “11”) и порошковая рентгеновская дифракция (XRPD) варианта осуществления 11 после эксперимента с переменной температурой (VT)-XRPD (обозначена как “11 post VT”) и порошковая рентгеновская дифракция (XRPD) варианта осуществления 6.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Термины «включающий», «содержащий», «состоящий из» используются в открытом, неограниченном значении.

Любая из приведенных в настоящем документе формул предназначена для представления как соединений со структурами, показанными данной структурной формулой, так и некоторых вариаций или форм таких структур. Некоторые структуры могут существовать в виде таутомеров. Кроме того, в качестве частей настоящего изобретения также предусмотрены аморфная форма, гидраты, сольваты, полиморфы и псевдополиморфы таких соединений настоящего изобретения и их смеси. Варианты осуществления настоящего изобретения находятся в не содержащей растворителя форме

или в любой из гидратированных и/или сольватированных форм, как показано в настоящем документе.

Упоминание соединения в настоящем документе означает ссылку на любое из следующего: (а) буквально указанную форму такого соединения и (b) любую из форм такого соединения в той среде, где соединение находится на момент упоминания. Например, упоминание в настоящем документе такого соединения, как $R-COOH$, включает ссылку на любую из следующих форм, например $R-COOH_{(тв.)}$, $R-COOH_{(раств.)}$ и $R-COO^{-}_{(раств.)}$. В этом примере $R-COOH_{(тв.)}$ относится к твердому соединению и может, например, содержаться в таблетке или какой-либо другой твердой фармацевтической композиции или препарате; $R-COOH_{(раств.)}$ относится к недиссоциированной форме соединения в растворителе; $R-COO^{-}_{(раств.)}$ относится к диссоциированной форме соединения в растворителе, такой как диссоциированная форма соединения в водной среде, независимо от того, получена ли диссоциированная форма из $R-COOH$, его соли или любой другого вещества, которое дает $R-COO^{-}$ после диссоциации в рассматриваемой среде. В другом примере такое выражение, как «действие вещества на соединение формулы $R-COOH$ », означает действие такого вещества на форму или формы соединения $R-COOH$, которая существует или которые существуют в той среде, где осуществляется такое воздействие. В еще одном примере такое выражение, как «реакция вещества с соединением формулы $R-COOH$ », относится к реакции: (а) такого вещества в соответствующей химической форме или формах, которая существует или которые существуют в той среде, где осуществляется описываемая реакция; с (b) соответствующей химической формой или формами соединения $R-COOH$, которая существует или которые существуют в той среде, где осуществляется такая реакция. Таким образом, если такое вещество находится, например, в водной среде, подразумевается, что соединение $R-COOH$ находится в той же среде и, следовательно, на такое вещество действуют такие формы, как $R-COOH_{(водн.)}$ и/или $R-COO^{-}_{(водн.)}$, где нижний индекс «(водн.)» означает «водный» в соответствии с его общепринятым значением в химии и биохимии. В этих примерах номенклатуры выбрали функциональную группу карбоновой кислоты; однако этот выбор не является сознательным ограничением, а является всего лишь иллюстрацией. Подразумевается, что аналогичные примеры могут быть приведены и для иных функциональных групп, включая, без ограничений, такие группы, как гидроксильная группа, азотные основные группы, например, как в аминах, а также любые другие группы, которые известным образом взаимодействуют или перестраиваются в содержащей соединение среде. Такие взаимодействия и перестройки включают, без ограничений, диссоциацию, ассоциацию, таутомерию, сольволиз, включая гидролиз, сольватацию, включая гидратацию, протонирование и депротонирование. В настоящем документе не приводятся дальнейшие примеры в этой связи, поскольку эти взаимодействия и перестройки в каждой конкретной среде хорошо известны любому специалисту в данной области.

Любая из приведенных в настоящем документе формул также представляет как

немеченные, так и меченные изотопами формы соединений. Меченные изотопами соединения имеют структуры, показанные представленными в настоящем документе формулами, при этом исключение заключается в замещении одного или более атомов атомом, имеющим выбранную атомную массу или массовое число в обогащенной форме. Примеры изотопов, которые могут быть введены в соединения настоящего изобретения в не встречающейся в природе форме, включают в себя изотопы водорода, углерода, азота и кислорода, такие как ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O и ^{17}O соответственно. Такие меченные изотопами соединения можно использовать в метаболических исследованиях (предпочтительно с ^{14}C), кинетических исследованиях реакций (например, с дейтерием (т. е. D или ^2H); или тритием (т. е. T или ^3H)), способах обнаружения или визуализации [таких как позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ) или однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ)], включая анализы распределения лекарств или субстратов в тканях, или при радиотерапии пациентов. В частности, соединения, меченные ^{18}F или ^{11}C , могут оказаться особенно предпочтительными для исследований способами ПЭТ или ОФЭКТ. Кроме того, замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий (т. е. ^2H), может обеспечить некоторые лечебные преимущества вследствие большей метаболической стабильности соединений, например большего локального периода полужизни *in vivo* или сниженной необходимой дозировки. Соединения настоящего изобретения, меченные изотопами, можно по существу получать путем проведения процедур, описанных ниже в схемах или примерах и способах приготовления, которые описаны ниже, путем замещения легкодоступного реагента, не содержащего меченных изотопами атомов, реагентом с мечеными изотопами атомами.

Термин «таутомеры» относится к соединениям, которые представляют собой взаимозаменяемые формы структуры определенного соединения и различаются по смещению атомов водорода и электронов. Таким образом, две структуры, имеющие элемент Н в различных положениях, могут находиться в равновесии без нарушения правил валентности. Например, енолы и кетоны являются таутомерами, поскольку они быстро превращаются друг в друга при обработке кислотой или основанием.

При описании любой приведенной в настоящем документе формулы выбор конкретной функциональной группы из списка возможных вариантов для указанной переменной не означает определение такого выбора варианта для переменной в других формулах. Иными словами, если какая-либо переменная присутствует в формуле более чем в одном месте, то выбор варианта из указанного списка в одном месте не зависит от выбора варианта для той же переменной в другом месте формулы, если не указано иное.

В качестве первого примера терминологии заместителей, если заместитель $S^1_{\text{пример}}$ представляет собой один из S_1 и S_2 , а заместитель $S^2_{\text{пример}}$ представляет собой один из S_3 и S_4 , эти обозначения относятся к вариантам осуществления данного изобретения, приведенным в соответствии с вариантами, где $S^1_{\text{пример}}$ представляет собой S_1 , а $S^2_{\text{пример}}$ представляет собой S_3 ; $S^1_{\text{пример}}$ представляет собой S_1 , а $S^2_{\text{пример}}$ представляет собой S_4 ; $S^1_{\text{пример}}$ представляет собой S_2 , а $S^2_{\text{пример}}$ представляет собой S_3 ; $S^1_{\text{пример}}$ представляет собой

S_2 , а $S^2_{\text{пример}}$ представляет собой S_4 ; а также эквивалентам каждого из таких вариантов. Более краткую терминологию « $S^1_{\text{пример}}$ представляет собой один из S_1 и S_2 , а $S^2_{\text{пример}}$ представляет собой один из S_3 и S_4 » соответственно применяют в настоящем документе для краткости, а не для ограничения. Приведенный выше первый пример по используемой для обозначения заместителей терминологии, данный в общих терминах, предназначен для иллюстрации различных вариантов обозначений заместителей, описанных в настоящем документе.

Более того, если для любого элемента химической структуры или заместителя приводится более одного обозначения, варианты осуществления настоящего изобретения содержат различные, принимаемые независимо, сочетания вариантов из перечисленных обозначений, а также их эквиваленты. В качестве второго примера терминологии заместителей, если в данном документе описано, что если заместитель $S_{\text{пример}}$ представляет собой один из S_1 , S_2 и S_3 , то этот перечень относится к вариантам осуществления данного изобретения, для которых $S_{\text{пример}}$ представляет собой S_1 ; $S_{\text{пример}}$ представляет собой S_2 ; $S_{\text{пример}}$ представляет собой S_3 ; $S_{\text{пример}}$ представляет собой один из S_1 и S_2 ; $S_{\text{пример}}$ представляет собой один из S_1 и S_3 ; $S_{\text{пример}}$ представляет собой один из S_2 и S_3 ; $S_{\text{пример}}$ представляет собой один из S_1 , S_2 и S_3 ; и $S_{\text{пример}}$ представляет собой любой эквивалент каждого из этих вариантов. Для краткости изложения, но не с целью ограничения, в настоящем документе соответственно применяется сокращенная терминология: « $S_{\text{пример}}$ представляет собой один из S_1 , S_2 и S_3 ». Приведенный выше второй пример по используемой для обозначения заместителей терминологии, данный в общих терминах, предназначен для иллюстрации различных вариантов обозначения заместителей, описанных в настоящем документе.

Приведенные ниже ингибиторы JAK представляют собой примеры осуществления настоящего изобретения:

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамид;

2-((1r,4r)-4-(2-(1H-имидазол-4-ил)имидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-1(6H)-ил)циклогексил)ацетонитрил;

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(циклопропилметил)ацетамид;

N-(2-цианоэтил)-2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетамид;

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)ацетамид;

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)ацетамид;

N-(2-циано-2-метилпропил)-2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетамид;

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-

b]пиридин-2-ил)-N-((1-гидроксициклобутил)метил)ацетамид;

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)ацетамид;

N-(4-(цианометил)бицикло[2.2.1]гептан-1-ил)-2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетамид;

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(1H-пиразол-3-ил)ацетамид; и

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-((1-гидроксициклопропил)метил)ацетамид.

Дополнительные варианты осуществления изобретения представляют собой фармацевтически приемлемые соли указанных выше соединений.

Дополнительные варианты осуществления изобретения представляют собой фармацевтические композиции, каждая из которых содержит эффективное количество по меньшей мере одного из приведенных выше соединений или его фармацевтически приемлемой соли.

«Фармацевтически приемлемая соль» представляет собой соль соединения, которое является нетоксичным биологически переносимым или иным образом биологически приемлемым для введения пациенту. См. по существу S.M. Berge, et al., *Pharmaceutical Salts*, J. Pharm. Sci. 66, 1-19 (1977), и справочник *Handbook of Pharmaceutical Salts, Properties, Selection, and Use*, Stahl and Wermuth, Eds., Wiley-VCH and VNCA, Zurich, 2002. Соединения изобретения могут иметь в достаточной степени кислую группу, в достаточной степени основную группу или оба типа функциональных групп и вступать в соответствующие реакции с рядом неорганических или органических оснований, а также неорганических или органических кислот с образованием фармацевтически приемлемой соли. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают в себя сульфаты, пиросульфаты, бисульфаты, сульфиты, бисульфиты, фосфаты, моногидрогенфосфаты, дигидрогенфосфаты, метафосфаты, пирофосфаты, хлориды, бромиды, иодиды, ацетаты, пропионаты, деканоаты, каприлаты, акрилаты, формиаты, изобутираты, капроаты, гептаноаты, пропиолаты, оксалаты, малонаты, сукцинаты, субераты, себацинаты, фумараты, малеаты, бутин-1,4-диоаты, гексин-1,6-диоаты, бензоаты, хлорбензоаты, метилбензоаты, динитробензоаты, гидроксibenзоаты, метоксибензоаты, фталаты, сульфонаты, ксилолсульфонаты, фенилацетаты, фенилпропионаты, фенилбутираты, цитраты, лактаты, γ-гидроксibuтираты, гликоляты, тартраты, метансульфонаты, пропансульфонаты, нафталин-1-сульфонаты, нафталин-2-сульфонаты и манделаты.

Если соединение изобретения содержит по меньшей мере один основной атом азота, то желательная фармацевтически приемлемая соль может быть получена по любой соответствующей известной специалистам методике, например, обработкой свободного основания неорганической кислотой, такой как хлористоводородная кислота, бромисто-

водородная кислота, серная кислота, сульфаминовая кислота, азотная кислота, борная кислота, фосфорная кислота, или органической кислотой, такой как уксусная кислота, фенилуксусная кислота, пропионовая кислота, стеариновая кислота, молочная кислота, аскорбиновая кислота, малеиновая кислота, гидроксималеиновая кислота, изэтионовая кислота, янтарная кислота, валериановая кислота, фумаровая кислота, малоновая кислота, пировиноградная кислота, щавелевая кислота, гликолевая кислота, салициловая кислота, олеиновая кислота, пальмитиновая кислота, лауриновая кислота, пиранозидиловой кислотой, такой как глюкуроновая кислота или галактуоновая кислота, альфа-гидроксикислотой, такой как миндальная кислота, лимонная кислота или винная кислота, аминокислотой, такой как аспарагиновая кислота или глутаминовая кислота, ароматической кислотой, такой как бензойная кислота, 2-ацетоксибензойная кислота, нафтойная кислота или коричная кислота, сульфоновой кислотой, такой как лаурилсульфоновая кислота, п-толуолсульфоновая кислота, метансульфоновая кислота, этансульфоновая кислота, любой совместимой смесью кислот, таких как приведенные в примерах настоящего документа, и любой иной кислотой или смесью кислот, которые рассматриваются как эквивалентные или приемлемые заменители в свете в данной технологии.

Не все варианты осуществления фармацевтически приемлемых солей соединений в соответствии с настоящим изобретением могут в равной степени подходить для их разработки, поскольку соединения, которые являются достаточно слабыми основаниями (например, pK_a около 4), могут не образовывать достаточно стабильных солей для целей разработки. См., например, G.A. Stephenson, et al., *J. Pharm. Sciences* **100**(5), 1607-17 (2011) *Physical stability of salts of weak bases in the solid state*. Предполагается, что некоторые варианты осуществления изобретения охватывают сокристаллизованные формы соединения в соответствии с настоящим изобретением с подходящим средством для образования сокристаллов. Структура и свойства сокристаллов для фармацевтического применения и способы их получения и описания описаны, например, в N. Shan, et al., *Drug Discovery Today*, 13(9/10), 440-46 (2008) *The role of cocrystals in pharmaceutical science*; N. Qiao, et al., *Intl. J. Pharmaceutics*, 419, 1-11 (2011) *Pharmaceutical cocrystals: An overview*; R. Thakuria, et al., *Intl. J. Pharmaceutics*, 453, 101-25 (2013) *Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs*.

Соединения изобретения, включая их фармацевтически приемлемые соли, отдельно или в комбинации (совокупно называемые «активным агентом» или «активными агентами»), можно использовать в качестве ингибиторов JAK в способах изобретения. Такие способы модулирования активности JAK включают воздействие на JAK эффективного количества по меньшей мере одного химического соединения настоящего изобретения.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK используется у пациента, у которого диагностировано заболевание, расстройство или медицинское состояние или который страдает от заболевания, расстройства или медицинского состояния,

опосредованного активностью JAK, например, такое как описанные в настоящем документе. Симптомы или состояния заболевания подразумеваются включенными в объем понятия «заболевания, расстройства или медицинские состояния».

Соответственно, настоящее изобретение относится к способам применения описанных в настоящем документе активных агентов для лечения пациентов, у которых диагностировано заболевание, расстройство или медицинское состояние или которые страдают от заболевания, расстройства или медицинского состояния, опосредованного JAK. Используемый в настоящей заявке термин «лечить» или «лечение» относится к назначению активного агента или композиции в соответствии с настоящим изобретением пациенту для получения желательного терапевтического или профилактического благоприятного эффекта посредством модуляции активности JAK. Лечение включает обращение течения, облегчение, ослабление, замедление прогрессирования, уменьшение тяжести или профилактику заболевания, расстройства или состояния, или одного или более симптомов такого заболевания, расстройства или состояния, опосредованного модуляцией активности JAK. Термин «пациент» относится к млекопитающему пациенту, требующему такого лечения, такому как человек. Термин «ингибиторы» или «ингибитор» обозначает соединения, которые снижают, предупреждают, деактивируют экспрессию, десенсибилизируют или выполняют понижающую регуляцию экспрессии или активности JAK.

Варианты осуществления настоящего изобретения обеспечивают ингибиторы JAK для профилактики и/или уменьшения чрезмерного воспалительного ответа. Варианты осуществления ингибиторов JAK в соответствии с настоящим изобретением представляют собой универсальные ингибиторы JAK.

Если не указано иное, термин «физико-химические свойства ингибитора JAK» означает следующие соответствующие упомянутые свойства:

приведенные в описании для соединений пр. 1-12 в случае молярных масс;

определенные согласно соответствующим определениям в случае числа доноров и акцепторов водородной связи и способных к вращению связей; и

измеренные со ссылкой на таблицу 1a (столбец 2) в случае концентраций в плазме и таблицу 7 (столбцы 3 и 4) в случае коэффициентов проницаемости A-B в присутствии ингибитора Р-гликопротеина и коэффициентов проницаемости В-А.

В вариантах осуществления настоящего изобретения предложены способы ингибирования JAK, включающие воздействие на рецептор JAK ингибитора JAK, который характеризуется следующими физико-химическими свойствами: концентрация в плазме в диапазоне от около 0,1 нг/мл до около 60 нг/мл, cLog P в диапазоне от около 0,1 до около 2,8, коэффициент проницаемости A-B в присутствии ингибитора Р-гликопротеина в диапазоне от около 0,1 до около 2,5, коэффициенты проницаемости В-А в диапазоне от около 0,5 до около 20, площадь топологической полярной поверхности (tPSA) в диапазоне от около 85 до около 120.

В других вариантах осуществления способов ингибирования JAK в соответствии с

настоящим изобретением концентрация в плазме находится в диапазоне от около 10 нг/мл до около 20 нг/мл.

В других вариантах осуществления способов ингибирования JAK в соответствии с настоящим изобретением cLogP находится в диапазоне от около 0,8 до около 1,4.

В других вариантах осуществления способов ингибирования JAK в соответствии с настоящим изобретением коэффициент проницаемости A-B в присутствии ингибитора Р-гликопротеина находится в диапазоне от около 0,6 до около 1,5.

В других вариантах осуществления способов ингибирования JAK в соответствии с настоящим изобретением коэффициент проницаемости B-A находится в диапазоне от около 0,5 до около 5.

В других вариантах осуществления способов ингибирования JAK в соответствии с настоящим изобретением tPSA находится в диапазоне от около 100 до около 120.

В дополнительных вариантах осуществления настоящего изобретения предложены способы ингибирования JAK, включающие воздействие на рецептор JAK ингибитора JAK, который дополнительно характеризуется следующими физико-химическими свойствами: молярная масса в диапазоне от около 300 г·моль⁻¹ до около 500 г·моль⁻¹, число доноров водородной связи в диапазоне от около 2 до около 3, число акцепторов водородной связи в диапазоне от около 4 до около 5 и число способных к вращению связей в диапазоне от около 3 до около 6, в дополнение к концентрациям в плазме, значениям clogP, коэффициентам проницаемости и значениям tPSA, описанным выше для методов ингибирования JAK в соответствии с настоящим изобретением.

В других вариантах осуществления способов ингибирования JAK в соответствии с настоящим изобретением молярная масса находится в диапазоне от около 340 г·моль⁻¹ до около 430 г·моль⁻¹.

В других вариантах осуществления способов ингибирования JAK в соответствии с настоящим изобретением число способных к вращению связей находится в диапазоне от около 5 до около 6.

В вариантах осуществления настоящего изобретения предложены способы лечения воспаления в желудочно-кишечном тракте пациента, включающие введение пациенту фармацевтически эффективного количества ингибитора JAK, который характеризуется следующими физико-химическими свойствами: концентрация в плазме в диапазоне от около 0,1 нг/мл до около 60 нг/мл, cLog P в диапазоне от около 0,1 до около 2,8, коэффициент проницаемости A-B в присутствии ингибитора Р-гликопротеина в диапазоне от около 0,1 до около 2,5, коэффициенты проницаемости B-A в диапазоне от около 0,5 до около 20, площадь топологической полярной поверхности (tPSA) в диапазоне от около 85 до около 120.

В других вариантах осуществления способов лечения воспаления в желудочно-кишечном тракте в соответствии с настоящим изобретением концентрация в плазме находится в диапазоне от около 10 нг/мл до около 20 нг/мл.

В других вариантах осуществления способов лечения воспаления в желудочно-

кишечном тракте в соответствии с настоящим изобретением $cLogP$ находится в диапазоне от около 0,8 до около 1,4.

В других вариантах осуществления способов лечения воспаления в желудочно-кишечном тракте в соответствии с настоящим изобретением коэффициент проницаемости А-В в присутствии ингибитора Р-гликопротеина находится в диапазоне от около 0,6 до около 1,5.

В других вариантах осуществления способов лечения воспаления в желудочно-кишечном тракте в соответствии с настоящим изобретением коэффициент проницаемости В-А находится в диапазоне от около 0,5 до около 5.

В других вариантах осуществления способов лечения воспаления в желудочно-кишечном тракте в соответствии с настоящим изобретением $tPSA$ находится в диапазоне от около 100 до около 120.

В дополнительных вариантах осуществления настоящего изобретения предложены способы лечения воспаления в желудочно-кишечном тракте пациента, в которых физико-химические свойства ингибитора JAK дополнительно характеризуются следующими физико-химическими свойствами ингибитора JAK: молярная масса в диапазоне от около $300 \text{ г} \cdot \text{моль}^{-1}$ до около $500 \text{ г} \cdot \text{моль}^{-1}$, число доноров водородной связи в диапазоне от около 2 до около 3, число акцепторов водородной связи в диапазоне от около 4 до около 5 и число способных к вращению связей в диапазоне от около 3 до около 6, в дополнение к концентрациям в плазме, значениям $cLogP$, коэффициентам проницаемости и значениям $tPSA$, описанным выше для методов лечения воспаления в соответствии с настоящим изобретением.

В других вариантах осуществления способов лечения воспаления в желудочно-кишечном тракте в соответствии с настоящим изобретением молярная масса находится в диапазоне от около $350 \text{ г} \cdot \text{моль}^{-1}$ до около $430 \text{ г} \cdot \text{моль}^{-1}$.

В других вариантах осуществления способов лечения воспаления в желудочно-кишечном тракте в соответствии с настоящим изобретением число способных к вращению связей находится в диапазоне от около 5 до около 6.

Варианты осуществления ингибиторов JAK в соответствии с настоящим изобретением имеют следующие физико-химические свойства JAK: концентрация в плазме в диапазоне от около 0,1 нг/мл до около 60 нг/мл, $cLogP$ в диапазоне от около 0,1 до около 2,8, коэффициент проницаемости А-В в присутствии ингибитора Р-гликопротеина в диапазоне от около 0,1 до около 2,5, коэффициент проницаемости В-А в диапазоне от около 0,5 до около 20 и $tPSA$ в диапазоне от около 85 до около 120.

В дополнительных вариантах осуществления ингибиторов JAK в соответствии с настоящим изобретением концентрация в плазме находится в диапазоне от около 10 нг/мл до около 20 нг/мл.

В дополнительных вариантах осуществления ингибиторов JAK в соответствии с настоящим изобретением значения $cLogP$ находятся в диапазоне от около 0,8 до около 1,4.

В дополнительных вариантах осуществления ингибиторов JAK в соответствии с

настоящим изобретением коэффициент проницаемости А-В в присутствии ингибитора Р-гликопротеина находится в диапазоне от около 0,6 до около 1,5.

В дополнительных вариантах осуществления ингибиторов JAK в соответствии с настоящим изобретением коэффициент проницаемости В-А находится в диапазоне от около 0,5 до около 5.

В дополнительных вариантах осуществления ингибиторов JAK в соответствии с настоящим изобретением значения tPSA находятся в диапазоне от около 100 до около 120.

Другие варианты осуществления ингибиторов JAK в соответствии с настоящим изобретением имеют следующие физико-химические свойства ингибитора JAK: молярная масса в диапазоне от около 300 г·моль⁻¹ до около 500 г·моль⁻¹, число доноров водородной связи в диапазоне от около 2 до около 3, число акцепторов водородной связи в диапазоне от около 4 до около 5 и число способных к вращению связей в диапазоне от около 3 до около 6, в дополнение к концентрациям в плазме, значениям cLogP, коэффициентам проницаемости и значениям tPSA, описанным выше для ингибиторов JAK в соответствии с данным изобретением.

В дополнительных вариантах осуществления ингибиторов JAK в соответствии с настоящим изобретением молярная масса находится в диапазоне от около 350 г·моль⁻¹ до около 430 г·моль⁻¹.

В дополнительных вариантах осуществления ингибиторов JAK в соответствии с настоящим изобретением число способных к вращению связей находится в диапазоне от около 5 до около 6.

В способах лечения в соответствии с изобретением эффективное количество по меньшей мере одного активного агента в соответствии с изобретением назначается пациенту, у которого диагностировано заболевание, расстройство или медицинское состояние или который страдает от заболевания, расстройства или медицинского состояния. Термин «эффективное количество» означает количество или дозировку, которые достаточны для достижения по существу желательного терапевтического или профилактического эффекта для пациентов, которым необходимо такое лечение при указанном заболевании, расстройстве или медицинском состоянии. Эффективные количества или дозировки активных веществ данного изобретения могут быть определены стандартными способами, например моделированием, исследованиями с повышением дозы или клиническими испытаниями и с учетом стандартных факторов, таких как способ или путь введения или доставки лекарственного средства, фармакокинетика вещества, степень тяжести и характер течения заболевания, расстройства или состояния, предшествующий или текущий курс лечения объекта, состояние здоровья и реакция объекта на лекарственные средства, а также мнение лечащего врача. Для человека весом 70 кг иллюстративной приемлемой дозировкой является количество от около 1 до 1000 мг/день, принимаемое за один или множество раз.

Варианты осуществления настоящего изобретения представляют собой новые ингибиторы JAK в качестве активных веществ для профилактики и/или уменьшения

чрезмерного воспалительного ответа, системные эффекты которых отсутствуют или снижены. Дополнительные варианты осуществления настоящего изобретения представляют собой ингибиторы JAK, оказывающие локальное действие на ткани желудочно-кишечного тракта для лечения таких состояний, как, без ограничений, ВЗК, системные эффекты которых отсутствуют или снижены до приемлемого уровня.

Варианты осуществления настоящего изобретения представляют собой ингибиторы JAK с низкой проницаемостью. Дополнительные варианты осуществления настоящего изобретения представляют собой ингибиторы JAK, которые растворяются в воде.

После улучшения состояния пациента, облегчения симптомов заболевания или расстройства можно корректировать дозу для профилактического или поддерживающего лечения. Например, дозировка, или частота введения, или и то и другое могут быть снижены в зависимости от симптомов до уровня, при котором поддерживается требуемый терапевтический или профилактический эффект. Разумеется, если проявления симптомов ослаблены до приемлемого уровня, лечение можно прекратить. Однако при рецидиве симптомов пациенту может потребоваться долговременное периодическое лечение.

Кроме того, соединения настоящего изобретения предназначены для применения отдельно, в комбинации с одним или более из других соединений настоящего изобретения или в комбинации с дополнительными активными ингредиентами для лечения описанных ниже состояний. Дополнительные активные ингредиенты можно вводить в виде отдельной лекарственной формы вместе с по меньшей мере одним соединением настоящего изобретения, с активными агентами изобретения или включать их в фармацевтическую композицию в соответствии с настоящим изобретением. В одном примере осуществления дополнительные активные ингредиенты представляют собой компоненты с известной или доказанной эффективностью при лечении состояний, расстройств или заболеваний, опосредованных активностью JAK, такие как другой ингибитор JAK или соединение с активностью в отношении другой мишени, связанной с конкретным состоянием, расстройством или заболеванием. Упомянутая комбинация компонентов может служить для повышения эффективности (например, путем включения в состав данной комбинации соединения, повышающего эффективность или активность агента в соответствии с настоящим изобретением), ослабления одного или более побочных эффектов или снижения требуемой дозировки активного агента в соответствии с настоящим изобретением.

Применительно к ингибированию мишени «эффективное количество» означает количество, достаточное для изменения активности по меньшей мере одного из белков семейства JAK. Измерение активности мишени может быть выполнено стандартными аналитическими способами.

Активные агенты настоящего изобретения предусмотрены для самостоятельного использования или в комбинации с одним или более дополнительными активными компонентами для приготовления фармацевтических композиций изобретения. В состав

соответствующей целям изобретения фармацевтической композиции входит эффективное количество по меньшей мере одного активного агента в соответствии с изобретением.

Фармацевтически приемлемые наполнители, обычно используемые в фармацевтических композициях, представляют собой вещества, которые являются нетоксичными, биологически переносимыми и иным образом биологически подходящими для введения пациенту, такие как инертное вещество, добавленное в фармакологическую композицию или иным образом использованное в качестве несущей среды, носителя или разбавителя для облегчения введения агента, а также совместимое с этим агентом. Примеры таких эксципиентов включают в себя карбонат кальция, фосфат кальция, различные сахара и типы крахмала, производные целлюлозы, желатин, растительные масла и полиэтиленгликоли.

Формы доставки фармацевтических композиций, содержащих одну или более единиц дозирования активных агентов, можно получать с применением фармацевтически приемлемых эксципиентов и методик приготовления, известных в настоящее время или доступных специалистам в данной области в будущем. Композиции можно вводить с применением способов, обладающих признаками изобретения, приемлемым путем доставки, например, перорально, парентерально, ректально, местно, через глаза или путем ингаляции.

Препарат может быть представлен в форме таблеток, капсул, саше, драже, порошков, гранул, пастилок, порошков для восстановления, жидких препаратов или суппозиториев. Композиции могут быть получены для любого одного из множества способов введения, таких как внутривенная инфузия, подкожная инъекция, местное нанесение или пероральное введение. Предпочтительно композиции могут быть получены для перорального введения.

Для перорального введения активные агенты изобретения могут быть обеспечены в форме таблеток, капсул или гранул или в виде раствора, эмульсии или суспензии. Для получения композиций для перорального применения активные агенты могут быть смешаны с получением дозы, например, для человека массой 70 кг, от около 1 до около 1000 мг/день, предназначенной для приема за один или множество раз, в качестве иллюстративного диапазона.

Таблетки для перорального введения могут включать в себя активный (-ые) компонент (-ы), смешанный (-ые) с совместимыми фармацевтически приемлемыми эксципиентами, такими как разбавители, вещества для улучшения распадаемости таблеток, связывающие вещества, смазывающие вещества, подсластители, вкусовые добавки, красители и консерванты. Приемлемые инертные наполнители включают в себя карбонат натрия и кальция, фосфат натрия и кальция, лактозу, крахмал, сахар, глюкозу, метилцеллюлозу, стеарат магния, маннит, сорбит и т. п. Жидкие эксципиенты для перорального введения могут включать в себя этанол, глицерин, воду и т. п. Крахмал, поливинилпирролидон (ПВП), крахмалгликолят натрия, микрокристаллическая целлюлоза и альгиновая кислота являются дезинтегрирующими агентами. Связывающие агенты

могут включать в себя крахмал и желатин. Смазывающий агент, при его наличии, может представлять собой стеарат магния, стеариновую кислоту или тальк. При необходимости таблетки могут быть покрыты таким материалом, как глицерилмоностеарат или глицерилдистеарат, для отсрочки всасывания в желудочно-кишечном тракте, или они могут иметь кишечнорастворимое покрытие. Дополнительное покрытие, которое можно использовать, включает в себя покрытия, выполненные с возможностью высвобождения соединения или активного агента в зависимости от времени, pH или бактериального содержимого.

Капсулы для перорального введения включают в себя твердые и мягкие желатиновые капсулы или капсулы из (гидроксипропил)метилцеллюлозы. Для приготовления твердых желатиновых капсул активные компоненты могут быть смешаны с твердым, полутвердым или жидким разбавителем. Мягкие желатиновые капсулы могут быть приготовлены путем смешивания активного ингредиента с маслом, таким как арахисовое или оливковое масло, вазелиновым маслом, смесью моно- и диглицеридов короткоцепочечных жирных кислот, полиэтиленгликолем 400 или пропиленгликолем. Жидкости для перорального введения могут быть представлены в форме суспензий, растворов, эмульсий или сиропов, или они могут быть лиофилизированы или представлены в сухом виде для восстановления водой или другой приемлемой несущей средой перед применением. Такие жидкие композиции могут необязательно содержать фармацевтически приемлемые эксципиенты, такие как суспендирующие агенты (например, сорбит, метилцеллюлозу, альгинат натрия, желатин, гидроксипропилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу, гель алюминия стеарата и т. п.); неводные несущие среды, например масло (например, миндальное масло или фракционированное кокосовое масло), пропиленгликоль, этиловый спирт или воду; консерванты (например, метил- или пропил-п-гидроксibenзоат или сорбиновую кислоту); смачивающие агенты, такие как лецитин; и, при необходимости, ароматизирующие или красящие агенты.

Активные агенты данного изобретения также можно вводить непероральным образом. Например, композиции могут быть приготовлены для ректального введения в виде суппозитория, клизмы или пены. В случае композиций для парентерального введения, включая внутривенное, внутримышечное, внутрибрюшинное или подкожное введение, агенты изобретения могут быть приготовлены в виде стерильных водных растворов или суспензий с добавлением соответствующих буферных растворов до получения требуемых значений pH и изотоничности, либо в виде парентерально приемлемого масла. Приемлемые водные несущие среды включают в себя раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Подобные лекарственные формы могут быть приготовлены в виде однократной формы, такой как ампулы или одноразовые приспособления для инъекций, в виде многократной формы, такой как флаконы, из которых может быть отобрано требуемое количество препарата, или в твердой форме или форме первичного концентрата, который может быть использован для приготовления композиций для инъекций. Типичные дозы для инфузии находятся в диапазоне от около 1

до 1000 мкг/кг/мин вещества в виде смеси с фармацевтическим носителем в течение промежутка времени от нескольких минут до нескольких дней.

Для местного применения агенты могут быть смешаны с фармацевтическим носителем в концентрации от около 0,01% до около 20% лекарственного средства в несущей среде, предпочтительно 0,1-10%. В другом способе введения агенты изобретения могут применяться в виде пластыря с составом для трансдермальной доставки.

Альтернативно в способах изобретения активные вещества могут быть введены путем ингаляции, через нос или рот, например, в виде спрея, содержащего также соответствующий носитель.

В дополнительном варианте осуществления изобретение относится к способу лечения пациента, у которого диагностировано заболевание, расстройство или медицинское состояние или который страдает от заболевания, расстройства или медицинского состояния, опосредованного JAK, включающему введение нуждающемуся в таком лечении пациенту эффективного количества активного агента.

В некоторых вариантах осуществления способа изобретения заболевание, расстройство или медицинское состояние представляет собой воспалительное заболевание кишечника, такое как болезнь Крона и язвенный колит.

В других вариантах осуществления настоящего изобретения предложен способ модулирования активности JAK, в том числе когда такая киназа находится в пациенте, включающий воздействие на JAK эффективного количества по меньшей мере одного соединения, выбранного из соединений изобретения.

Соединения изобретения можно использовать в качестве ингибиторов JAK, которые вводятся перорально и распределяются конкретно в кишечную ткань, обеспечивая при этом низкий уровень системных эффектов. Таким образом, соединения изобретения отличаются от большинства известных ингибиторов JAK, которые вводятся перорально и распределяются по многим тканям, из-за того, что они оказывают обширное системное воздействие.

В таблице 1a и таблице 1b показаны результаты экспериментов *in vivo*. Эти результаты включают концентрации в плазме и ткани толстой кишки пятнадцати соединений, которые вводили мышам, как описано в протоколах 1, 2 или 3. Результаты измерения концентрации в плазме и толстой кишке были получены в соответствии с протоколом 1 с использованием венопункции дорсальной плюсневой вены для соединений (B), (C) и примеров 6 и 11. Результаты измерения концентрации в плазме и толстой кишке были получены в соответствии с протоколом 2 с использованием кровотечения из ретроорбитального синуса для соединений (A) и примеров 1 и 3-5 и протоколом 2 с использованием венопункции дорсальной плюсневой вены для примеров 2, 7-10 и 12. Результаты протоколов 1 и 2 представлены в таблице 1a. Результаты измерения концентрации в плазме и толстой кишке были получены в соответствии со следующим протоколом 3 для примеров 1, 3 и 4. Результаты протокола 3 представлены в таблице 1b. Эти протоколы описаны ниже в разделе «Исследования *in vivo*».

Таблица 1а. Результаты экспериментов in vivo после перорального дозирования, средняя концентрация исследуемых соединений

Исследуемое соединение	Концентрация в плазме после перорального дозирования (нг/мл)						Концентрация в толстой кишке после перорального дозирования (нг/г)	
	Время=0,5 ч		Время=2 ч		Время=4 ч		Время=4 ч	
	Среднее*	Стандартное отклонение	Среднее*	Стандартное отклонение	Среднее*	Стандартное отклонение	Среднее*	Стандартное отклонение
А	347,0	78,5	69,1	40,8	84,5	25,5	895,0	260,6
В	352,7	85,7	66,3	26,2	11,3	3,7	6076,7	3125,8
С	547,0	71,4	130,2	63,7	16,7	5,9	7776,7	3500,2
Пр. 1	13,4	1,5	6,1	3,7	3,3	1,2	8591,7	10245,7
Пр. 2	24,5	3,6	4,2	1,8	1,3	0,1	7600,0	983,6
Пр. 3	41,4	15,1	3,9	0,7	1,5**	***	2147,2	1821,6
Пр. 4	12,9	1,6	7,5	2,8	3,3	1,5	4448,3	989,3
Пр. 5	31,9	5,1	8,8	1,7	6,0	1,2	5328,3	986,0
Пр. 6	18,8	20,6	3,0	0,9	1,7 [#]	^{##}	11706,7	11305,2
Пр. 7	47,0	3,8	9,6	4,4	5,0	1,2	12008,3	9461,1
Пр. 8	43,1	8,7	5,4	0,6	2,6	0,6	7396,7	3037,3
Пр. 9	15,1	1,8	6,2	4,5	3,9	0,9	7683,3	230,9
Пр. 10	26,6	4,0	3,2	1,0	3,1	0,7	3005,0	1347,2
Пр. 11	1,6**	***	^	^^	^	^^	4785,0	1059,9
Пр. 12	15,6	8,7	4,2	1,4	2,3	1,0	5885,0	3154,1

* Среднее значение, рассчитанное на основании значений, полученных от трех мышей, если не указано иное.

** Среднее значение рассчитано на основании значений, полученных от двух мышей, поскольку значения, полученные от третьей мыши, были ниже нижнего предела количественного определения.

*** Стандартное отклонение не рассчитывали, поскольку среднее значение было получено только на основании двух значений.

Приведенное среднее значение представляет собой значение, полученное от одной мыши, поскольку значения, полученные от второй и третьей мышей, были ниже нижнего предела количественного определения.

Стандартное отклонение не рассчитывали по причине, указанной в примечании # к данной таблице.

^ Среднее значение не рассчитывали, поскольку значения для всех трех мышей были ниже нижнего предела количественного определения.

^^ Стандартное отклонение не рассчитывали по причине, указанной в примечании ^ к данной таблице.

Таблица 1b. Результаты экспериментов *in vivo* после *i.c.* дозирования, средняя концентрация исследуемых соединений

Исследуемое соединение	Концентрация в плазме после <i>i.c.</i> дозирования (нг/мл)						Концентрация в ободочной кишке после <i>i.c.</i> дозирования (нг/г)	
	Время=0,5 ч		Время=2 ч		Время=4 ч		Время=4 ч	
	Среднее*	Стандартное отклонение	Среднее*	Стандартное отклонение	Среднее*	Стандартное отклонение	Среднее*	Стандартное отклонение
Пр. 1	2,5 [#]	##	^	^^	^	^^	681,0	437,0
Пр. 3	1,5 [#]	##	^	^^	^	^^	227,8	254,1
Пр. 4	3,8**	***	2,5 [#]	##	^	^^	26,1 [#]	##

* Среднее значение, рассчитанное на основании значений, полученных от трех мышей, если не указано иное.

** Среднее значение рассчитано на основании значений, полученных от двух мышей, поскольку значения, полученные от третьей мыши, были ниже нижнего предела количественного определения.

*** Стандартное отклонение не рассчитывали, поскольку среднее значение было получено только на основании двух значений.

Приведенное среднее значение представляет собой значение, полученное от одной мыши, поскольку значения, полученные от второй и третьей мышей, были ниже нижнего предела количественного определения.

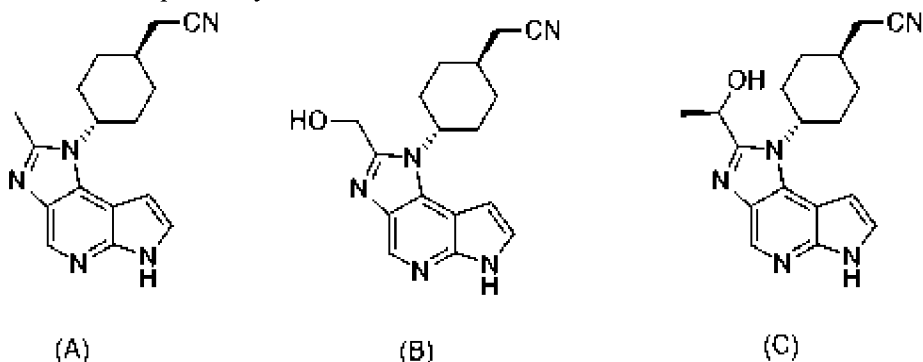
Стандартное отклонение не рассчитывали по причине, указанной в примечании # к данной таблице.

^ Среднее значение не рассчитывали, поскольку значения для всех трех мышей были ниже нижнего предела количественного определения.

^^ Стандартное отклонение не рассчитывали по причине, указанной в примечании

^ к данной таблице.

Соединения (A)-(C) представляют собой следующие эталонные соединения, которые были описаны в WO2013/007765 или WO2011/086053 в связи с их применением в качестве ингибиторов Янус-киназ:



Соединения пр. 1-12 в таблицах 1a и 1b представляют собой варианты осуществления настоящего изобретения, приведенные в соответствующих примерах.

Как показано в таблице 1a, концентрации в толстой кишке соединений пр. 1-12 оказались значительно выше, чем соответствующие концентрации в плазме, при этом отношения концентрации [толстая кишка (4 ч)] : [плазма (0,5 ч)] варьировали от около 52 до около 3000. Напротив, такие соотношения для соединений (A)-(C) варьировали от около 3 до около 17. В таблице 1b также представлены вспомогательные данные о том, что примеры 1, 3 и 4 оказывают слабое системное воздействие после i.c. дозирования. Контраст между свойствами вариантов осуществления настоящего изобретения в отношении эталонных соединений значительно более выражен, если сравнить значения концентрации в плазме через 4 ч. В связи с этим отношения концентрации [толстая кишка (4 ч)] : [плазма (4 ч)] для соединений пр. 1-12 варьируют от около 888 до около 6 886. Напротив, такие соотношения для соединений (A)-(C) варьировали от около 11 до около 538. Эти отношения концентрации в толстой кишке к концентрации в плазме показывают, что соединения пр. 1-12 имеют низкие системные эффекты в любой момент после перорального дозирования, тогда как соединения (A)-(C) имеют сравнительно высокие системные эффекты. Наличие локальных ЖК эффектов для соединений пр. 1-12.

Как показано в таблице 4, ферментативную активность соединений пр. 1-12 измеряли для определения активности каждого отдельного фермента. Для всех исследованных соединений обнаруживали ингибирование ферментативной активности, что свидетельствует о том, что эти соединения являются универсальными ингибиторами JAK. Данные, приведенные в данной таблице для соединений (A)-(C), также демонстрируют ингибирование данными соединениями ферментативной активности всех белков JAK.

Как показано в таблице 5, клеточную активность соединений пр. 1-12 оценивали в моноклеарных клетках периферической крови (PBMC), используя стимулы IL-2, IFN- α и GM-CSF и измеряя ингибирование фосфорилирования STAT5, STAT4 и STAT5 соответственно. Для всех исследованных соединений измеряли ингибирование

фосфорилирования STAT, используя все три стимула.

Как показано в таблице 6, значения растворимости соединений пр. 1-12 измеряли в имитации желудочного сока (SGF) и имитации кишечного сока (SIF). Все исследованные соединения демонстрировали поддающуюся измерению растворимость более 400 мкМ в SGF и в диапазоне от 81 мкМ до более 400 мкМ при использовании SIF. Как показано в той же таблице, данные растворимости были сопоставимы со значениями растворимости соединений (A)-(C).

Как показано в таблице 7, проницаемость соединений (A)-(C) и пр. 1-12 измеряли с использованием клеточной линии MDCK-MDR1 с добавлением элакридара (ингибитора Р-гликопротеина) и без него. Все соединения демонстрировали низкую проницаемость при измерении апикально-базолатерального транспорта с добавлением ингибитора Р-гликопротеина и без него (элакридар). Значения коэффициента проницаемости для соединений (A)-(C) и пр. 1-12 были низкими и сопоставимыми со значениями апикально-базолатерального транспорта без элакридара (для всех таких соединений) и с элакридаром (для соединений (B)-(C) и соединений пр. 1-12) (столбцы 2 и 3 в таблице), но коэффициенты базолатерально-апикальной проницаемости для соединений (A)-(C) были выше, чем для большинства соединений пр. 1-12, как показано в столбце 4 той же таблицы. Согласно данным в столбцах 3 и 4 в таблице 7 большинство соединений пр. 1-12 характеризуются низкими коэффициентами апикально-базолатеральной проницаемости, измеренной в присутствии элакридара (столбец 3), а также низкими коэффициентами базолатерально-апикальной проницаемости (столбец 4). Эти два признака показывают, что такие соединения являются соединениями с низкой проницаемостью. Этого нельзя сказать в отношении соединений (A)-(C), коэффициенты базолатерально-апикальной проницаемости которых (столбец 4) выше, чем у большинства соединений пр. 1-12. Отношения оттока, приведенные в той же таблице для соединений (A)-(C) и пр. 1-12, показывают, что все эти соединения представляют собой субстраты Р-гликопротеина.

Отсутствуют известные концепции или предположения, указывающее на то, что заключение или прогноз о заметном снижении системных эффектов для вариантов осуществления настоящего изобретения по сравнению с таковыми эталонных соединений (A)-(C) можно делать на основании структурных сравнений или других признаков соединений (A)-(C), например описанных со ссылкой на таблицы 4, 6 и 7. Это так, даже несмотря на то, что некоторые фрагменты эталонных соединений (A)-(C) имеют структурные сходства с аналогичными фрагментами вариантов осуществления настоящего изобретения.

Кроме того, отсутствуют известные концепции или предположения, указывающее на то, что заключение или прогноз о низкой проницаемости вариантов осуществления настоящего изобретения по сравнению с проницаемостью эталонных соединений (A)-(C) можно делать на основании структурных сравнений.

Приведенные ниже конкретные примеры дополнительно иллюстрируют настоящее изобретение и различные варианты осуществления.

Если не указано иное, для получения описанных в приведенных ниже примерах соединений и соответствующих аналитических данных использовали следующие экспериментальные и аналитические протоколы.

Если не указано иное, реакционные смеси перемешивали на магнитной мешалке при комнатной температуре (комн. темп.). Если растворы были «осушены», для этого, как правило, использовали осушающий агент, такой как Na_2SO_4 или MgSO_4 . Если смеси, растворы и экстракты были «сконцентрированы», то их, как правило, концентрировали на роторном испарителе под пониженным давлением.

Тонкослойную хроматографию (ТСХ) проводили на пластинах с нанесенным силикагелевым покрытием Merck 60 F₂₅₄ 2,5×7,5 см 250 мкм или 5,0×10,0 см 250 мкм.

Колоночная флэш-хроматография с нормальной фазой (КФХ) выполнялась на силикагелевых колонках (SiO_2), элюируемых 2 М раствором NH_3 в метаноле/ДХМ, если не указано иное.

Если не указано иное, масс-спектры (МС) получали на анализаторе Agilent серии 1100 MSD с использованием ионизации электрораспылением (ИЭР) в позитивном режиме. Рассчитанная (рассч.) масса соответствует точной массе.

Спектры ядерного магнитного резонанса (ЯМР) были получены на спектрометрах Bruker модели DRX. Ниже приведен формат представления данных ^1H ЯМР: химический сдвиг в ч/млн в сторону слабого поля от сигнала, используемого в качестве стандарта тетраметилсилана (мультиплетность, константа спин-спинового взаимодействия J в Гц, интеграл).

Химические наименования создавали с использованием программного обеспечения ChemDraw (CambridgeSoft, г. Кембридж, штат Массачусетс) или ACD/Name версии 9 (Advanced Chemistry Development, г. Торонто, Онтарио, Канада). В качестве примера обозначение (1r,4r) относится к транс-ориентации вокруг циклогексилового кольца и создано с помощью функции именования Chemdraw Ultra Pro 14.0.

Для обеспечения большей краткости описания некоторые количественные выражения, приведенные в настоящем документе, не уточняются с использованием термина «около». Подразумевается, что, независимо от того, применяется ли модификатор «около» явным образом или нет, каждое численное значение, приводимое в настоящем документе, относится к конкретному приведенному значению, а также к приближению к данному приведенному значению, которое может быть разумным образом оценено на основании обычных знаний в данной области, включая эквиваленты и приближения, связанные с условиями проведения эксперимента и/или измерения для такого приведенного значения.

При указании выхода в процентах такой выход относится к массе вещества, для которого указывается выход, по отношению к максимально достижимому количеству данного вещества в конкретных стехиометрических условиях. Если не указано иное, все приводимые в процентах концентрации реактивов относятся к массовым соотношениям.

Эксперименты, такие как TGA, DSC и GVS, как правило, показывают

незначительную вариабельность представленных данных на основе отдельных анализируемых образцов и незначительные изменения в гидратации и/или количестве присутствующего растворителя.

Графики TGA для отдельных вариантов осуществления показаны в значениях температуры в °C по оси X и потери массы в % по оси Y.

Графики DSC для отдельных вариантов осуществления показаны в значениях температуры в °C по оси X и скорости потока тепла в Вт/г по оси Y. Скорость нагрева DSC составила 10 °C/мин. Интеграция эндотермических и экзотермических событий обеспечивает поглощение энергии (для эндотермического события) или выделение энергии (для экзотермического события) в Дж/г. Пунктирные линии, проходящие через кривую, отражают интегрированную область.

На фигурах, где присутствует термин «Экзо, повышение», эндотермическое событие отражается нисходящей кривой, а экзотермическое событие отражается восходящей кривой.

Некоторые дифрактограммы представлены в конфигурации наложения дифрактограмм, которые разделены промежутками для обеспечения визуализации. Каждая из дифрактограмм соотносится с нулевой относительной интенсивностью, которая представляет собой пересечение каждой из таких дифрактограмм с осью ординат или с наименьшим показателем относительной интенсивности для каждой из таких дифрактограмм.

Фигуры, на которых показано множество дифрактограмм XPRD для любого отдельного варианта осуществления, отражают различные дифрактограммы, полученные для образцов такого варианта осуществления, которые тем не менее были получены одним и тем же способом в разных растворителях.

В настоящем документе используются представленные ниже аббревиатуры и сокращения. Используемые аббревиатуры и сокращения

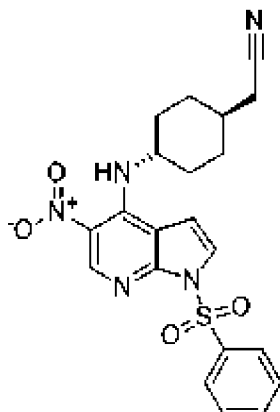
Сокращение	Термин
AAC	Условия ускоренного старения (40°C и 70% ОВ)
ACN	Ацетонитрил
водн.	Водный
уш.	Уширенный
cLogP	Расчетное logP
DCM	Дихлорметан
DIPEA, DIEA, основание Хюнига	Диизопропилэтиламин
DMA	Диметилацетамид
DMF:	N, N-Диметилформамид
DMPU	1,3-Диметил-3,4,5,6-тетрагидро-2(1H)-пиримидинон

Сокращение	Термин
DMSO	Диметилсульфоксид
ДСК	Дифференциальная сканирующая калориметрия
EtOAc или EA	Этилацетат
EtOH	Этанол
ИЭР	Ионизация электрораспылением
КФХ	Колоночная флэш-хроматография с нормальной фазой на силикагеле
г	Грамм (-ы)
GVS	Гравиметрическая сорбция паров
h	Час (-ы)
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
HR-XRPD	Порошковая рентгеновская дифрактометрия высокого разрешения
HT-XRPD	Высокопроизводительная порошковая рентгеновская дифрактометрия
IPA	Изопропанол
i.c.	внутри ободочной кишки
Гц	Герц
ЖХМС:	Жидкостная хроматография с масс-спектрометрией
М	Молярный
mDSC	Модулированная дифференциальная сканирующая калориметрия
m/z	Отношение массы к заряду
MeOH	Метанол
мг	Миллиграмм (-ы)
мин	Минута (-ы)
мл	Миллилитр (-ы)
мкл	Микролитр (-ы)
ммоль	Миллимоль (-и)
MTBE	Метил <i>трет</i> -бутиловый эфир
МС:	Масс-спектрометрия
ЯМР	Ядерный магнитный резонанс

Сокращение	Термин
п/о	per os или через рот
ч/млн	Частей на миллион
ПТФЭ	политетрафторэтилен
PyBOP	Бензотриазол-1-ил-окситрипирролидинофосфония гексафторфосфат
PyBrop	Бромтрипирролидинфосфония гексафторфосфат
ОВ	Относительная влажность
R _t	Время удерживания
комн. темп.	Комнатная температура
TFA	Трифторуксусная кислота
TGA	Термогравиметрический анализ
ТГФ	Тетрагидрофуран
ТСХ	Тонкослойная хроматография
tPSA	Площадь топологической полярной поверхности
XRPD	Порошковая рентгеновская дифрактометрия

Синтез и описание свойств промежуточного соединения 1:

2-((1*r*,4*r*)-4-((5-нитро-1-(фенилсульфонил)-1*H*-пирроло[2,3-*b*]пиридин-4-ил)амино)циклогексил)ацетонитрил



Стадия А: *трет*-бутил-*N*-[(1*r*,4*r*)-4-(гидроксиметил)циклогексил]карбамат. В четырехгорлую круглодонную колбу объемом 20 л, в которой после продувки поддерживали инертную атмосферу азота, помещали (1*r*,4*r*)-4-[[(*трет*-бутоксикарбонил)амино]циклогексан-1-карбоновую кислоту (1066 г, 4,38 моль, 1,00 экв.) и ТГФ (10 л). Затем по каплям добавляли $\text{ВН}_3\text{-Me}_2\text{S}$ (10 М, 660 мл) при -10°C в течение 1 ч. Полученный раствор перемешивали в течение 3 ч при 15°C . Эту реакцию проводили три раза параллельно и реакционные смеси объединяли. Впоследствии реакционную смесь гасили добавлением метанола (2 л). Полученную смесь концентрировали в вакууме.

В результате получали *трет*-бутил-N-[(1*r*,4*r*)-4-(гидроксиметил)циклогексил]карбамат (3000 г, 99,6%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₁₂H₂₃NO₃, 229,32; полученное m/z, 215,2 [M-tBu+MeCN+H]⁺; ¹H ЯМР: (300 МГц, CDCl₃): δ 4,40 (с, 1H), 3,45 (д, J=6,3 Гц, 2H), 3,38 (с, 1H), 2,05-2,02 (м, 2H), 1,84-1,81 (м, 2H), 1,44 (с, 11H), 1,17-1,01 (м, 4H).

Стадия В: *трет*-бутил-N-[(1*r*,4*r*)-4-[(метансульфонилокси)метил]циклогексил]карбамат. В четырехгорлую круглодонную колбу объемом 20 л, в которой после продувки поддерживали инертную атмосферу азота, помещали *трет*-бутил-N-[(1*r*,4*r*)-4-(гидроксиметил)циклогексил]карбамат (1000 г, 4,36 моль, 1,00 экв.), дихлорметан (10 л), пиридин (1380 г, 17,5 моль, 4,00 экв.). Затем по каплям добавляли MsCl (1000 г, 8,73 моль, 2,00 экв.) при -15 °С. Полученный раствор перемешивали в течение ночи при 25 °С. Эту реакцию проводили параллельно 3 раза и реакционные смеси объединяли. Впоследствии реакцию гасили добавлением 2 л воды. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (1×9 л). Органический слой отделяли и промывали 1 М HCl (3×10 л), NaHCO₃ (насыщенный водн. раствор) (2×10 л), водой (1×10 л) и соевым раствором (1×10 л). Смесь сушили безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали в вакууме. В результате получали *трет*-бутил-N-[(1*r*,4*r*)-4-[(метансульфонилокси)метил]циклогексил]карбамат (3300 г, 82%) в виде белого твердого вещества. ЖХ-МС: МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₁₃H₂₅NO₅, 307,15; полученное m/z, 292,1 [M-tBu+MeCN+H]⁺; ¹H ЯМР: (300 МГц, CDCl₃): δ 4,03 (д, J=6,6 Гц, 2H), 3,38 (с, 1H), 3,00 (с, 3H), 2,07-2,05 (м, 2H), 1,87-1,84 (м, 2H), 1,72-1,69 (м, 1H), 1,44 (с, 9H), 1,19-1,04 (м, 4H).

Стадия С: *трет*-бутил-N-[(1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил]карбамат. В четырехгорлую круглодонную колбу объемом 10 л помещали трет-бутил-N-[(1*r*,4*r*)-4-[(метансульфонилокси)метил]циклогексил]карбамат (1100 г, 3,58 моль, 1,00 экв.), DMSO (5500 мл) и NaCN (406 г, 8,29 моль, 2,30 экв.). Полученную смесь перемешивали в течение 5 ч при 90 °С. Эту реакцию проводили параллельно 3 раза и реакционные смеси объединяли. Затем реакцию гасили добавлением 15 л воды/льда. Твердые вещества собирали фильтрованием. Твердые вещества промывали водой (3×10 л). В результате получали *трет*-бутил-N-[(1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил]карбамат (2480 г, 97%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₁₃H₂₂N₂O₂, 238,17; полученное m/z 224 [M-tBu+MeCN+H]⁺; ¹H ЯМР: (300 МГц, CDCl₃): δ 4,39 (с, 1H), 3,38 (с, 1H), 2,26 (д, J=6,9 Гц, 2H), 2,08-2,04 (м, 2H), 1,92-1,88 (м, 2H), 1,67-1,61 (м, 1H), 1,44 (с, 9H), 1,26-1,06 (м, 4H).

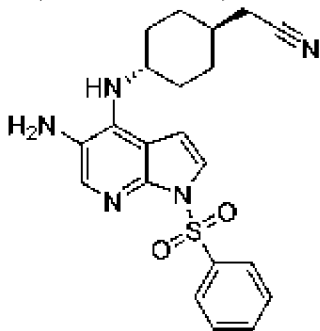
Стадия D: 2-[(1*r*,4*r*)-4-аминоциклогексил]ацетонитрила гидрохлорид. В круглодонную колбу объемом 10 л помещали *трет*-бутил-N-[(1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил]карбамат (620 г, 2,60 моль, 1,00 экв.) и 1,4-диоксан (2 л). Затем по каплям при перемешивании добавляли раствор HCl в 1,4-диоксане (5 л, 4 М) при 10 °С. Полученный раствор перемешивали в течение ночи при 25 °С. Эту реакцию проводили 4 раза и реакционные смеси объединяли. Твердые вещества собирали фильтрованием.

Твердые вещества промывали 1,4-диоксаном (3×3 л), этилацетатом (3×3 л) и гексаном (3×3 л). В результате получали 2-[(1r,4r)-4-аминоциклогексил]ацетонитрила гидрохлорид (1753 г, 96%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для $C_8H_{14}N_2$, 138,12; полученное m/z , 139,25, $[M+H]^+$; 1H ЯМР: (300 МГц, DMSO- d_6): δ 8,14 (с, 3H), 2,96-2,84 (м, 1H), 2,46 (д, $J=6,3$ Гц, 2H), 1,98 (д, $J=11,1$ Гц, 2H), 1,79 (д, $J=12,0$ Гц, 2H), 1,64-1,49 (м, 1H), 1,42-1,29 (м, 2H), 1,18-1,04 (м, 2H).

Стадия E: 2-((1r,4r)-4-((5-нитро-1-(фенилсульфонил)-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-4-ил)амино)циклогексил)ацетонитрил. В круглодонную колбу объемом 1000 мл, содержащую 2-[(1r,4r)-4-аминоциклогексил]ацетонитрила гидрохлорид (29,10 г, 166,6 ммоль), добавляли DMA (400 мл). Полученную суспензию обрабатывали 4-хлор-5-нитро-1-(фенилсульфонил)-1H-пирроло[2,3-b]пиридин (51,53 г, 152,6 ммоль), а затем DIPEA (63,0 мл, 366 ммоль). Реакционную смесь помещали в атмосферу N_2 и выдерживали при температуре 80°C в течение 4 часов. Неочищенную реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и медленно вливали в интенсивно перемешиваемую колбу объемом 2 л, содержащую 1,6 л воды. Полученную суспензию перемешивали в течение 15 минут при комнатной температуре, затем фильтровали и сушили в течение 16 ч в вакуумной печи при температуре 70°C с получением указанного в заголовке соединения (63,37 г, 95%) в виде желтого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для $C_{21}H_{21}N_5O_4S$, 439,1; полученное m/z , 440,1 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (500 МГц, $CDCl_3$): δ 9,10 (с, 1H), 8,99 (д, $J=7,8$ Гц, 1H), 8,23-8,15 (м, 2H), 7,66-7,59 (м, 2H), 7,56-7,49 (м, 2H), 6,67 (д, $J=4,2$ Гц, 1H), 3,95-3,79 (м, 1H), 2,38 (д, $J=6,2$ Гц, 2H), 2,32-2,21 (м, 2H), 2,08-1,98 (м, 2H), 1,88-1,76 (м, 1H), 1,60-1,32 (м, 4H).

Синтез и описание свойств промежуточного соединения 2:

2-((1r,4r)-4-((5-амино-1-(фенилсульфонил)-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-4-ил)амино)циклогексил)ацетонитрил

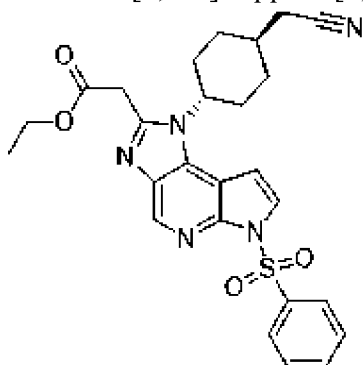


2-((1r,4r)-4-((5-нитро-1-(фенилсульфонил)-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-4-ил)амино)циклогексил)ацетонитрил (промежуточное соединение 1, 58,60 г, 133,3 ммоль) растворяли в ТГФ/MeOH (1 : 1, 4800 мл). Смесь пропускали через реактор для гидрогенизации в непрерывном потоке (10% Pd/C), такой как Thales Nano H-Cube®, со скоростью 10 мл/мин с 100% водорода (атмосферное давление, 80 °C), после чего раствор концентрировали с получением продукта в виде пурпурного твердого вещества. Твердое вещество растирали с EtOAc (400 мл), а впоследствии снова растирали с MeOH (200 мл), после этого фильтровали и сушили под вакуумом с получением указанного в заголовке

соединения (50,2 г, выход 91,9%). МС (ИЭР): масса, рассчитанная для $C_{21}H_{23}N_5O_2S$, 409,2; полученное m/z , 410,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,10-8,03 (м, 2H), 7,76 (с, 1H), 7,51-7,43 (м, 1H), 7,43-7,34 (м, 3H), 6,44 (д, $J=4,2$ Гц, 1H), 4,61 (д, $J=8,5$ Гц, 1H), 3,65-3,51 (м, 1H), 2,74 (с, 2H), 2,26 (д, $J=6,4$ Гц, 2H), 2,19-2,05 (м, 2H), 1,97-1,86 (м, 2H), 1,76-1,59 (м, 1H), 1,33-1,12 (м, 4H).

Синтез и описание свойств промежуточного соединения 3:

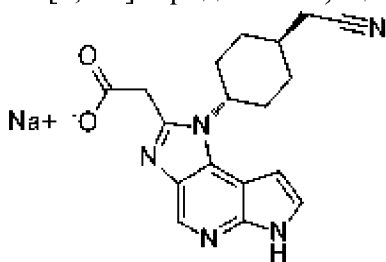
этил-2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетат



В круглодонную колбу объемом 1 л, содержащую магнитный якорь и 2-((1r,4r)-4-((5-амино-1-(фенилсульфонил)-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-4-ил)амино)циклогексил)ацетонитрил (промежуточное соединение 2, 58,31 г, 142,4 ммоль) добавляли этил-3-этокси-3-иминопропаноат (60,51 г, 309,3 ммоль) с последующим добавлением EtOH (600 мл, сушили над молекулярным ситом 3 Å в течение 48 ч). К реакционной колбе прикрепляли обратный конденсатор, реакционную смесь продували N_2 и выдерживали при 90°C в течение 9 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и оставляли на 30 ч, в течение которых продукт кристаллизовался в виде коричневых игл. Твердые частицы разламывали шпателем и реакционную смесь переносили в колбу объемом 2 л. Воду (1,4 л) медленно добавляли через делительную воронку при интенсивном перемешивании. После завершения добавления воды суспензию перемешивали в течение 30 минут. Коричневые иглы выделяли фильтрованием, а затем сушили путем протягивания воздуха через фильтр в течение 1 ч. Продукт переносили в колбу объемом 500 мл и обрабатывали EtOAc (200 мл). Добавляли небольшое количество затравочных кристаллов, что индуцировало образование белого твердого осадка. Суспензию перемешивали в течение 30 минут при комнатной температуре, фильтровали, промывали EtOAc (25 мл) и сушили под вакуумом с получением продукта в виде белого твердого вещества (48,65 г, выход 68%). МС (ИЭР): масса, рассчитанная для $C_{26}H_{27}N_5O_4S$, 505,2; полученное m/z , 506,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 8,85 (с, 1H), 8,28-8,19 (м, 2H), 7,84 (д, $J=4,0$ Гц, 1H), 7,61-7,53 (м, 1H), 7,52-7,43 (м, 2H), 6,84 (д, $J=4,1$ Гц, 1H), 4,32 (с, 1H), 4,20 (к, $J=7,1$ Гц, 2H), 4,09 (с, 2H), 2,44 (д, $J=6,2$ Гц, 2H), 2,40-2,27 (м, 2H), 2,16 (д, $J=13,3$ Гц, 2H), 2,12-1,96 (м, 3H), 1,54-1,38 (м, 2H), 1,27 (т, $J=7,1$ Гц, 3H).

Синтез и описание свойств промежуточного соединения 4:

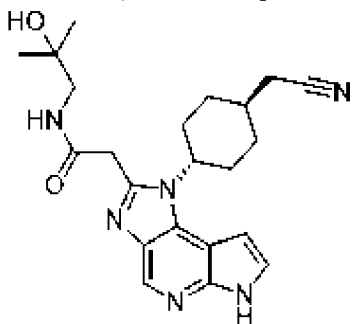
натрий 2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетат



К раствору этил-2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетата (промежуточное соединение 3, 9,50 г, 18,8 ммоль) в MeOH (30 мл) и ТГФ (30 мл) добавляли водный раствор гидроксида натрия (56,4 мл, 56,4 ммоль, 1 М) и перемешивали при комнатной температуре в течение 14 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении при комнатной температуре с получением указанного в заголовке соединения (7 г) в виде коричневого твердого вещества, которое использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для $C_{18}H_{18}N_5NaO_2$, 359,1; полученное m/z , 337,9 $[M+H-Na]^+$. 1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD) δ 8,52-8,47 (м, 1H), 7,85-7,81 (м, 2H), 7,46-7,41 (м, 4H), 6,85-6,81 (м, 1H), 4,60-4,46 (м, 1H), 3,96 (с, 2H), 2,59-2,49 (м, 4H), 2,19-2,05 (м, 6H), 1,56-1,43 (м, 2H) (смесь 1 : 1 указанного в заголовке соединения и бензолсульфоновой кислоты).

Синтез и описание свойств примера 1:

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамид



(пр. 1)

Стадия А: 2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамид. Для получения сухого исходного материала этил-2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетат (промежуточное соединение 3) перед реакцией выдерживали в вакууме при 50°C в течение 18 ч. В колбе объемом 1 л этил-2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетат (промежуточное соединение 3, 52,585 г, 104,01 ммоль) суспендировали в DMA (50 мл). Добавляли 1-амино-2-метилпропан-2-ол (50 мл) и реакционную смесь выдерживали при 110°C в течение 45 минут, а после этого при 125 °C

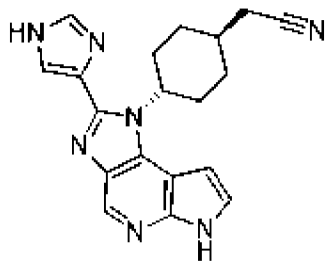
в течение 5 часов. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли EtOAc (800 мл). Органический слой трижды экстрагировали раствором воды/солевого раствора, причем раствор состоял из 1 л воды и 50 мл солевого раствора. Водные слои снова экстрагировали с помощью EtOAc (2×600 мл). Объединенные органические слои сушили безводным $MgSO_4$, концентрировали досуха, а затем сушили в течение 3 дней в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (65,9 г, выход 98%) в виде желтой пены. Продукт использовали на следующей стадии без дополнительной очистки. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для $C_{28}H_{32}N_6O_4S$, 548,22; полученное m/z , 549,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$): δ 8,76 (с, 1H), 8,26-8,19 (м, 2H), 7,84 (д, $J=4,1$ Гц, 1H), 7,60-7,53 (м, 1H), 7,50-7,44 (м, 2H), 6,84 (д, $J=4,2$ Гц, 1H), 4,76-4,61 (м, 1H), 3,97 (с, 2H), 3,45 (с, 1H), 3,27 (д, $J=5,9$ Гц, 2H), 2,41 (д, $J=6,5$ Гц, 2H), 2,38-2,25 (м, 2H), 2,23-2,12 (м, 2H), 2,09-1,94 (м, 4H), 1,48 (кд, $J=13,6$, 4,0 Гц, 2H), 1,21 (с, 6H).

Стадия В: 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)-N-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамид. 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)-N-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамид (65,90 г, 102,1 ммоль) добавляли в колбу объемом 1 л, содержащую магнитный якорь. Добавляли 1,4-диоксан (300 мл), а затем водн. КОН (3 М, 150 мл). Реакционную смесь выдерживали при температуре 80°C в течение 2 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и объем растворителя уменьшали до около 200 мл на ротационном испарителе. Остаток обрабатывали раствором воды/солевого раствора (100 мл/100 мл), а впоследствии экстрагировали 10% MeOH в CH_2Cl_2 (2×1 л). Объединенные слои сушили безводным $MgSO_4$ и концентрировали досуха с получением желтого твердого вещества. Твердое вещество суспендировали в CH_2Cl_2 (200 мл), интенсивно перемешивали в течение 30 минут, а после этого собирали фильтрованием. Твердое вещество промывали CH_2Cl_2 (100 мл), сушили путем протягивания воздуха через фильтр, а впоследствии дополнительно сушили под вакуумом при комнатной температуре в течение 16 ч с получением указанного в заголовке соединения (41,59 г, выход 89%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для $C_{22}H_{28}N_6O_2$, 408,23; полученное m/z , 409,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (600 МГц, $DMSO-d_6$): δ 11,85 (с, 1H), 8,50 (с, 1H), 8,21-8,10 (м, 1H), 7,49-7,43 (м, 1H), 6,74-6,65 (м, 1H), 4,53-4,42 (м, 2H), 4,07 (с, 2H), 3,08 (д, $J=6,0$ Гц, 2H), 2,58 (д, $J=6,1$ Гц, 2H), 2,41-2,28 (м, 2H), 2,09-1,92 (м, 5H), 1,42-1,31 (м, 2H), 1,09 (с, 6H). Синтез и определение свойств активного соединения для каждого из вариантов осуществления настоящего изобретения представлены в настоящем документе в виде примеров. Благодаря кристаллической структуре некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения можно проводить полиморфный скрининг для определения дополнительных свойств конкретных форм любого такого соединения. Это показано в качестве не имеющего ограничительного характера примера для соединения пр. 1 под указанием «полиморфный скрининг». Испытания, приведенные в данном документе применительно к соединению Пр. 1 выполняли с таким соединением в форме, заданной в варианте

осуществления 1s, как описано в примере полиморфного скрининга ниже.

Синтез и описание свойств Примера 2:

2-((1r,4r)-4-(2-(1H-имидазол-4-ил)имидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-1(6H)-ил)циклогексил)ацетонитрил



(пр. 2)

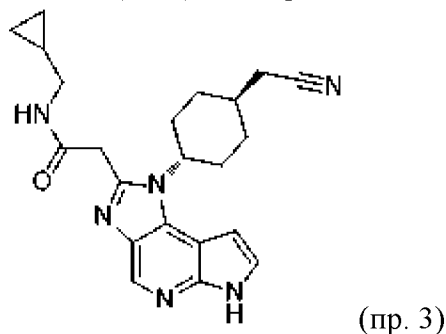
Стадия А: 2-((1r,4r)-4-(2-(1H-имидазол-4-ил)-6-(фенилсульфонил)имидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-1(6H)-ил)циклогексил)ацетонитрил. 2-((1r,4r)-4-((5-нитро-1-(фенилсульфонил)-1H-пирроло[2,3-b]пиридин-4-ил)амино)циклогексил)ацетонитрил (промежуточное соединение 1, 23,3 г, 53,0 ммоль) добавляли в круглодонную колбу объемом 1 л, содержащую магнитный якорь, с последующим добавлением DMSO (200 мл) и метанола (200 мл). 1H-имидазол-4-карбальдегид (8,56 г, 89,1 ммоль) добавляли в виде твердого вещества с последующим добавлением гидросульфита натрия (32,7 г, 188 ммоль) в виде раствора в воде (100 мл). Реакционный сосуд оборудовали обратным конденсатором и выдерживали при 90°C в нагревательном блоке в течение 15 ч. Впоследствии реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли в колбу, содержащую воду (2000 мл), при перемешивании, что приводило к образованию белого осадка. Смесь перемешивали в течение 30 минут и твердые вещества собирали фильтрованием. Твердые вещества сушили путем протягивания воздуха через фильтр в течение 6 ч, после чего дополнительно сушили в вакуумной печи при 60°C в течение 3 дней с получением указанного в заголовке соединения (22,7 г, выход 88%) в виде желтого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₂₅H₂₃N₇O₂S, 485,16; полученное m/z, 486,1 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 8,74 (с, 1H), 8,29 (с, 1H), 8,20-8,11 (м, 2H), 8,04-7,96 (м, 2H), 7,76-7,68 (м, 1H), 7,68-7,60 (м, 2H), 7,19 (д, J=4,2 Гц, 1H), 5,56 (с, 1H), 2,58 (д, J=6,3 Гц, 2H), 2,38-2,24 (м, 2H), 2,07 (с, 1H), 1,98 (д, J=10,8 Гц, 5H), 1,35 (к, J=12,3 Гц, 2H).

Стадия В: 2-((1r,4r)-4-(2-(1H-имидазол-4-ил)имидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-1(6H)-ил)циклогексил)ацетонитрил. Указанное в заголовке соединение получали с применением условий, аналогичных таковым в примере 1 (стадия В), используя 2-((1r,4r)-4-(2-(1H-имидазол-4-ил)-6-(фенилсульфонил)имидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-1(6H)-ил)циклогексил)ацетонитрил (222 мг, 0,46 ммоль) вместо 2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамида, а остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-15% 2 Н NH₃-MeOH/EA) с получением указанного в заголовке соединения (97 мг, выход 69%). МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₁₉H₁₉N₇, 345,17; полученное m/z, 346,0 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 12,61 (с, 1H),

11,86 (с, 1H), 8,55 (с, 1H), 7,92 (д, J=1,3 Гц, 1H), 7,83 (с, 1H), 7,48 (т, J=3,0 Гц, 1H), 6,76 (дд, J=3,5, 1,8 Гц, 1H), 5,85 (с, 1H), 2,60 (д, J=6,0 Гц, 2H), 2,57-2,41 (м, 2H), 2,14-1,88 (м, 5H), 1,45-1,27 (м, 2H).

Синтез и описание свойств Примера 3:

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(циклопропилметил)ацетамид



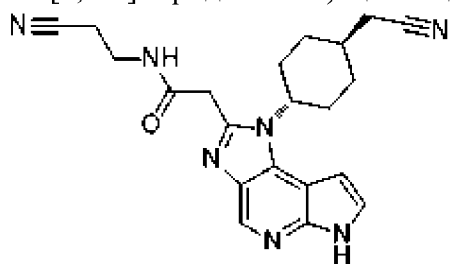
Стадия А: 2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(циклопропилметил)ацетамид.

Смесь этил-2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетата (промежуточное соединение 3, 555 мг, 1,06 ммоль) и циклопропилметиламина (1,87 мл, 21,1 ммоль) выдерживали при 125°C в течение 1 ч в микроволновом реакторе. Остаток обрабатывали водой, после чего экстрагировали этилацетатом. Органические слои объединяли, сушили над сульфатом натрия, пропускали через слой силикагеля и концентрировали досуха с помощью ротационного испарителя с получением указанного в заголовке соединения (642 мг). МС (ИЭР): масса, рассчитанная для $C_{28}H_{30}N_6O_3S$, 530,21; полученное m/z , 531,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD): δ 8,64 (с, 1H), 8,19-8,11 (м, 2H), 7,95 (д, J=4,1 Гц, 1H), 7,66-7,57 (м, 1H), 7,57-7,48 (м, 2H), 7,11 (д, J=4,1 Гц, 1H), 4,53 (с, 1H), 4,08 (с, 2H), 3,07 (д, J=7,1 Гц, 2H), 2,53 (д, J=5,9 Гц, 2H), 2,45-2,30 (м, 2H), 2,14-2,03 (м, 5H), 1,55-1,42 (м, 2H), 1,02-0,94 (м, 1H), 0,54-0,47 (м, 2H), 0,24-0,18 (м, 2H).

Стадия В: 2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(циклопропилметил)ацетамид. К смеси 2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(циклопропилметил)ацетамида (560 мг, 1,05 ммоль) в 1,4-диоксане (4,22 мл) добавляли 3 н. КОН (2,81 мл). Смесь выдерживали при 80°C в течение 1 ч, затем очищали с помощью щелочной ВЭЖХ: колонка Xbridge Prep OBD C_{18} 50 мм x 100 мм, 5 мкм (элюент 0-100% водн. раствор NH_4OH/ACN (10 мин)) с получением указанного в заголовке соединения (187 мг, выход 46%). МС (ИЭР): масса, рассчитанная для $C_{22}H_{26}N_6O$, 390,22; полученное m/z , 391,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (400 МГц, CD_3OD): δ 8,57 (с, 1H), 7,50 (д, J=3,5 Гц, 1H), 6,86 (д, J=3,5 Гц, 1H), 4,57 (с, 1H), 4,11 (с, 2H), 3,13 (д, J=7,0 Гц, 2H), 2,67-2,52 (м, 4H), 2,20-2,03 (м, 5H), 1,58-1,44 (м, 2H), 1,12-0,97 (м, 1H), 0,60-0,48 (м, 2H), 0,31-0,22 (м, 2H).

Синтез и описание свойств Примера 4:

N-(2-цианозтил)-2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетамид

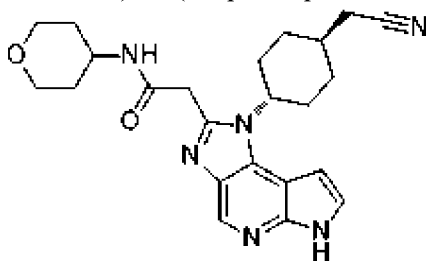


(пр. 4)

К раствору натрия 2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетата (промежуточное соединение 4, 400 мг, 1,11 ммоль) и 3-аминопропаннитрила (320 мг, 2,24 ммоль) в DMF (5 мл) добавляли PyBOP (870 мг, 1,67 ммоль) и DIPEA (0,60 мл, 3,5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 40 ч. После удаления DMF *в вакууме* остаток очищали методом колоночной флэш-хроматографии с использованием 50-100% этилацетата в гептане. Собранные фракции концентрировали *в вакууме* до малого объема и белое твердое вещество, которое выпадало в виде осадка, фильтровали, промывали 10% MeOH в CH₂Cl₂ и сушили с получением указанного в заголовке соединения (75 мг, выход 17%). Фильтрат концентрировали досуха и очищали посредством обращенно-фазовой ВЭЖХ с использованием колонки Varian Pursuit XR_s5 Diphenyl 100 мм x 30 мм (элюент 10-90% CH₃CN в воде, 0,1% TFA) с получением прозрачного масла. Материал растворяли в 10% MeOH в CH₂Cl₂, пропускали через три колонки массой 500 мг SILICYCLE SPE-R66030B-03P Carbonate (картридж для твердофазной экстракции и поглощения кислот SiliaBond) для удаления TFA и элюировали 10% MeOH в CH₂Cl₂ с получением дополнительной фракции указанного в заголовке соединения (88 мг, выход 20%). Две фракции объединяли с получением конечного продукта (163 мг, выход 37%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₂₁H₂₃N₇O, 389,20; полученное m/z, 390,3 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 8,53 (с, 1H), 7,48 (д, J=3,0 Гц, 1H), 6,84 (д, J=3,5 Гц, 1H), 4,51 (уш. с, 1H), 4,12 (с, 2H), 3,50 (т, J=6,6 Гц, 2H), 2,71 (т, J=6,6 Гц, 2H), 2,45-2,63 (м, 4H), 2,03-2,19 (м, 5H), 1,44-1,57 (м, 2H).

Синтез и описание свойств Примера 5:

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(тетрагидро-2H-пиран-4-ил)ацетамид



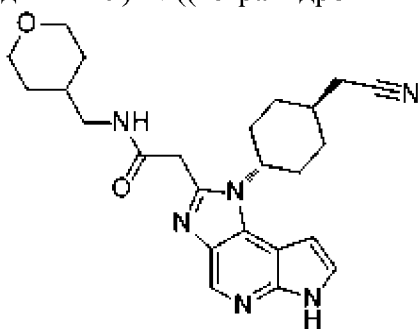
(пр. 5)

Смесь этил-2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетата (промежуточное соединение

3, 309 мг, 0,61 ммоль) и 4-аминотетрагидропирана (195 мг, 1,93 ммоль) в 1,4-диоксане (0,5 мл) нагревали в микроволновом реакторе при 180°C в течение 1 ч. Затем реакционную смесь разбавляли 1,4-диоксаном (1,5 мл), обрабатывали водн. 3 н. КОН (2 мл) и выдерживали при температуре 80°C в течение 1,5 ч. Впоследствии остаток обрабатывали водой (10 мл) и экстрагировали CH₂Cl₂ (3 x 50 мл). Органические слои объединяли, сушили MgSO₄ и концентрировали *in vacuo*. Неочищенный материал очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (5-10% MeOH/CH₂Cl₂) с получением указанного в заголовке соединения (146 мг, выход 57%). МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₂₃H₂₈N₆O₂, 420,23; полученное m/z, 421,2 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (600 МГц, DMSO-d₆): δ 11,84 (с, 1H), 8,49 (с, 1H), 8,36 (д, J=7,5 Гц, 1H), 7,46 (т, J=3,0 Гц, 1H), 6,73-6,67 (м, 1H), 4,54-4,41 (м, 1H), 3,98 (с, 2H), 3,86-3,81 (м, 2H), 3,81-3,74 (м, 1H), 3,40-3,34 (м, 2H), 2,60 (д, J=6,0 Гц, 2H), 2,41-2,29 (м, 2H), 2,10-2,01 (м, 1H), 2,00-1,93 (м, 4H), 1,77-1,70 (м, 2H), 1,49-1,33 (м, 4H).

Синтез и описание свойств Примера 6:

2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)-N-((тетрагидро-2H-пиран-4-ил)метил)ацетамид

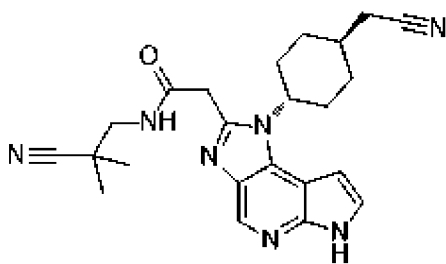


(пр. 6)

Во флакон для микроволновой печи добавляли этил-2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)ацетат (промежуточное соединение 3, 300 мг, 0,593 ммоль) и 4-аминометилтетрагидропиран (683 мг, 5,93 ммоль). Полученный раствор перемешивали при температуре 125°C в течение 1 ч. Затем добавляли диоксан (2,37 мл) и КОН (3 М в воде, 1,58 мл, 4,75 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в микроволновой печи при 80°C в течение 1 ч. Реакционную смесь очищали посредством щелочной ВЭЖХ с использованием колонки Waters Xbridge Prep OBD C₁₈ 150 мм x 30 мм, 5 мкм (элюент 0-100% вода (0,05% NH₄OH)/ACN (10 мин)) с получением указанного в заголовке соединения (97 мг, выход 38%). МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₂₄H₃₀N₆O₂, 434,24; полученное m/z, 435,2 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (500 МГц, CD₃OD): δ 8,43 (с, 1H), 7,38 (д, J=3,5 Гц, 1H), 6,74 (д, J=3,5 Гц, 1H), 4,43 (с, 1H), 4,03-3,96 (м, 2H), 3,89-3,79 (м, 2H), 3,34-3,25 (м, 2H), 3,04 (д, J=6,8 Гц, 2H), 2,54-2,38 (м, 4H), 2,08-1,96 (м, 5H), 1,74-1,63 (м, 1H), 1,59-1,54 (м, 2H), 1,46-1,33 (м, 2H), 1,25-1,14 (м, 2H).

Синтез и описание свойств Примера 7:

N-(2-циано-2-метилпропил)-2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)ацетамид

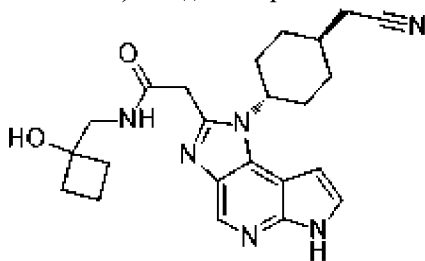


(пр. 7)

Раствор натрий 2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетата (промежуточное соединение 4, 300 мг, 0,835 ммоль), 3-амино-2,2-диметилпропаннитрила (82,0 мг, 0,835 ммоль), DIPEA (216 мг, 1,67 ммоль) и DMF (5 мл) перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Затем добавляли PyBrOP (467 мг, 1,00 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Смесь гасили 10 мл воды и очищали посредством препаративной ВЭЖХ с использованием колонки Waters Xbridge Prep OBD C₁₈ 150 мм x 30 мм 5 мкм (элюент : 28% вода (0,05% гидроксид аммония об./об.)-ACN с получением указанного в заголовке соединения (58 мг, выход 16%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₂₃H₂₇N₇O, 417,23; полученное m/z, 418,2 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 11,86 (уш. с, 1H), 8,71-8,66 (м, 1H), 8,50 (с, 1H), 7,48-7,45 (м, 1H), 6,73-6,69 (м, 1H), 4,53-4,42 (м, 1H), 4,10 (с, 2H), 3,33-3,31 (м, 1H), 2,57 (д, J=5,6 Гц, 2H), 2,41-2,27 (м, 2H), 2,05-1,93 (м, 5H), 1,45-1,26 (м, 9H).

Синтез и описание свойств Примера 8:

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-((1-гидроксициклобутил)метил)ацетамид



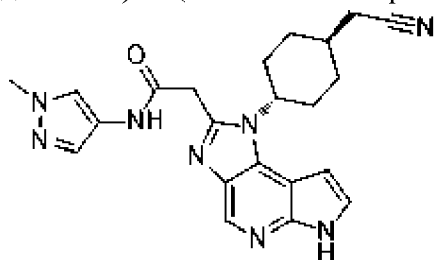
(пр. 8)

Раствор натрий 2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетата (промежуточное соединение 4, 300 мг, 0,835 ммоль), 1-(аминометил)циклобутанола (84,4 мг, 0,835 ммоль), DIPEA (216 мг, 1,67 ммоль) и DMF (5 мл) перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Затем добавляли PyBrOP (467 мг, 1,00 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре, после чего гасили 10 мл воды. Реакционную смесь очищали посредством препаративной щелочной ВЭЖХ с использованием колонки Kromasil 150 мм x 25 мм, 10 мкм (элюент : вода (0,05% гидроксид аммония об./об.)-ACN от 9% до 39%, об./об.) с получением указанного в заголовке соединения (90 мг, выход 26%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₂₃H₂₈N₆O₂, 420,23; полученное m/z, 421,2 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 11,58 (уш. с, 1H), 8,50 (с, 1H), 7,94-7,85 (м, 1H), 7,46-7,40 (м, 1H), 6,75-6,70 (м, 1H), 4,89 (уш. с, 1H), 4,57-4,47 (м, 1H), 4,04 (с, 2H), 3,27 (д, J=6,0 Гц, 2H),

2,55 (д, $J=6,0$ Гц, 2H), 2,45-2,31 (м, 2H), 2,10-1,88 (м, 9H), 1,71-1,60 (м, 1H), 1,54-1,35 (м, 3H).

Синтез и описание свойств Примера 9:

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(1-метил-1H-пиразол-4-ил)ацетамид

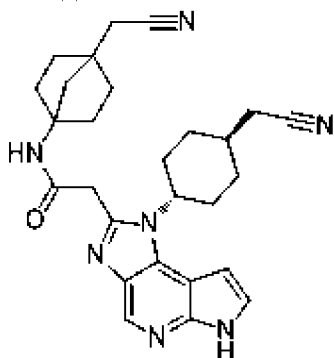


(пр. 9)

К раствору натрия 2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетата (промежуточное соединение 4, 100 мг, 0,278 ммоль) и 1-метил-1H-пиразол-4-амина (54,0 мг, 0,557 ммоль) в DMF (0,8 мл) добавляли PyBrOP (217 мг, 0,417 ммоль) и DIPEA (0,144 мл, 0,835 ммоль) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. DMF удаляли при пониженном давлении и остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (50-100% EtOAc/гептаны, затем 10% MeOH/ДХМ), а затем посредством обращенно-фазовой ВЭЖХ с использованием колонки Varian Pursuit XR_s5 Diphenyl 100 мм x 30 мм (элюент 10-90% CH₃CN в воде, 0,1% TFA) с получением продукта в виде соли TFA. Этот материал растворяли в 10% MeOH в CH₂Cl₂ и пропускали через колонку массой 500 мг SILICYCLE SPE-R66030B-03P Carbonate (картридж для твердофазной экстракции и поглощения кислот SiliaBond) для удаления TFA с получением указанного в заголовке соединения (34 мг, выход 29%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₂₂H₂₄N₈O, 416,21; полученное m/z , 417,3 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ =12,77 (уш. с, 1H), 11,24 (уш. с, 1H), 7,94 (с, 1H), 7,89 (уш. с, 1H), 7,46 (с, 1H), 7,29-7,20 (м, 1H), 6,74 (уш. с, 1H), 4,85-4,65 (м, 1H), 4,23 (с, 2H), 3,85 (с, 3H), 2,80-2,55 (м, 1H), 2,45 (д, $J=6,6$ Гц, 2H), 2,32-1,98 (м, 6H), 1,62-1,44 (м, 2H).

Синтез и описание свойств Примера 10:

N-(4-(цианометил)бицикло[2.2.1]гептан-1-ил)-2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)ацетамид



(пр. 10)

Стадия А: диметилциклопентан-1,3-дикарбоксилат. Раствор циклопентан-1,3-дикарбоновой кислоты (70,0 г, 443 ммоль) и безводного метанола (300 мл) охлаждали до 0 °С на бане с ледяной водой. По каплям добавляли концентрированную серную кислоту (14 мл), поддерживая температуру < 15 °С. После добавления реакционную смесь нагревали до 90 °С и перемешивали в течение ночи. Полученную реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали досуха. Остаток обрабатывали МТВЕ (500 мл) и H₂O (100 мл). Водный слой отделяли и экстрагировали МТВЕ (2×100 мл). Объединенные органические экстракты промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия (2×100 мл), солевым раствором (100 мл), сушили безводным MgSO₄, фильтровали и концентрировали досуха с получением указанного в заголовке соединения (72,5 г, 88%) в виде бледно-желтого масла. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 3,65 (с, 6H), 2,84-2,72 (м, 2H), 2,26-2,17 (м, 1H), 2,11-2,02 (м, 1H), 1,96-1,88 (м, 4H).

Стадия В: диметилбицикло[2.2.1]гептан-1,4-дикарбоксилат. н-бутиллитий (2,5 М в гексане, 419,0 мл, 1048 ммоль) медленно добавляли к раствору диизопропиламина (152 мл, 1090 ммоль) и безводного ТГФ (1000 мл) при -78 °С (сухой лед/ацетон) в атмосфере N₂. После этого реакционную смесь перемешивали в течение 0,5 часа при 0 °С, после чего охлаждали до -78 °С. Через капельную воронку добавляли DMPU (404 мл, 3350 ммоль). Впоследствии через капельную воронку медленно добавляли раствор диметилциклопентан-1,3-дикарбоксилата (78,0 г, 419 ммоль) и безводного ТГФ (300 мл). Реакционную смесь нагревали до 0 °С и перемешивали в течение 30 минут, после чего охлаждали до -78 °С и обрабатывали раствором 1-бром-2-хлорэтана (59,0 мл, 712 ммоль) и безводного ТГФ (200 мл). Реакционной смеси позволяли медленно прогреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 12 часов при комнатной температуре. Впоследствии реакционную смесь гасили насыщенным водным раствором хлорида аммония (400 мл). Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (500 мл), органический слой отделяли и водный слой дополнительно экстрагировали этилацетатом (2×500 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (2 x 300 мл), сушили безводным MgSO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Остаток фильтровали через слой силикагеля и промывали этилацетатом (2000 мл). Фильтрат концентрировали досуха, а остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (петролейный эфир/этилацетат, градиентное элюирование от 30 : 1 до 20 : 1) с получением указанного в заголовке соединения (48,5 г, 54%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 3,69 (с, 6H), 2,08-1,99 (м, 4H), 1,91 (с, 2H), 1,73-1,63 (м, 4H).

Стадия С: 4-(метоксикарбонил)бицикло[2.2.1]гептан-1-карбоновая кислота. Раствор гидроксида натрия (5,145 г, 128,6 ммоль) в метаноле (80 мл) медленно добавляли к раствору диметилбицикло[2.2.1]гептан-1,4-дикарбоксилата (27,3 г, 129 ммоль) и ТГФ (700 мл) при 0 °С и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали досуха, а остаток растирали с МТВЕ (15 мл). Осадок собирали путем фильтрации, промывали МТВЕ (5 мл) и растворяли в 100 мл H₂O. Раствор подкисляли 2 М HCl до достижения pH=4. Осадок собирали путем

фильтрации и сушили в вакууме с получением указанного в заголовке соединения (13,0 г, 51,0%) в виде белого твердого вещества. Фильтрат экстрагировали этилацетатом (3×75 мл) и объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (50 мл), сушили над безводным MgSO_4 , фильтровали и концентрировали досуха с получением второй фракции указанного в заголовке соединения (8,0 г, 31%) в виде белого твердого вещества. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,21 (уш. с, 1H), 3,59 (с, 3H), 1,94-1,86 (м, 4H), 1,74 (с, 2H), 1,61-1,54 (м, 4H).

Стадия D: метил-4-(((бензилокси)карбонил)амино)бицикло[2.2.1]гептан-1-карбоксилат. Дифенилфосфорилазид (17,1 мл, 78,6 ммоль) добавляли к раствору 4-(метоксикарбонил)бицикло [2.2.1]-гептан-1-карбоновой кислоты (13,0 г, 65,6 ммоль), DIPEA (22,8 мл, 131 ммоль) и безводного толуола (200 мл) и реакционную смесь перемешивали при 110°C в течение 2 часов. Реакционную смесь охлаждали до температуры 50 °C и добавляли бензиловый спирт (13,6 мл, 131 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при температуре 110°C в течение ночи. Реакционную смесь концентрировали досуха, растворяли в МТБЕ (250 мл) и промывали H_2O (150 мл). Органический слой отделяли и водный слой экстрагировали МТБЕ (2×100 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (100 мл), сушили безводным MgSO_4 , фильтровали и концентрировали досуха. Остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (петролейный эфир/этилацетат, градиентное элюирование от 10 : 1 до 5 : 1) с получением неочищенного продукта (28,5 г) в виде бледно-желтого масла. Продукт дополнительно очищали посредством препаративной кислот ВЭЖХ с использованием колонки Phenomenex Synergi Max-RP 250×50 мм x 10 мкм (элюент: от 38% до 68% (об./об.) CH_3CN и H_2O с 0,1% TFA). Чистые фракции объединяли и летучие вещества удаляли под вакуумом. Остаток разбавляли H_2O (80 мл), pH раствора доводили до pH=8 насыщенным водным раствором NaHCO_3 и полученный раствор экстрагировали с помощью CH_2Cl_2 (3×100 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (75 мл), сушили над безводным MgSO_4 , фильтровали и концентрировали досуха с получением указанного в заголовке соединения (17,3 г, 85%) в виде бесцветного масла. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_4$, 303,2; полученное m/z, 303,9 $[\text{M}+\text{H}]^+$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 7,56 (уш. с, 1H), 7,37-7,30 (м, 5H), 4,97 (с, 2H), 3,58 (с, 3H), 1,90-1,80 (м, 6H), 1,65-1,59 (м, 4H).

Стадия E: метил-4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)бицикло[2.2.1]гептан-1-карбоксилат. Смесь метил-4-(((бензилокси)карбонил)амино)бицикло[2.2.1]гептан-1-карбоксилата (17 г, 56 ммоль), ди-*трет*-бутилдикарбоната (18,35 г, 84,06 ммоль), MeOH (200 мл) и влажного Pd/C (4 г, 10% масс., 50% H_2O) добавляли в круглодонную колбу объемом 500 мл с водородным баллоном (13 фунтов/кв. дюйм) и перемешивали при комнатной температуре в течение 72 часов. Катализатор фильтровали и фильтрат концентрировали до сухого остатка. Остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (петролейный эфир/этилацетат, градиентное элюирование от 20 : 1 до 1 : 1) с получением указанного в заголовке соединения (12,0 г, 79,5%) в виде белого твердого

вещества. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 7,04 (уш. с, 1H), 3,57 (с, 3H), 1,93-1,78 (м, 4H), 1,77 (с, 2H), 1,63-1,53 (м, 4H), 1,35 (с, 9H).

Стадия F: 4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)бицикло[2.2.1]гептан-1-карбоновая кислота. К раствору метил-4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)бицикло[2.2.1]гептан-1-карбоксилата (5,0 г, 19 ммоль), ТГФ (40 мл) и MeOH (20 мл) добавляли водный гидроксид натрия (1,0 М, 46,4 мл, 46,4 ммоль) при комнатной температуре и реакцию смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Реакционную смесь концентрировали досуха и остаток разбавляли H_2O (20 мл), подкисляли до pH=4-5 с помощью 2 М HCl с получением осадка. Осадок растворяли в 150 мл этилацетата, промывали солевым раствором (45 мл), сушили безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха с получением указанного в заголовке соединения (4,74 г, выход 100%) в виде белого твердого вещества, которое использовали непосредственно на следующей стадии. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6) δ 12,06 (уш. с, 1H), 7,00 (уш. с, 1H), 1,87-1,73 (м, 6H), 1,58-1,50 (м, 4H), 1,35 (с, 9H).

Стадия G: *трет*-бутил-(4-(гидроксиметил)бицикло[2.2.1]-гептан-1-ил)карбамат. Раствор комплекса боран-тетрагидрофуран (1,0 М, 37,1 мл, 37,1 ммоль) медленно добавляли к раствору 4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)бицикло[2.2.1]гептан-1-карбоновой кислоты (4,74 г, 18,6 ммоль) и безводного ТГФ (50 мл) при 0°C в атмосфере азота. После завершения добавления реакцию смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. К смеси медленно добавляли воду (30 мл) и перемешивали в течение дополнительных 30 минут. Реакционную смесь концентрировали досуха, осадок разбавляли этилацетатом (50 мл), промывали H_2O (15 мл) и солевым раствором (10 мл), сушили безводным Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали досуха. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (петролейный эфир/этилацетат 2 : 1) с получением указанного в заголовке соединения (4,0 г, выход 89%) в виде белого твердого вещества. ТСХ (петролейный эфир/этилацетат, 2 : 1), $R_f=0,5$. ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO-d_6): 6,88 (уш. с, 1H), 4,38 (т, $J=5,4$ Гц, 1H), 3,36 (д, $J=5,4$ Гц, 2H), 1,73 (уш. с, 2H), 1,64-1,49 (м, 4H), 1,42 (с, 2H), 1,39-1,33 (м, 9H), 1,25-1,16 (м, 2H).

Стадия H: (4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)бицикло[2.2.1]гептан-1-ил)метилметансульфонат. Пиридин (2,7 мл, 33 ммоль) добавляли к раствору *трет*-бутил-(4-(гидроксиметил)бицикло[2.2.1]гептан-1-ил)карбамата (2,0 г, 8,3 ммоль) и безводного CH_2Cl_2 (30 мл). Реакционную смесь охлаждали до температуры 0°C и добавляли метансульфонилхлорид (2,0 мл, 25,0 ммоль) и перемешивали смесь в течение 3 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь разбавляли CH_2Cl_2 (50 мл) и водой (30 мл). Органический слой отделяли, промывали солевым раствором (15 мл), сушили над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали досуха. Остаток очищали посредством колоночной флэш-хроматографии (петролейный эфир/этилацетат, градиентное элюирование от 5 : 1 до 1 : 1) с получением указанного в заголовке соединения (2,58 г, 97%) в виде белого твердого вещества. ТСХ (петролейный эфир/этилацетат, 1 : 1), $R_f=0,85$. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) 4,73 (уш. с, 1H), 4,21 (с, 2H), 2,98 (с, 3H), 1,93-1,90 (м, 2H), 1,78-1,62 (м, 6H), 1,53-

1,34 (м, 1H).

Стадия I: *трет*-бутил-(4-(цианометил)бицикло[2.2.1]гептан-1-ил)карбамат. К раствору (4-((*трет*-бутоксикарбонил)амино)бицикло[2.2.1]гептан-1-ил)метилметансульфоната (2,58 г, 8,07 ммоль) и DMSO (25 мл) добавляли цианид натрия (1,20 г, 24,5 ммоль). Реакционную смесь нагревали до 100°C и перемешивали в течение 24 часов. Реакционную смесь разбавляли 50 мл воды и экстрагировали этилацетатом (3×40 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (20 мл), сушили безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Остаток очищали с помощью колоночной флэш-хроматографии (петролейный эфир/этилацетат 5 : 1) с получением указанного в заголовке соединения (1,8 г, выход 89%) в виде белого твердого вещества. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 7,00 (уш. с, 1H), 2,67 (с, 2H), 1,82 (уш. с, 2H), 1,69-1,52 (м, 6H), 1,47-1,40 (м, 2H), 1,37 (с, 9H).

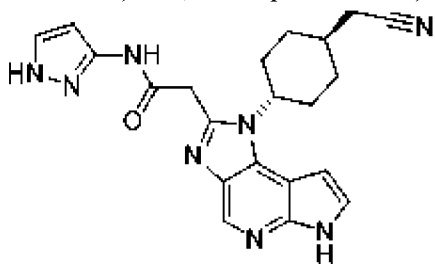
Стадия J: 2-(4-аминобицикло[2.2.1]гептан-1-ил)ацетонитрила гидрохлорид. К суспензии *трет*-бутил-(4-(цианометил)бицикло[2.2.1]гептан-1-ил)карбамата (850 мг, 3,40 ммоль) и этилацетата (2 мл) при 0°C добавляли раствор HCl в этилацетате (4,0 М, 10 мл, 40 ммоль). После перемешивания при комнатной температуре в течение 2 часов смесь концентрировали при пониженном давлении досуха. Остаток растирали с МТВЕ (5 мл) и суспензию отделяли посредством фильтрации. Фильтровальный осадок промывали МТВЕ (1 мл) и сушили при пониженном давлении с получением указанного в заголовке соединения (450 мг, 71%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₉H₁₄N₂ 150,12, полученное m/z, 151,1 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 8,59 (уш. с., 3H), 2,78 (с, 2H), 1,90-1,77 (м, 2H), 1,74-1,62 (м, 4H), 1,60 (с, 2H), 1,56-1,46 (м, 2H).

Стадия K: N-(4-(цианометил)бицикло[2.2.1]гептан-1-ил)-2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)ацетамид. К раствору натрия 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)ацетата (промежуточное соединение 4, 300 мг, 0,835 ммоль), 2-(4-аминобицикло[2.2.1]гептан-1-ил)ацетонитрила гидрохлорида (138 мг, 0,918 ммоль) и DIPEA (0,291 мл, 1,67 ммоль) в сухом DMF (6 мл) добавляли PyBrOP (428 мг, 0,918 ммоль) при 0 °C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. Смесь гасили 10 мл воды и экстрагировали EtOAc (3×20 мл). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором, сушили безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали досуха. Остаток очищали посредством препаративной ВЭЖХ (с использованием колонки Xtimate C₁₈ 150×25 мм x 5 мкм (элюент: от 23% до 33% (об./об.) CH₃CN и H₂O с 10 mM NH₄HCO₃) и препаративной ТСХ (дихлорметан: метанол=15 : 1) с получением указанного в заголовке соединения (36,6 мг, выход 9%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₂₇H₃₁N₇O, 469,3; полученное m/z, 470,2 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD): δ 8,53 (с, 1H), 7,48 (д, J=4,0 Гц, 1H), 6,84 (д, J=4,0 Гц, 1H), 4,47 (уш. с, 1H), 4,07-4,02 (м, 2H), 2,63 (с, 2H), 2,61-2,50 (м, 4H), 2,18-1,98 (м, 7H), 1,94-1,84 (м, 2H), 1,82 (с, 2H), 1,79-1,68 (м, 2H),

1,62-1,43 (м, 4H).

Синтез и описание свойств Примера 11:

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(1H-пиразол-3-ил)ацетамид



(пр. 11)

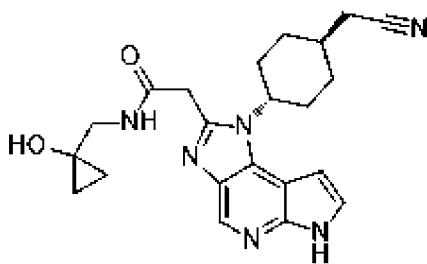
Стадия А: 2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(1H-пиразол-3-ил)ацетамид.

Указанное в заголовке соединение (383 мг, 70%) получали способом, аналогичным описанному в примере 1 (стадия А), с использованием 1H-пиразол-3-амина (465 мг, 5,48 ммоль) вместо 1-амино-2-метилпропан-2-ола. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для $C_{27}H_{26}N_8O_3S$, 542,2; полученное m/z , 543,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$) δ 12,36 (с, 1H), 11,36 (с, 1H), 10,81 (с, 1H), 8,65 (с, 1H), 8,14-8,10 (м, 2H), 7,96 (д, $J=4,1$ Гц, 1H), 7,72-7,68 (м, 1H), 7,63-7,60 (м, 2H), 7,30 (с, 1H), 7,13 (д, $J=4,2$ Гц, 1H), 6,44-6,41 (м, 1H), 5,41 (с, 1H), 4,57 (с, 1H), 4,44 (с, 2H), 4,24 (с, 2H), 2,56 (д, $J=6,2$ Гц, 2H), 2,23-2,13 (м, 2H), 2,02-1,95 (м, 1H), 1,41-1,32 (м, 2H).

Стадия В: 2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(1H-пиразол-3-ил)ацетамид. Указанное в заголовке соединение получали способом, аналогичным описанному в примере 1 (стадия В), с использованием 2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(1H-пиразол-3-ил)ацетамида (270 мг, 0,500 ммоль) вместо 2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамида и очищали посредством щелочной ВЭЖХ с применением колонки Xbridge Prep OBD C_{18} 150 мм x 30 мм, 5 мкм, элюент 5% ACN/NH_4OH (водн.) (10 мин) с получением указанного в заголовке соединения (15 мг, 7%). МС (ИЭР): масса, рассчитанная для $C_{21}H_{22}N_8O$, 402,5; полученное m/z , 403,2 $[M+H]^+$. 1H ЯМР (500 МГц, $DMSO-d_6$): δ 12,35 (с, 1H), 11,85 (с, 1H), 10,84 (с, 1H), 8,50 (с, 1H), 7,58 (д, $J=2,3$ Гц, 1H), 7,46 (д, $J=3,4$ Гц, 1H), 6,72 (д, $J=3,5$ Гц, 1H), 6,47-6,39 (м, 1H), 4,64-4,46 (м, 1H), 4,21 (с, 2H), 2,57 (д, $J=6,1$ Гц, 2H), 2,45-2,26 (м, 2H), 2,08-1,88 (м, 5H), 1,39 (к, $J=11,7$ Гц, 2H).

Синтез и описание свойств Примера 12:

2-(1-((1r,4r)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-((1-гидроксициклопропил)метил)ацетамид



(пр. 12)

Раствор натрий 2-(1-((1*r*,4*r*)-4-(цианометил)циклогексил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-*d*]пирроло[2,3-*b*]пиридин-2-ил)ацетата (промежуточное соединение 4, 300 мг, 0,835 ммоль), 1-(аминометил)циклопропанола (72,7 мг, 0,835 ммоль), DIPEA (216 мг, 1,67 ммоль) и DMF (5 мл) перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Впоследствии добавляли RuBrOP (467 мг, 1,00 ммоль) и реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Смесь гасили 10 мл воды и очищали посредством препаративной щелочной ВЭЖХ с использованием колонки Kromasil 150 мм x 25 мм, 10 мкм (элюент : вода (0,05% гидроксид аммония об./об.)-ACN от 5% до 35%, об./об.) с получением указанного в заголовке соединения (84 мг, выход 25%) в виде белого твердого вещества. МС (ИЭР): масса, рассчитанная для C₂₂H₂₆N₆O₂, 406,21; полученное *m/z*, 407,2 [M+H]⁺. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-*d*₆): δ 11,53 (уш. с, 1H), 8,50 (с, 1H), 8,03-7,93 (м, 1H), 7,44-7,40 (м, 1H), 6,74-6,71 (м, 1H), 5,04 (с, 1H), 4,58-4,49 (м, 1H), 4,02 (с, 2H), 3,29 (д, J=6,0 Гц, 2H), 2,55 (д, J=6,0 Гц, 2H), 2,45-2,31 (м, 2H), 2,10-1,97 (м, 5H), 1,50-1,37 (м, 2H), 0,62-0,55 (м, 2H), 0,55-0,48 (м, 2H).

Пример полиморфного скрининга

Некоторые варианты осуществления соединений в соответствии с настоящим изобретением в виде свободных оснований включают в себя множество конфигураций кристаллической структуры, которые имеют сложные твердотельные характеристики, некоторые из которых в свою очередь могут иметь различающиеся между собой признаки из-за различных количеств включенного растворителя. Некоторые варианты осуществления соединений в соответствии с настоящим изобретением находятся в форме псевдополимеров, которые представляют собой варианты осуществления того же соединения, которые имеют различия в структуре кристаллической решетки из-за различных количеств растворителя в самой кристаллической решетке. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления кристаллической структуры соединений в соответствии с настоящим изобретением также может иметь место сольватация каналов, при которой растворитель включен в каналы или пустоты, присутствующие в кристаллической решетке. Например, были обнаружены различные конфигурации кристаллической структуры, включая приведенные в таблице 2, для соединения Пр. 1. Из-за этих особенностей часто наблюдались нестехиометрические сольваты, как показано в таблице 2. Более того, наличие таких каналов или пустот в кристаллической структуре некоторых вариантов осуществления в соответствии с настоящим изобретением обеспечивает наличие молекул воды и/или растворителя, которые удерживаются внутри кристаллической структуры с различными степенями прочности связывания.

Следовательно, изменения в конкретных условиях окружающей среды могут легко привести к некоторому уменьшению или увеличению числа молекул воды и/или молекул растворителя в некоторых вариантах осуществления в соответствии с настоящим изобретением. Следует понимать, что «сольватация» (третий столбец в таблице 2) для каждого из вариантов осуществления, перечисленных в таблице 2, является сольватацией по формуле и что фактическое определение ее в виде стехиометрического числа (четвертый столбец в таблице 2) может немного отличаться от сольватации по формуле в зависимости от фактических условий окружающей среды при экспериментальном определении. Например, если приблизительно половина молекул воды в одном варианте осуществления может присутствовать в кристаллической решетке в связанном водородными связями с активным соединением состоянии, а приблизительно другая половина молекул воды может находиться в каналах или пустотах в кристаллической решетке, то изменения в условиях окружающей среды могут изменять количество таких несвязанных молекул воды в пустотах или каналах и, следовательно, могут приводить к небольшому различию между сольватацией по формуле, которая устанавливается в соответствии, например, с монокристаллической дифракцией, и стехиометрией, которая определяется, например, посредством термогравиметрического анализа, выполняемого совместно с масс-спектроскопией. Характеристики соединений в соответствии с данным изобретением, такие как формулы сольватации и стехиометрии, определяют после изготовления каждого из таких вариантов осуществления такими способами, как дифракция монокристалла и термогравиметрический анализ в сочетании с масс-спектроскопией.

Таблица 2. Некоторые варианты осуществления кристаллических форм соединения
Пр. 1

Вариант осуществления	Растворитель для кристаллизации	Сольватация	Стехиометрия
1s	-	моногидрат	0,8 H ₂ O
1a	Вода	моногидрат	1,3 H ₂ O
1b	Толуол	Сольват толуола	0,4 толуол
1c	Этилацетат/1,4-диоксан	моногидрат	1,1 H ₂ O
1d	Ацетонитрил/хлороформ	1,7 гидрат	1,7 H ₂ O
1e	Этилацетат/1,4-диоксан	моногидрат	1 H ₂ O
1f	п-ксилол	п-ксилол сольват	0,3 п-ксилол
1f	Кумен	Кумен сольват	0,3 кумен
1g	Анизол	Анизол сольват	0,3 анизол
1h	п-ксилол	п-ксилол сольват	0,2 п-ксилол
2	1,4-Диоксан	1,4-Диоксан сольват	1,2 1,4-диоксан

Вариант осуществления	Растворитель для кристаллизации	Сольватация	Стехиометрия
3b	Циклогексанон	Циклогексанон сольват	0,3 циклогексанон
3c	1,4-Диоксан	1,4-Диоксан сольват	0,5 1,4-диоксан
3d	ТГФ	ТГФ сольват	0,4 ТГФ
3e	Изобутанол	Изобутанол сольват	0,7 изобутанол
1b +4	Вода/метанол	Смесь гидрат/метанол сольват	-
5	Хлороформ	Хлороформ сольват	0,5 хлороформ
6	Ацетонитрил	Безводный	0,2 ацетонитрил
1s +7	Гептан	Гептан сольват	0,1 гептан
7	-	Не сольватирован	-
8	-	Не сольватирован	-
9	-	Не сольватирован	-
10		дигидрат	1,8 H ₂ O
11	этанол	сольват этанола	0,5 этанол
11b	метанол	сольват метанола	0,5 метанол
12	-	безводный	-
13	метанол/вода	метастабильная форма	
14		метастабильный гидрат	
15	толуол	сольват с толуолом	0,55 толуол
16	этилацетат	сольват этилацетата	0,09 этилацетат
17	изопропилацетат	сольват изопропилацетата	0,13 изопропилацетат
18	2-бутанон	сольват 2-бутанона	0.2 2-бутанон

Соединение, полученное, как описано в примере 1, дополнительно кристаллизовали путем приготовления суспензии в ДХМ (1 : 3, например, 10 г соединения в 30 мл ДХМ), которую перемешивали при 40°C в течение 4 часов и дополнительно перемешивали в течение 14 часов при 25 °С, впоследствии медленно добавляли гептан (1 : 2, например, 20 мл гептана в смесь соединение/суспензия ДХМ/раствор) при 25 °С, перемешивали при 40°C в течение 4 часов, охлаждали до 25 °С и перемешивали в течение еще 14 часов при 25 °С. Последующее фильтрование приводило к получению соединения пр. 1 в форме беловатого твердого вещества, которое при определении подлинности представляло собой моногидрат (вариант осуществления 1s).

Аморфную форму соединения Пр. 1, вариант осуществления 19, получали следующим образом. Вариант осуществления 1s (1 г) растворяли в *трет*-бутаноле (40 об.) и перемешивали при 50 °С. К раствору добавляли предварительно высушенные

молекулярные сита и перемешивали в течение 10 мин. Раствор фильтровали и разделяли на аликвоты во флаконы для ВЭЖХ (1 мл), которые замораживали на бане с сухим льдом и ацетоном сразу же после этого. Затем образцы помещали в сублимационную сушилку на 48 ч. Материал был аморфным по данным XRPD и соответствовал предполагаемой структуре по данным ^1H -ЯМР, в которой присутствует 0,4 моль *трет*-бутанола на молекулу соединения Пр. 1. Этот материал нагревали до 150°C и выдерживали при 150°C в течение 10 мин. Конечный образец анализировали методом XRPD и ^1H -ЯМР, и было определено, что он является аморфным и, что осталось 0,03 моль трет-бутанола на молекулу соединения Пр. 1.

Варианты осуществления 1-18 в Таблице 2 и на Фиг. 2 являются кристаллическими, а вариант осуществления 19 на Фиг. 2 является аморфным. Варианты осуществления 1s и 1a-1h являются изоструктурными. Вариант осуществления 1s кристаллизуется в центрально симметричную триклинную пространственную группу P-1. Термин «вариант осуществления 1» в совокупности относится к изоструктурным вариантам осуществления 1s и 1a-1h. Любой из таких вариантов осуществления 1s и 1a-1h иногда называется изоструктурным элементом варианта осуществления 1 или просто элементом варианта осуществления 1. Варианты осуществления 3b, 3c, 3d и 3e являются изоструктурными и кристаллизуются в моноклинную систему (пространственная группа C 2/c). Термин «вариант осуществления 3» в совокупности относится к изоструктурным вариантам осуществления 3b, 3c, 3d и 3e. Любой из таких вариантов осуществления 3b, 3c, 3d и 3e иногда называется изоструктурным элементом варианта осуществления 3 или просто элементом варианта осуществления 3. Изоструктурные варианты осуществления таковы, что они обладают сходными свойствами кристаллической структуры (такая же симметрия и аналогичные параметры элементарной ячейки и упаковка кристалла) и при этом имеют различные химические составы (т. е. различное число молекул растворителя и/или воды, встроенных в кристаллическую решетку). Параметры элементарной ячейки в изоструктурных вариантах осуществления могут несколько отличаться в зависимости от состава (растворитель или вода, встроенные в кристаллическую структуру). Варианты осуществления, упомянутые в Таблице 2, были получены и/или взаимно преобразованы, как схематически показано на Фиг. 2 и более подробно описано следующим образом.

Используемые в этих препаратах протоколы кристаллизации включали уравнивание растворителя в чистых растворителях, испарительную кристаллизацию, охладительную кристаллизацию с горячей фильтрацией, кристаллизацию при столкновении с антирастворителем, кристаллизацию посредством термоциклирования, инкубацию при низкой температуре, созревание под воздействием тепла/охлаждения, инкубацию при повышенной температуре, высокотемпературное созревание с использованием аморфного материала (вариант осуществления 19) и термоциклирование с использованием аморфного материала (вариант осуществления 19). Твердые вещества анализировали с помощью HT-XRPD или XRPD. Если применимо, маточные растворы полностью выпаривали, а оставшиеся твердые вещества также анализировали с помощью

HT-XRPD или XRPD. Вариант осуществления исходного материала 1s в виде моногидрата представлял собой преобладающую твердую форму.

Уравновешивание растворителя при 25°C и 50 °C

Долгосрочные эксперименты с суспензией проводили путем суспендирования соединения варианта осуществления 1s в двадцати чистых растворителях и перемешивания при комнатной температуре в течение двух недель и при 50°C в течение одной недели. По окончании времени уравновешивания остаточные твердые вещества отделяли от маточных растворов. Твердые вещества сушили в условиях окружающей среды и сушили в вакууме (5 мбар), а затем анализировали посредством HT-XRPD. Затем твердые вещества подвергали воздействию условий ускоренного старения (40 °C/относительная влажность 70%) в течение двух дней и снова анализировали с помощью HT-XRPD.

Из большинства растворителей для кристаллизации получали исходный материал в виде варианта осуществления 1s. Из нескольких растворителей для кристаллизации были получены кристаллы, HT-XRPD-дифрактограммы которых были схожими с таковыми исходного варианта осуществления 1s. В большинстве данных дифрактограмм были обнаружены смещения пика и/или дополнительные пики. Каждая из этих дифрактограмм соответствовала варианту осуществления, который был обозначен как один из вариантов осуществления 1a-1h, и на основании сходства HT-XRPD-дифрактограмм для таких вариантов осуществления они представлены в виде вариантов осуществления, являющихся изоструктурными элементами варианта осуществления 1. Все изоструктурные элементы варианта осуществления 1 были преобразованы в вариант осуществления 1a после воздействия 40°C и 75% ОВ в течение двух дней.

Вариант осуществления 1s превращался в гидратированный вариант осуществления 10 после воздействия 100% ОВ при 25 °C. При этом вариант осуществления 10 был физически нестабилен при условиях окружающей среды. Хотя вариант осуществления 1s кристаллизовался в триклинную систему (пространственная группа P-1), было обнаружено, что вариант осуществления 10 кристаллизуется в моноклинную систему (пространственная группа C 2/c). Вариант осуществления 10 имел ограниченную физическую стабильность в условиях окружающей среды и был преобразован в другой вариант осуществления, такой как 1s или 1a. Это поведение объясняется неравномерно сильным связыванием всех молекул, обеспечивающих гидратацию/сольватацию. В этом случае вариант осуществления 10 будет иметь менее прочно связанную вторую молекулу воды, которая будет потеряна в условиях окружающей среды. Точнее физическая стабильность варианта осуществления 1s была исследована в климатических камерах путем воздействия на пробу массой 20 мг такого варианта осуществления температуры 40°C и относительной влажности 70% в течение четырех дней, а на другую пробу массой 20 мг того же варианта осуществления также в течение четырех дней температурой 25°C и относительной влажностью 100%. Через четыре дня различные пробы твердого вещества анализировали с помощью HR-XRPD,

определяли параметры кристаллической ячейки и расшифровывали дифрактограммы. Дифрактограммы показаны на Фиг. 6. Снизу вверх, первая дифрактограмма на Фиг. 6 соответствует варианту осуществления 1s в качестве исходного материала, а вторая соответствует той же форме после 4-дневного воздействия температуры 40 °C и относительной влажности 70%, отмечено на этой фигуре как «1s 70 ОВ». Этот анализ показал, что исходный вариант осуществления 1s был восстановлен, хотя с небольшим количеством второй кристаллической формы, которая, возможно, представляла собой еще один гидратированный вариант осуществления с более высоким содержанием воды. Классификация такой формы оказалась невозможной из-за небольшого количества, в котором она присутствовала. Третья дифрактограмма соответствовала варианту осуществления 1s после 4-дневного воздействия температуры 25 °C и относительной влажности 100% и отмечена на той же фигуре как “10”. Эти условия привели к превращению варианта осуществления 1s в вариант осуществления 10 с небольшим содержанием исходного варианта осуществления 1s и сольватацией, как показано в таблице 2. После дегидратации оба варианта осуществления 1s и 10 повторно кристаллизовали в безводную форму с температурой плавления 148 °C.

Вариант осуществления 10 также получали путем конверсии суспензии варианта осуществления 1s или варианта осуществления 19 в воде с циклическими изменениями температуры 25-5 °C. Суспензию получали путем суспендирования 50 мг материала в 1 мл воды. Циклическое изменение температуры 25-5 °C: смесь нагревали при 25°C в течение 1 часов, а затем снижали температуру до 5°C в течение периода 2 часов. Затем смесь выдерживали при температуре 5°C в течение 1 часа. Затем температуру повышали до 25°C в течение 2 часов. Этот режим циклического изменения температуры повторяли в общей сложности в течение около 24 часов. Твердые вещества выделяли вакуумным фильтрованием, а затем высушивали на фильтре в течение 10 минут. Вариант осуществления 10 превращался в вариант осуществления 1s во время сушки в условиях окружающей среды и в вакууме.

Уравновешивание растворителя при комнатной температуре приводило к получению варианта осуществления 1b из толуола в качестве растворителя для кристаллизации и варианта осуществления 1f из п-ксилола в качестве растворителя для кристаллизации.

Определили три дополнительных варианта осуществления твердого вещества, которые обозначили как варианты осуществления 2, 3 и 7. Вариант осуществления 2, чьи TGA и DSC показаны на Фигуре 21A и 21B, соответственно, определили в эксперименте по уравновешиванию растворителя, проводившемся при комнатной температуре в 1,4-диоксане, тогда как вариант осуществления 7 обнаружили в виде смеси с вариантом осуществления 1s в единственном эксперименте по уравновешиванию растворителя при 50 °C из гептана. Обнаружили несколько схожих, но не идентичных дифрактограмм, которые сгруппировали в качестве вариантов осуществления 3b, 3c, 3d и 3e, являющихся изоструктурными элементами варианта осуществления 3. Изоструктурные элементы

варианта осуществления 3 обнаружили в смешанном виде с элементами варианта осуществления 1. Смеси, содержащие элементы варианта осуществления 3, в некоторых случаях преобразовывали в вариант осуществления 1а или в смеси вариантов осуществления 1а и 3е. Вариант осуществления 7 оказался физически стабильным, но вариант осуществления 2 превращался в вариант осуществления 3е после воздействия ААС в течение двух дней.

Испарительная кристаллизация

Маточные растворы, оставшиеся от экспериментов по уравниванию растворителя, проводимых при комн. темп., использовали для проведения экспериментов по медленной испарительной кристаллизации. Маточные растворы фильтровали для удаления любых твердых частиц и позволяли им медленно испаряться в условиях окружающей среды. Полученные твердые вещества анализировали с помощью HT-XRPD и повторно после воздействия ААС в течение двух дней.

Из-за низкой растворимости соединения пр. 1 в некоторых растворителях при их применении не было восстановлено никаких твердых частиц. В экспериментах, в которых происходило осаждение твердых веществ, был восстановлен аморфный остаток или изоструктурные элементы вариантов осуществления 1 или 3. В ходе исследования стабильности различные элементы варианта осуществления 1 преобразовывались в вариант осуществления 1а, в то время как проба варианта осуществления 3 выглядела физически стабильной. Аморфные твердые вещества в некоторых случаях оставались аморфными после исследования стабильности, становились растворимыми или демонстрировали некоторые признаки кристаллизации.

Охлаждающая кристаллизация

Маточные растворы из экспериментов по уравниванию растворителя, выполнены при 50 °C, фильтровали при 50°C для удаления любых твердых частиц. Суспензии при 50°C фильтровали с использованием ПТФЭ-фильтров с размером пор 0,2 мкм и растворы помещали под воздействие температуры 5°C и выдерживали в течение 72 часов. После осаждения в результате старения твердых веществ их отделяли от жидкости, сушили в условиях окружающей среды и в вакууме и анализировали с помощью HT-XRPD. Оставшиеся маточные растворы оставляли для медленного выпаривания, а оставшиеся твердые вещества анализировали с помощью HT-XRPD. Пробы, в которых не происходило осаждения, помещали в вакуум, а высушенные твердые вещества анализировали с помощью HT-XRPD. Все твердые вещества затем подвергали воздействию ААС (2 дня при 40 °C/70% ОВ) и повторно анализировали с помощью HT-XRPD.

В некоторых растворах твердые вещества не осаждались при охлаждении, и в этом случае растворы выпаривали в условиях окружающей среды. Из-за плохой растворимости соединения пр. 1 в некоторых растворителях из некоторых растворов не было получено никаких твердых веществ.

Из четырех растворителей (2-пропанол, 2-бутанон, ацетонитрил и метанол)

образовывался осадок. Вариант осуществления 6 обнаруживали после выпаривания раствора из одного эксперимента по охладительной кристаллизации в миллилитровом диапазоне в 800 мкл ацетонитрила (концентрация 25 мг/мл). Вариант осуществления 6 выглядел как стабильная твердая форма после 2 дней AAC и представлял собой несольватированный вариант осуществления.

Охлаждающая/испарительная кристаллизация в микролитровом диапазоне

Эксперименты по охлаждающей/испарительной кристаллизации в микролитровом диапазоне выполняли на 96-луночной планшете с использованием 12 чистых растворителей и 12 смесей растворителей и с применением четырех температурных профилей. В каждую лунку дозировали приблизительно 4 мг варианта осуществления 1s в виде твердого вещества. После этого добавляли растворители для кристаллизации (80 мкл) и смеси растворителей до достижения концентрации 50 мг/мл, а планшет с герметизированной индивидуально каждой лункой впоследствии подвергали воздействию одного из четырех температурных профилей. После завершения температурной обработки растворители оставляли для испарения при низком давлении окружающей среды (24 часа), а оставшиеся твердые вещества анализировали с помощью HT-XRPD до и после воздействия AAC в течение 2 дней (40 °C/70% OB).

Элементы вариантов осуществления 1 и 3 были обнаружены в большинстве систем растворителей и температурных профилей. При этом наблюдалась определенная зависимость твердой формы от температурного профиля. Вариант осуществления 1b главным образом обнаруживали при воздействии коротких температурных профилей (3 часа старения). При этом при длительном времени старения те же системы растворителей приводили к обнаружению варианта осуществления 1f, элементов варианта осуществления 3 или смесей элементов вариантов осуществления 1 и 3. Вариант осуществления 3c получали с использованием 1,4-диоксана в качестве растворителя для кристаллизации и следующего температурного профиля: начальная температура 50 °C, поддерживаемая в течение 60 мин, а затем охлаждение со скоростью от 1 °C/ч до конечной температуры 20 °C, которую поддерживали в течение 48 ч; вариант осуществления 3d получали с использованием тетрагидрофурана в качестве растворителя для кристаллизации и того же температурного профиля, что и для варианта осуществления 3c.

Вариант осуществления 4 определяли в экспериментах, проведенных в смеси метанол/вода (50/50, об./об.), ТГФ и ДХМ/ПА (50/50, об./об.) при применении условий быстрого старения. Вариант осуществления 4 получали путем обработки варианта осуществления 1s смесью (50/50) воды и метанола и использования следующего температурного профиля: начальная температура 50 °C, поддерживаемая в течение 60 мин, а затем охлаждение со скоростью 20 °C/ч до конечной температуры 5 °C, которую поддерживали в течение 3 ч, что приводило к получению варианта осуществления 4 вместе с вариантом осуществления 1b. Вариант осуществления 4 вместе с вариантом осуществления 1b также получали путем обработки 1s смесью (50/50) воды и метанола и

использования следующего температурного профиля: начальная температура 50 °С, поддерживаемая в течение 60 мин, а затем охлаждение со скоростью 20 °С/ч до конечной температуры 20 °С, которую поддерживали в течение 3 ч. Вариант осуществления 4 не был физически стабильным в условиях окружающей среды. В экспериментах по охладительной кристаллизации получали вариант осуществления 1с из этилацетата/1,4-диоксана (50/50, об./об.) в качестве растворителя для кристаллизации с использованием следующего температурного профиля: начальная температура 50 °С, поддерживаемая в течение 60 мин, а затем охлаждение со скоростью 1 °С/ч до конечной температуры 5 °С, которую поддерживали в течение 48 ч; вариант осуществления 1d из ацетонитрила/хлороформа (50/50, об./об.) в качестве растворителя для кристаллизации с использованием следующего температурного профиля: начальная температура 50 °С, поддерживаемая в течение 60 мин, а затем охлаждение со скоростью 1 °С/ч до конечной температуры 5 °С, которую поддерживали в течение 48 ч; и вариант осуществления 1e из этилацетата/1,4-диоксана (50/50, об./об.) в качестве растворителя для кристаллизации с использованием следующего температурного профиля: начальная температура 50 °С, поддерживаемая в течение 60 мин, а затем охлаждение со скоростью °С/ч до конечной температуры 20 °С, которую поддерживали в течение 48 ч.

Вариант осуществления 5 определяли в экспериментах, выполненных в хлороформе в качестве растворителя для кристаллизации и со следующим температурным профилем: начальная температура 50 °С, поддерживаемая в течение 60 мин, а затем охлаждение со скоростью от 1 °С/ч до конечной температуры 20 °С, которую поддерживали в течение 48 ч.

Аналогичные преобразования наблюдали в ходе исследования стабильности, как было отмечено ранее при использовании других способов кристаллизации. В большинстве случаев все твердые формы преобразуются в вариант осуществления 1a или в смеси, содержащие вариант осуществления 1a.

Испарительная кристаллизация из твердых смесей

При испарительной кристаллизации с использованием смесей растворителя/антирастворителя получают прозрачные растворы соединения, из которых сначала испаряется растворитель (высокое давление пара), что приводит к осаждению соединения в некоторой степени в форме кристаллов. Впоследствии эти кристаллы выступают в качестве затравки при испарении антирастворителя (более низкое давление паров).

Соединение пр. 1 не полностью растворялось в каждой из систем растворителей. По этой причине все эксперименты включали фильтрацию перед выпариванием.

Результаты анализа с помощью НТ-XRPD показали, что соединение пр. 1 кристаллизовалось преимущественно в виде варианта осуществления 1s после выпаривания смесей растворителей. Это наблюдали для следующих систем растворитель/антирастворитель: тетрагидрофуран/вода, ацетонитрил/вода, хлороформ/этанол, метанол/этилацетат, 2-бутанон/изопропанол и гептан/ацетон. Из двух

систем (ацетон/кумен и 1,4-диоксан/этилформат) получали изоструктурные варианты осуществления 3e и 3e, которые после воздействия AAC превращались в различные смеси вариантов осуществления 1a и 3d, и 1s и 3e соответственно.

Кристаллизация с использованием антирастворителя

Насыщенные растворы соединения пр. 1 получали в чистых растворителях. Добавление антирастворителя проводили путем прямого и обратного добавления. При прямом добавлении к раствору соединения добавляли антирастворитель в трех аликвотах. Обратное добавление выполняли путем добавления объема раствора соединения к большому избытку антирастворителя (20 мл).

После осаждения твердые вещества отделяли от жидкости, сушили в условиях окружающей среды и сушили в вакууме (5 мбар), а затем анализировали посредством НТ-XRPD. Растворы из экспериментов, в которых не происходило осаждения после добавления растворителя, хранили при 5°C в течение 48 часов для индуцирования осаждения. После этого осажденные твердые вещества разделяли и анализировали с помощью НТ-XRPD. При отсутствии твердого вещества растворы выпаривали в мягких условиях, а оставшиеся твердые вещества анализировали с помощью НТ-XRPD. Все твердые вещества подвергали воздействию AAC (2 дня при 40 °C/70% ОВ) и повторно анализировали с помощью НТ-XRPD.

Во всех случаях при прямой кристаллизации с использованием антирастворителя наблюдали образование осадка. Все твердые вещества могут быть классифицированы как изоструктурные элементы (1s, 1b, 1j, 1f) варианта осуществления 1 или варианта осуществления 3 (3b, 3d, 3f). После воздействия AAC все пробы твердого вещества преобразовывались в вариант осуществления 1a, за исключением одной, которая преобразовалась в смесь вариантов осуществления 1a и 3e.

Эксперименты по обратной кристаллизации с использованием антирастворителя, выполненные в DMSO в качестве растворителя, приводили к получению различных твердых форм в зависимости от используемого антирастворителя. При использовании дихлорметана или п-ксилола определили изоструктурные элементы (1s и 1b) варианта осуществления 1, тогда как при использовании МТВЕ получили аморфный остаток. Выпаривание двух растворов с гептаном и водой в качестве антирастворителей, в которых не наблюдали осаждения при добавлении антирастворителя, приводило к получению масла. Преобразования в соответствии с вариантом осуществления 1a наблюдали после воздействия AAC, а аморфные остатки становились растворимыми.

Эксперименты с горячей фильтрацией

Эксперименты по охлаждающей кристаллизации с горячей фильтрацией выполняли из пересыщенных растворов соединения пр. 1, полученных при 50°C в различных смесях растворителей. Профильтрованные в горячем состоянии растворы подвергали 48-часовому охлаждению. Флаконы, в которых твердые вещества осаждались после температурной обработки, центрифугировали и твердые вещества отделяли от жидкости и анализировали с помощью НТ-XRPD (после сушки в вакууме). Если твердые

вещества не осаждались, растворы выпаривали в вакууме и твердые вещества анализировали с помощью HT-XRPD. Все твердые вещества подвергали воздействию AAC (2 дня при 40 °C/70% ОВ) и повторно анализировали с помощью HT-XRPD. В половине экспериментов с горячей фильтрацией осаждения не наблюдали и после выпаривания растворителей не обнаруживали достаточного количества твердых веществ из-за низкой растворимости соединения пр. 1 в этих системах растворителей. В трех экспериментах восстанавливался аморфный остаток, который после воздействия AAC кристаллизовался в смесь элементов варианта осуществления 1 (1s или 1a) и 3 (3e) или становился растворимым. Вариант осуществления 5 определяли в эксперименте в ацетоне/хлороформе (50/50, об./об.). Этот вариант осуществления оказался физически нестабильным, так как после воздействия AAC происходило преобразование в вариант осуществления 1a.

Эксперименты с термоциклированием

Суспензии около 6 мг варианта осуществления 1s получали в 10 растворителях при комнатной температуре. Суспензии подвергали циклированию в диапазоне от 5°C до 50 °C. После завершения термоциклирования твердые вещества отделяли центрифугированием и сушили в условиях окружающей среды и в вакууме (5 мбар), а затем анализировали с помощью HT-XRPD. Впоследствии все твердые вещества подвергали воздействию AAC в течение двух дней и снова анализировали с помощью HT-XRPD. Эксперименты с термоциклированием, как правило, способствуют образованию более стабильной полиморфной формы. За исключением эксперимента, выполненного в циклогексаноне, все флаконы после температурной обработки содержали твердые вещества. Раствор циклогексанона медленно выпаривали в легком вакууме. Элементы вариантов осуществления 1, 3 или их смеси выявляли преимущественно во влажных твердых веществах. После сушки этих твердых веществ происходило преобразование в вариант осуществления 1s. Варианты осуществления 3b и 3e получали путем термоциклирования в 300 мкл циклогексанона в концентрации 51 мг/мл (3b) и в 400 мкл изобутанола в концентрации 37,3 мг/мл (3e). Вариант осуществления 5 получали путем термоциклирования в 800 мкл хлороформа в концентрации 18,6 мг/мл.

На Фигурах 3, 4 и 5 показано наложение дифрактограмм HT-XRPD некоторых вариантов осуществления, перечисленных в Таблице 2, а также упомянутых в описанном выше скрининге.

Вариант осуществления 1s восстанавливался в большинстве экспериментов по кристаллизации. Он представляет собой канальный гидрат, имеющий переменное число встроенных молекул воды и/или других растворителей в зависимости от условий окружающей среды. Наблюдали преобразование в вариант осуществления 1a. Данная форма содержала немного больше воды (1,3 молекулы воды). Все изоструктурные элементы варианта осуществления 1 были преобразованы в вариант осуществления 1a после воздействия 40°C и 75% ОВ в течение двух дней. Смещение некоторых дифракционных пиков на дифрактограммах XRPD элементов варианта осуществления 1

может быть связано с тем, что в кристаллическую решетку было включено различное число молекул растворителя или воды. На Фиг. 4 показано наложение дифрактограмм HT-XRPD элементов варианта осуществления 1. Дифрактограмма 1s соответствует соединению пр. 1 в качестве исходного материала в форме варианта осуществления 1s. Дифрактограмма 1a соответствует варианту осуществления 1a, полученному после воздействия ААС на несколько проб варианта осуществления 1s. Дифрактограмма 1b соответствует варианту осуществления 1b, полученному в эксперименте по уравниванию растворителя при комн. темп. в толуоле. Дифрактограмма 1c соответствует варианту осуществления 1c, полученному в эксперименте по охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в смеси этилацетат/1,4-диоксан (50/50 об./об.). Дифрактограмма 1с соответствует варианту осуществления 1d, полученному в эксперименте по охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в смеси ацетонитрил/хлороформ (50/50 об./об.). Дифрактограмма 1e соответствует варианту осуществления 1e, полученному в эксперименте по охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в смеси этилацетат/1,4-диоксан (50/50 об./об.). Дифрактограмма 1f соответствует варианту осуществления 1f, полученному в эксперименте по уравниванию растворителя при комн. темп. в п-ксилоле. Дифрактограмма 1g соответствует варианту осуществления 1g, полученному в эксперименте по уравниванию растворителя при 50 °С в анизоле. Дифрактограмма 1h соответствует варианту осуществления 1h, полученному в эксперименте по охлаждающей кристаллизации в микролитровом диапазоне в п-ксилоле.

Дифрактограммы для элементов варианта осуществления 3 показаны на Фиг. 5. Смещения, наблюдаемые в различных дифрактограммах HT-XRPD, вероятнее всего связаны с различным числом молекул растворителя, включенных в кристаллическую решетку. Вариант осуществления 3 получали нагреванием варианта осуществления 2 до 40°С при ОВ 70% в течение 4 дней. Варианты осуществления с 3b-3e представляли собой сольватированные формы, содержащие нестехиометрическое количество растворителя, которое изменялось в зависимости от растворителя, включенного в кристаллическую структуру (0,3-0,7 молекулы). Смеси, содержащие элементы варианта осуществления 3, были нестабильными при воздействии ААС и, в некоторых случаях, преобразовывались в вариант осуществления 1a или в смеси вариантов осуществления 1a и 3e. Превращение в вариант осуществления 1a обусловлено заменой молекул растворителя молекулами воды при воздействии высокой относительной влажности и повторной кристаллизацией до гидратированного варианта осуществления 1a.

Вариант осуществления 9 получали нагреванием варианта осуществления 2 до температуры около 200°С с последующим охлаждением до 25 °С, а также посредством циклической дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC) 25-200-25-300 °С. Вариант осуществления 9 также получали с помощью дополнительных процедур. Одной из таких процедур является двухстадийная процедура: Вариант осуществления 1s (1,5 г) обрабатывали 1,4-диоксаном (10 объемов) при комнатной температуре. Добавляли

затравки по варианту осуществления 2 (5 мг) и образец перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Полученную суспензию фильтровали и образец сушили на воздухе в течение 1,5 часов. Определили, что данный образец представляет собой вариант осуществления 2 по данным XRPD. На второй стадии этой двухстадийной процедуры вариант осуществления 2 нагревали до 210°C со скоростью 10 °C/мин и выдерживали при 210°C в течение 30 мин. Затем образцу давали остыть до комнатной температуры. Полученное твердое вещество определили как вариант осуществления 9 по данным XRPD-анализа. Другая из таких процедур также представляла собой двухстадийную процедуру получения варианта осуществления 9. В этой процедуре вариант осуществления 1s (1,5 г) обрабатывали 1,4-диоаксоном (10 об.). Добавляли затравки по варианту осуществления 2 (5 мг) и образец перемешивали при комнатной температуре в течение 24 часов. Полученную суспензию фильтровали и образец сушили на воздухе в течение 1,5 часов. Определили, что данный образец представляет собой вариант осуществления 2 по данным XRPD. На второй стадии этой процедуры вариант осуществления 2 нагревали до 150°C со скоростью 10 °C/мин с последующим дополнительным нагреванием до 170°C со скоростью 2 °C/мин. Реакционной смеси давали остыть до комнатной температуры. Полученное твердое вещество определили как вариант осуществления 9 по данным XRPD-анализа. TGA и DSC для варианта осуществления 9 показаны на Фигурах 22А и 22В, соответственно.

Вариант осуществления 1s получали суспендированием варианта осуществления 9 в следующих растворителях в течение 6 дней при 50 °C: 2-бутанон, ацетон/вода (90/10, об./об.) и ацетонитрил/вода (90/10, об./об.). Вариант осуществления 1s также был получен при проведении того же эксперимента при комнатной температуре.

Вариант осуществления 8 получали нагреванием варианта осуществления 5 до температуры около 175 °C. Вариант осуществления 8 также получали с помощью дополнительных процедур. Одной из таких процедур является двухстадийная процедура: Вариант осуществления 1s (1,5 г) обрабатывали 1,4-диоксаном 10 (об.) и перемешивали при комнатной температуре в течение 72 часов. Полученную суспензию фильтровали и полученное твердое вещество сушили в вакуумной печи при комнатной температуре в течение 16 часов. Твердое вещество, полученное на этой первой стадии, было определено с помощью XRPD как вариант осуществления 3с. На второй стадии вариант осуществления 3с (100 мг) нагревали до 150°C со скоростью 10 °C/мин, а затем нагревали с меньшей скоростью 2 °C/мин до 180 °C. Реакционной смеси давали остыть до комнатной температуры. Полученное твердое вещество было определено с помощью XRPD как вариант осуществления 8. Другая из таких процедур также представляла собой двухстадийную процедуру получения варианта осуществления 8. В этой процедуре вариант осуществления 19 (300 мг) обрабатывали 1,4-диоксаном (3 об.) и встряхивали при 60°C в течение 24 часов. Полученную суспензию фильтровали и твердое вещество, полученное на этой первой стадии, определяли с помощью XRPD, как вариант осуществления 3с. На второй стадии вариант осуществления 3с (300 мг) нагревали до

180°C со скоростью 10 °C/мин. Реакционной смеси давали остыть до комнатной температуры. Полученное твердое вещество было определено с помощью XRPD как вариант осуществления 8. TGA и DSC для варианта осуществления 8 показаны на Фигурах 20А и 20В, соответственно.

В дополнение к получению варианта осуществления 6, как описано выше, этот вариант осуществления получали нагреванием варианта осуществления 11 (80-100 мг), приготовление которого описано ниже, термогравиметрическим анализом от температуры окружающей среды до 185°C со скоростью 10 °C/мин и выдерживали в изотермическом режиме в течение 3 минут. Реакционной смеси давали остыть до комнатной температуры. Вариант осуществления 6 также получали из варианта осуществления 11 путем проведения эксперимента с суспензией. Эксперимент с суспензией проводили следующим образом: растворитель добавляли к варианту осуществления 11 (50 мг) и смесь перемешивали при заданной температуре в течение 0,5 часов. Добавляли затравочные кристаллы формы 9 (5 мг) и смесь перемешивали в течение ночи при заданной температуре. Твердые вещества выделяли центрифугированием и анализировали XRPD с использованием изопропилацетата (0,5 мл) при температуре как 30 °C, так и 50 °C. Создание варианта осуществления 6 было подтверждено XRPD. TGA и DSC для варианта осуществления 6 показаны на Фигурах 19А и 19В, соответственно.

Дополнительные варианты осуществления изобретения были получены, как описано ниже.

Вариант осуществления 5 превращали в вариант осуществления 9 путем проведения экспериментов с суспензией. Эксперименты с суспензией проводили следующим образом с использованием различных растворителей при указанных температурах: Растворитель добавляли к варианту осуществления 5 (50 мг) и смесь перемешивали при заданной температуре в течение 0,5 часов. Добавляли затравочные кристаллы формы 9 (5 мг) и смесь перемешивали в течение ночи при заданной температуре. Твердые вещества выделяли центрифугированием и анализировали методом XRPD. Эксперименты с суспензией, проведенные при 50 °C, проводили с использованием следующих растворителей: ТВМЕ (0,75 мл) и 33:67 смесь изопропилацетата и гептана (0,5 мл). Эксперименты с суспензией, проведенные при 75 °C, проводили с использованием следующих растворителей: изопропилацетат (0,5 мл) и метилэтилкетон (0,5 мл).

Вариант осуществления 11 получали следующим образом: Суспензию по варианту осуществления 1s (45 г) в этаноле (абсолютный, содержание воды <0,1%, 300 мл) при 50°C перемешивали в течение 16,5 часов. Затем суспензию охлаждали до 5°C со скоростью 0,25 °C/мин. Впоследствии раствор перемешивали при 5°C в течение 3 часов. Затем твердые вещества отфильтровали, промыли холодным (5 °C) этанолом (абсолютный, содержание воды <0.1%, 90 мл) и высушили под вакуумом при 40°C в течение 17 часов с получением около 39 г варианта осуществления 11. TGA и DSC для варианта осуществления 11 показаны на Фигурах 17А и 17В, соответственно.

Вариант осуществления 11 также получали следующим образом: В вариант

осуществления 1s (19 г) добавляли абсолютный этанол (170 мл) и нагревали приблизительно до температуры кипения растворителя. Небольшое количество твердых веществ (5%) не растворялось и его удаляли горячим фильтрованием. Было определено, что твердые вещества, которые были отфильтрованы, представляли собой вариант осуществления 1s. Таким образом, твердые вещества добавляли обратно в фильтрат и нагревали эту смесь до полного растворения всех твердых веществ. К этому горячему раствору по каплям через делительную воронку добавляли гептан (535 мл). Во время этого добавления по каплям гептана горячий раствор интенсивно перемешивали. После завершения добавления гептана колбу, содержащую горячую смесь раствор/гептан, погружали на баню с ледяной водой и интенсивно перемешивали в течение одного часа. Затем твердые вещества собирали фильтрованием и белый твердый осадок на фильтре высушивали, пропуская воздух через него в течение 15 минут. Его дополнительно высушивали нагреванием при 70°C в течение 16 часов в высоком вакууме, а затем нагреванием при 80°C в течение 18 часов с получением 16,3 г варианта осуществления 11. Дифрактограмма для варианта осуществления 11 представлена на Фигуре 7.

В исследовании гигроскопичности варианта осуществления 11 было обнаружено, что он является лишь слабо гигроскопичным с изменением массы 0,66% в диапазоне от 0 до 90% ОВ в анализе GVS, как показано на Фигуре 18. Анализ XRPD после анализа GVS показал, что материал был физически стабильным. Анализ DXRPD с переменной температурой (VT) выполняли для оценки стабильности варианта осуществления 11 при нагревании. Материал оставался неизменным, как показал анализ XRPD, когда его подвергали воздействию температур до около 175 °C, однако при температуре выше 180°C образец превратился в вариант осуществления 6. Дифрактограммы варианта осуществления 11 до и после эксперимента VT-XRPD вместе с дифрактограммой для варианта осуществления 6 показаны на Фигуре 24. Вариант осуществления 11 также подвергали статическому анализу хранения при 40 °C/75% ОВ в течение периода до 48 дней. Образцы анализировали посредством XRPD и методом Карла Фишера (KF) через 2 дня, 5 дней и 48 дней. Вариант осуществления 11 оставался неизменным, как показано с помощью анализа XRPD, с общим поглощением воды 1,2% через 48 дней. ¹H-ЯМР материала после 48 дней статического хранения показал, что материал сохранил 0,36 моль экв. этанола. По данным ¹HЯМР, вариант осуществления 11, который хранили в условиях окружающей среды в течение всего исследования, содержал 0,46 моль экв. этанола.

Вариант осуществления 11 b получали из варианта осуществления 1s следующим образом: 10 мл высушенного метанола добавляли к 3,3 г варианта осуществления 1s. Эту смесь подвергали следующему циклическому изменению температуры: Смесь нагревали при 40°C в течение 1 часа, а затем повышали температуру до 60°C в течение 2 часов. Затем смесь нагревали до 60°C в течение 1 часа. Затем температуру снижали до 40°C в течение 2 часов. Этот режим циклического изменения температуры повторяли в общей сложности около 20 часов. В это время смесь охлаждали до 5°C в течение 2 часов. Твердые вещества выделили при температуре 5°C путем вакуумной фильтрации и затем

высушили при температуре окружающей среды под вакуумом в течение около 66 часов. В альтернативном варианте вариант осуществления 11 b получали из варианта осуществления 1s с использованием следующей процедуры: 1 мл высушенного метанола добавляли к 330 мг варианта осуществления 1s. Эту смесь подвергали следующему циклическому изменению температуры: Смесь нагревали при 40°C в течение 1 часа, а затем повышали температуру до 60°C в течение 2 часов. Затем смесь нагревали до 60°C в течение 1 часа. Затем температуру снижали до 40°C в течение 2 часов. Этот режим циклического изменения температуры повторяли в общей сложности около 18 часов. В это время твердые вещества выделили центрифугированием, а затем высушили при температуре окружающей среды под вакуумом в течение около 33 часов. Метанол для описанных выше экспериментов высушивали с применением молекулярных сит (3 Å, активированных при 100°C в вакууме в течение по меньшей мере 24 ч). Дифрактограмма для варианта осуществления 11 b представлена на Фигуре 7Е.

Вариант осуществления 12 получали из варианта осуществления 1s, который подвергали воздействию влажных условий ниже 10% ОВ при 25°C с получением варианта осуществления 12. Дифрактограмма для варианта осуществления 12 представлена на Фигуре 7В.

Вариант осуществления 13 получали следующим образом: В четырехгорлую колбу объемом 250 мл при $25 \pm 5^\circ\text{C}$ добавляли образец варианта осуществления 1s. В колбу впоследствии помещали метанол (4,0 об., 40 мл) и очищенную воду (10 мл, 1,0 об.) и перемешивали до полного растворения твердого вещества. Через смесь пропускали N_2 в течение 1 часа, после чего смесь охлаждали до 0-5 °C. Объем 0,225 мл охлажденного раствора (0-5 °C) NaBH_4 /воды (0,006 экв., 2,5% мас./мас.) готовили с добавлением очищенной воды (40 мл) в четырехгорлую колбу объемом 100 мл в атмосфере N_2 при 0°C с последующим добавлением NaBH_4 (1,0 г); смесь перемешивали при 0°C до полного растворения NaBH_4 . Такой раствор NaBH_4 добавляли в колбу на 250 мл, охлаждали (0 до 5 °C) и перемешивали при температуре от 0 до 5 °C. Цвет реакционной смеси изменился на желтый. Добавляли по каплям очищенную воду (40 мл, 4,0 об., дегазированную N_2 перед использованием) в течение 1 часа при температуре от 0 до 5 °C. Реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов в атмосфере N_2 при температуре от 0 до 5 °C. Дополнительно добавляли по каплям очищенную воду (30 мл, 3,0 об., дегазированная) в течение 1 часа при температуре от 0 до 5°C и перемешивали реакционную смесь в течение еще 16 часов в атмосфере N_2 при температуре от 0 до 5 °C. Впоследствии реакционную смесь фильтровали и полученные твердые вещества промывали очищенной водой (20 мл, 2 об., дегазированной N_2 перед использованием) в среде в перчаточном боксе в атмосфере N_2 (содержание O_2 составляло 200 м.д.). Твердые вещества сушили в вакууме увлажненным азотом при $35 \pm 5^\circ\text{C}$ с получением варианта осуществления 13 в виде грязно-белого твердого вещества. Дифрактограмма для варианта осуществления 13 представлена на Фигуре 7С.

Вариант осуществления 14 получали следующим образом: 2-(1-((1r,4r)-4-

(цианометил)циклогексил)-6-(фенилсульфонил)-1,6-дигидроимидазо[4,5-d]пирроло[2,3-b]пиридин-2-ил)-N-(2-гидрокси-2-метилпропил)ацетамид (48,15 кг, приготовленного в Пр. 2, Стадия В), этанол (технически чистый, 481 л) и КОН (6.613 кг) перемешивали при 10-20°C в течение 9 часов. Затем реакцию гасили уксусной кислотой (6,74 л), поддерживая температуру 10-20 °С. Добавляли ацетонитрил (240 л) и растворители выпаривали при пониженном давлении до объема около 240 л. Это добавление и выпаривание ацетонитрила повторяли еще два раза. Полученную смесь нагревали до 60-70°C в течение 5 часов, после чего ее охлаждали до 10-15°C и перемешивали в течение 2 ч. Твердые вещества в этой смеси затем отфильтровали и дважды промывали ацетонитрилом (48 л). Твердые вещества затем добавляли в воду (240 л) и нагревали реакционную смесь до 45-50°C в течение 3-5 часов, а затем охлаждали до 15-20°C в течение 4 часов. Оставшиеся твердые вещества отфильтровывали и осадок на фильтре промывали водой (96 л, два раза). Этот осадок на фильтре высушивали при 45°C с получением варианта осуществления 14 (26,28 кг). Дифрактограмма для варианта осуществления 14 представлена на Фигуре 7D.

Дополнительные варианты осуществления изобретения были получены, как описано ниже.

Оценка растворимости

Вариант осуществления 1s (15 мг) обрабатывали увеличивающимся объемом растворителя до полного растворения материала или до добавления максимум 100 мл растворителя. Растворитель добавляли следующими приращениями: 5 мл, 10 мл, 20 мл, 30 мл, 40 мл, 50 мл, 70 мл и 100 мл. После каждого добавления растворителя систему выдерживали при 50°C в течение 5 мин при осторожном перемешивании и визуально оценивали на наличие твердого вещества. Этот процесс продолжали до добавления в общей сложности 100 мл растворителя. Если твердое вещество не оставалось, дополнительный растворитель не добавляли. После завершения оценки раствор выдерживали при 50°C в течение 1 ч, а затем охлаждали от 50°C до 5°C со скоростью 0,1 °C/мин при перемешивании. При наличии твердого вещества смесь фильтровали в вакууме, используя 96-луночный планшет, и анализировали посредством XRPD. При получении прозрачного раствора раствор оставляли испаряться при комнатной температуре. В соответствии с данной процедурой использовали следующие растворители, общее добавленное количество которых указано в скобках сразу после того, как растворитель был использован при температурах 5°C и 50 °C, причем степень растворения приведена в скобках после каждой температуры, что дало указанный вариант осуществления: Вода (100 мл) при 5 °C (суспензия) и 50 °C (суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; метанол (10 мл) при 5 °C (суспензия) и при 50 °C (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; этанол (30 мл) при 5 °C (суспензия) и при 50 °C (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; 2-пропанол (30 мл) при 5 °C (суспензия) и при 50 °C (раствор), с

получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; 1-пропанол (30 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; ацетон (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; этилацетат (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (мутный), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; ацетонитрил (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 6, дифрактограмма которого показана на Фигуре 3; толуол (100 мл) при температуре 5 °С (частично растворенный) и температуре 50 °С (мутный), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; изопропилацетат (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (мутный), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; метил *трет*-бутиловый эфир (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; 2-бутанон (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; ТГФ (70 мл) при 5 °С (частично растворенный) и при 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; ДМСО (5 мл) при 5 °С (раствор, образец замораживали и оставляли испаряться при комнатной температуре) и при 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; N-метилпирролидинон (5 мл) при 5 °С (раствор, оставляли выпариваться при комнатной температуре) и 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 1s S, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; Диэтиловый эфир (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; метилизобутилкетон (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; ДХМ (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; гептан (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (суспензия), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фигуре 8; 1-4-диоксан (100 мл) при 5 °С (частично растворенный, образец замораживали и оставляли испаряться при комнатной температуре) и при 50 °С (суспензия) с получением в высушенной форме варианта осуществления 3с, дифрактограмма которой показана на Фигуре 5; нитрометан (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (суспензия), с получением слабокристаллического варианта осуществления (дифрактограмма не показана); 1-метокси-2-пропанол (20 мл) при 5 °С (раствор) и при 50 °С (раствор), с получением в высушенном виде варианта осуществления 20, дифрактограмма которого показана на Фигуре 11; 2-метил-ТГФ (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (суспензия), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фигуре 8, а TGA и DSC показаны на Фигурах 10А и 10В соответственно; тетралин (100 мл) при 5 °С

(суспензия) и при 50 °С (мутный), с получением смеси варианта осуществления 4 и варианта осуществления 1b, дифрактограмма которой показана на Фигуре 3; 3-метил-1-бутанол (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (раствор), с получением варианта осуществления 17, дифрактограмма которого показана на Фигуре 8, а TGA и DSC показаны на Фигурах 12А и 12В соответственно; анизол (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (мутный), с получением смеси варианта осуществления 4 и варианта осуществления 1b, дифрактограмма которой показана на Фигуре 3; *трет*-бутанол/вода (1:1, 10 мл) при 5 °С (раствор) и при 50 °С (раствор), с получением в высушенной форме варианта осуществления 19, модулированный DSC которого показан на Фигуре 9; 1,2-диметоксиэтан (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (мутный), с получением смеси варианта осуществления 4 и варианта осуществления 1b, дифрактограмма которой показана на Фигуре 3; кумен (100 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (мутный), с получением смеси варианта осуществления 4 и варианта осуществления 1b, дифрактограмма которой показана на Фигуре 3; диизопропиловый эфир (100 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (суспензия), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фигуре 8; морфолин (5 мл) при 5 °С (суспензия) и 50 °С (раствор), с получением в высушенной форме варианта осуществления 21, дифрактограмма которой показана на Фигуре 11; этанол:вода (95:5, 10 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (раствор), с получением слабокристаллического варианта осуществления (дифрактограмма не показана); этанол:вода (9:1, 5 мл) при 5 °С (раствор) и при 50 °С (раствор), с получением в высушенной форме варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; и ацетонитрил: вода (95:5, 30 мл) при 5 °С (суспензия) и при 50 °С (раствор), с получением слабокристаллического варианта осуществления (дифрактограмма не показана).

Инкубация при 5 °С

Проводили несколько экспериментов по инкубации при 5°С путем обработки варианта осуществления 1s (30 мг) каждым растворителем и смесь суспендировали при 5°С в течение 48 ч. Отбирали аликвоту и немедленно анализировали с помощью XRPD. Каждую аликвоту высушивали в течение 16 ч и повторно анализировали методом XRPD. Высушенные на воздухе образцы впоследствии помещали в вакуумную печь (КТ) на 24 ч перед дополнительным анализом посредством XRPD. Следующие растворители, в которых общее добавленное количество растворителя указано в скобках сразу после того, как растворитель с последующей степенью растворения, использовали в соответствии с данной процедурой, с получением указанного варианта осуществления: Вода (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; метанол (5 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; этанол (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; 2-пропанол (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; 1-пропанол (30 мл, суспензия), с получением варианта

осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; ацетон (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; этилацетат (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; ацетонитрил (30 мл, суспензия), с получением слабокристаллического варианта осуществления (дифрактограмма не показана); толуол (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 15, дифрактограмма которого показана на Фигуре 8; изопропилацетат (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 17, дифрактограмма которого показана на Фигуре 8; метил *трет*-бутиловый эфир (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фигуре 8; 2-бутанон (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; ТГФ (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 17, дифрактограмма которого показана на Фигуре 8; диэтиловый эфир (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; метилизобутилкетон (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 17, дифрактограмма которого показана на Фигуре 8; ДХМ (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; гептан (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; 1,4-диоксан (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 3с, дифрактограмма которого из этого эксперимента показана на Фигуре 5; нитрометан (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления слабокристаллической формы 1s, дифрактограмма которого не показана; пропиленгликоль (30 мл, суспензия), с получением слабокристаллической формы варианта осуществления (дифрактограмма не показана); 2-метилтетрагидрофуран (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фигуре 8; тетралин (30 мл, суспензия), с получением слабокристаллической формы варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; 3-метил-1-бутанол (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фигуре 8; анизол (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s с дифрактограммой, которая аналогична таковой в варианте осуществления 1s (как показано на Фигуре 5), за исключением того, что она отображает некоторые дополнительные пики; 1,2-диметоксиэтан (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s с дифрактограммой, которая аналогична таковой в варианте осуществления 1s (как показано на Фигуре 5), за исключением того, что она отображает некоторые дополнительные пики; кумен (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s с дифрактограммой, которая аналогична таковой в варианте осуществления 1s (как показано на Фигуре 5), за исключением того, что она отображает некоторые дополнительные пики; диизопропиловый эфир (30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 17, дифрактограмма которого показана на Фигуре 8; этанол: вода (95:5, 30 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s,

дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; ацетонитрил: вода (95:5, 30 мл, суспензия), с получением слабокристаллической формы варианта осуществления (дифрактограмма не показана); и полиэтиленгликоль (30 мл, суспензия), с получением слабокристаллической формы варианта осуществления (дифрактограмма не показана).

Созревание при нагревании/охлаждении

Суспензию варианта осуществления 1s (30 мг) в каждом растворителе помещали в шейкер с платформой и подвергали серии циклов нагревание-охлаждения от комнатной температуры до около 50°C на 24 ч. Это было достигнуто путем включения и выключения нагрева каждые 4 часа. В течение всего периода встряхивания поддерживали. Из каждого образца отбирали аликвоту и оставляли сушиться на воздухе в течение 2 ч. Высушенные на воздухе твердые вещества анализировали посредством XRPD, затем сушили в вакууме с использованием вакуумной печи (КТ, 24 ч) и повторно анализировали посредством XRPD. Каждый образец, полученный в этом эксперименте, высушивали в вакууме, и после сушки в вакууме каждый образец анализировали посредством инкубации в XRPD при повышенной температуре. Следующие растворители, общее количество добавленного растворителя указано в скобках сразу после растворителя, были использованы в соответствии с этой процедурой, которая дала указанный вариант: Вода (20 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; метанол (5 мл), с получением варианта осуществления 22, дифрактограмма которого показана на Фигуре 13; в этаноле (5 мл) с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; 2-пропанол (10 мл) с получением варианта осуществления 27, дифрактограмма которого для данного эксперимента показана на Фигуре 13; 1-пропанол (10 мл) с получением варианта осуществления 23, дифрактограмма которого показана на Фигуре 13; ацетон (20 мл) с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; этилацетат (20 мл), с получением слабокристаллической формы варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; ацетонитрил (20 мл), с получением слабокристаллического варианта осуществления 24, дифрактограмма которого показана на Фигуре 13; толуол (20 мл), с получением слабо кристаллического варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; изопропилацетат (20 мл), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фигуре 13; метил *трет*-бутиловый эфир (20 мл), с получением слабокристаллического варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; 2-бутанон (20 мл), с получением варианта осуществления 26, дифрактограмма которого показана на Фигуре 13; ТГФ (20 мл), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фигуре 13; диэтиловый эфир (20 мл), с получением слабо кристаллического варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; метилизобутилкетон (20 мл), с получением варианта осуществления 25, дифрактограмма которого показана на Фигуре 13; ДХМ (20 мл), с получением слабокристаллической формы варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; гептан (20 мл)? с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма

которого показана на Фигуре 5; 1,4-диоксан (20 мл), с получением варианта осуществления 27, дифрактограмма которого для данного эксперимента показана на Фигуре 13; нитрометан (20 мл), с получением слабокристаллического варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; пропиленгликоль (5 мл), с получением слабокристаллического варианта осуществления (дифрактограмма не показана); 2-метилтетрагидрофуран (20 мл), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фигуре 13; етралин (20 мл) с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; 3-метилбутанол (20 мл), с получением варианта осуществления 18, дифрактограмма которого показана на Фигуре 13; анизол (20 мл), с получением варианта осуществления 16, дифрактограмма которого показана на Фигуре 13, а TGA и DSC показаны на Фигурах 23А и 23В, соответственно; 1,2-диметоксиэтан (20 мл), с получением варианта осуществления 29, дифрактограмма которого показана на Фигуре 13; кумен (20 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; диизопропиловый эфир (20 мл), с получением варианта осуществления 17, дифрактограмма которого показана на Фигуре 13; этанол: вода (95:5, 20 мл), с получением варианта осуществления 30, дифрактограмма которого показана на Фигуре 13; ацетонитрил: вода (95:5, 20 мл), с получением слабокристаллической формы варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого не показана; и полиэтиленгликоль (5 мл), с получением варианта осуществления 31, дифрактограмма которого показана на Фигуре 13.

Инкубация варианта осуществления 1s при 60 °C

Вариант осуществления 1s (30 мг) обрабатывали растворителем и встряхивали при 60°C в течение 24 ч. Аликвоту отбирали и давали высохнуть на воздухе в течение 16 ч. Затем высушенные образцы анализировали посредством XRPD. Следующие растворители, общее количество добавленного растворителя указано в скобках сразу после растворителя, были использованы в соответствии с этой процедурой, которая дала указанный вариант: Вода (10 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; этанол (10 мл), с получением варианта осуществления 32, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; 2-пропанол (10 мл), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; 1-пропанол (10 мл), с получением варианта осуществления 23, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; ацетон (10 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; этилацетат (10 мл), с получением варианта осуществления 34, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; ацетонитрил (10 мл) с получением варианта осуществления 35, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; толуол (10 мл), с получением варианта осуществления 36, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; изопропилацетат (10 мл), с получением варианта осуществления 25, дифрактограмма которого для данного эксперимента показана на Фигуре 14; метил *трет*-бутиловый эфир (10 мл), с получением варианта осуществления 35, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; 2-бутанон (10 мл), с

получением варианта осуществления 38, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; ТГФ (10 мл), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого для данного эксперимента показана на Фигуре 14; диэтиловый эфир (10 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; метилизобутилкетон (10 мл), с получением варианта осуществления 25, дифрактограмма которого для этого эксперимента показана на Фигуре 14; ДХМ (10 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; гептан (10 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; 1-4-диоксан (10 мл), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; нитрометан (10 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; пропиленгликоль (10 мл), с получением варианта осуществления 28, дифрактограмма которого для данного эксперимента показана на Фигуре 14; 2-метилтетрагидрофуран (10 мл), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; тетралин (10 мл), с получением смеси (дифрактограмма смеси не показана) варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5, и варианта осуществления 19, модулированный профиль DSC которого показан на Фигуре 9; 3-метил-1-бутанол (10 мл), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; анизол (10 мл), с получением варианта осуществления 36, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; 1,2-диметоксиэтан (10 мл), с получением варианта осуществления 34, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; кумен (10 мл), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; диизопропиловый эфир (10 мл), с получением варианта осуществления 17, дифрактограмма которого показана на Фигуре 8; этанол:вода (95:5, 10 мл), с получением варианта осуществления 28, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; и полиэтиленгликоль (5 мл), с получением варианта осуществления 39, дифрактограмма которого для данного эксперимента показана на Фигуре 14.

Высокотемпературное созревание

Каждый из множества образцов варианта осуществления 19 (25 мг) обрабатывали некоторым количеством растворителя, как указано ниже, с получением множества образцов, каждый из которых перемешивали при 60°C в течение 24 ч. Твердые вещества из каждого образца выделяли, сушили на воздухе в течение 16 ч и анализировали посредством XRPD. Следующие растворители, в которых общее добавленное количество растворителя указано в скобках сразу после того, как растворитель с последующей степенью растворения, использовали в соответствии с данной процедурой, с получением указанного варианта осуществления: Вода (125 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; метанол (125 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого подобна дифрактограмме для варианта осуществления 1s, показанного на Фигуре 5, за исключением того, что она демонстрирует некоторые дополнительные пики; этанол (125

мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; 2-пропанол (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 37, дифрактограмма которого показана на Фигуре 15; 1-пропанол (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 40, дифрактограмма которого показана на Фигуре 15; ацетон (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; этилацетат (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; ацетонитрил (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; толуол (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; изопропилацетат (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 37, дифрактограмма которого показана на Фигуре 15; метил *трет*-бутиловый эфир (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; 2-бутанон (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; ТГФ (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 37, дифрактограмма которого показана на Фигуре 15; диэтиловый эфир (150 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; метилизобутилкетон (150 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; ДХМ (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; гептан (150 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 41, дифрактограмма которого показана на Фигуре 15; 1,4-диоксан (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 3с, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; нитрометан (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 42, дифрактограмма которого показана на Фигуре 15; пропиленгликоль (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 43, дифрактограмма которого показана на Фигуре 15; 2-метилтетрагидрофуран (150 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; тетралин (150 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; 3-метил-1-бутанол (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; анизол (150 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; 1,2-диметоксиэтан (75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; кумен (150 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 44, дифрактограмма которого показана на Фигуре 15; диизопропиловый эфир (150 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; этанол: вода (95:5, 75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 45, дифрактограмма которого показана на Фигуре 15; ацетонитрил: вода (95:5, 75 мл, суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показала увеличение ячейки по сравнению с дифрактограммой,

показанной на Фигуре 5; и полиэтиленгликоль (75 μ л, суспензия), с получением варианта осуществления 46, дифрактограмма которого показана на Фигуре 15.

Термоциклирование

Каждый из множества образцов варианта осуществления 19 (25 мг) обрабатывали некоторым количеством растворителя, как указано ниже, с получением множества образцов, причем каждый образец созревал путем термоциклирования (от 40°C до 60 °C, 4 ч циклы) в течение 24 ч. Твердые вещества выделяли, сушили на воздухе в течение 16 ч и анализировали с помощью XRPD. Следующие растворители, общее количество добавленного растворителя указано в скобках сразу после растворителя, за которым следует наблюдаемый внешний вид через 24 часа, были использованы в соответствии с этой процедурой, которая дала указанный вариант: Вода (125 μ л, твердое вещество зеленого оттенка), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; метанол (75 μ л, прозрачное твердое вещество), с получением варианта осуществления 11, дифрактограмма которого показала пики, которые были сдвинуты под большим углом по сравнению с дифрактограммой на Фигуре 7; этанол (100 μ л, твердое вещество зеленого оттенка), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; 2-пропанол (75 μ л, твердое вещество желтого оттенка), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; 1-пропанол (75 μ л, белая суспензия), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; ацетон (75 μ л, твердое вещество зеленого оттенка), с получением варианта осуществления 47, дифрактограмма которого показана на Фигуре 16; этилацетат (75 μ л, белая суспензия), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; ацетонитрил (75 μ л, белая суспензия), с получением слабокристаллического варианта осуществления 6, дифрактограмма которого показана на Фигуре 3; толуол (75 μ л, прозрачное твердое вещество), с получением варианта осуществления 36, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; изопропилацетат (75 μ л, твердое вещество белого цвета), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; метил *трет*-бутиловый эфир (75 μ л, белая суспензия), с получением варианта осуществления 6, дифрактограмма которого показана на Фигуре 3; 2-бутанон (75 μ л, твердое вещество грязно-белого цвета), с получением варианта осуществления 33, дифрактограмма которого показана на Фигуре 14; ТГФ (75 μ л, твердое вещество грязно-белого цвета), с получением варианта осуществления 48, дифрактограмма которого показана на Фигуре 16; диэтиловый эфир (150 μ л, твердое вещество грязно-белого цвета), с получением варианта осуществления 49, дифрактограмма которого показана на Фигуре 16; метилизобутилкетон (150 μ л, твердое вещество грязно-белого цвета), с получением варианта осуществления 25, дифрактограмма которого очень похожа на дифрактограмму для варианта осуществления 25, которая показана на Фигуре 13; ДХМ (125 μ л, белая суспензия), с получением варианта осуществления 1s, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; гептан (150 μ л, твердое вещество белого цвета), с получением варианта

осуществления 19, модифицированный профиль DSC которого показан на Фигуре 9; 1,4-диоксан (75 μ л, твердое вещество белого цвета), с получением варианта осуществления 3с, дифрактограмма которого показана на Фигуре 5; нитрометан (75 μ л, белая суспензия), с получением варианта осуществления 50, дифрактограмма которого показана на Фигуре 16; пропиленгликоль (75 μ л, суспензия кремовая), с получением варианта осуществления 10, дифрактограмма которого очень похожа на дифрактограмму для варианта осуществления 10 (как показано на Фигуре 16), за исключением того, что на ней показан аморфный галоген; 2-метилтетрагидрофуран (150 μ л, твердое вещество белого цвета), с получением варианта осуществления 48, дифрактограмма которого показана на Фигуре 16; тетралин (150 μ л, твердое вещество белого цвета), с получением слабокристаллического варианта осуществления, дифрактограмма которого не показана; 3-метил-1-бутанол (75 μ л, белая суспензия), с получением варианта осуществления 25, дифрактограмма которого показана на Фигуре 13; анизол (150 μ л, белая суспензия), с получением варианта осуществления 51, дифрактограмма которого показана на Фигуре 16; 1,2-диметоксиэтан (75 μ л, белая суспензия), с получением варианта осуществления 52, дифрактограмма которого показана на Фигуре 16; кумен (150 μ л, твердое вещество белого цвета), с получением слабокристаллического варианта осуществления, дифрактограмма которого не показана; диизопропиловый эфир (150 μ л, твердое вещество белого цвета), с получением варианта осуществления 6, дифрактограмма которого показана на Фигуре 3; этанол: вода (95:5, 75 μ л, прозрачное твердое вещество), с получением варианта осуществления 11, дифрактограмма которого показана на Фигуре 7; ацетонитрил: вода (95:5, 75 μ л, прозрачное твердое вещество), с получением варианта осуществления 53, дифрактограмма которого показана на Фигуре 16; и пропиленгликоль (75 μ л, бледно-розовая суспензия), с получением варианта осуществления 31, дифрактограмма которого очень похожа на дифрактограмму для варианта осуществления 31 (как показано на Фигуре 13), за исключением того, что на ней показан аморфный галоген.

Любой из вариантов осуществления 11, 11b, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 и 53 соединения Пр. 1 и любая их комбинация представляет собой вариант осуществления соединений в соответствии с данным изобретением. Еще другие варианты осуществления соединений в соответствии с данным изобретением включают соединение Пр. 1 в качестве негигроскопичного сольвата, такого как вариант осуществления 11 соединения Пр. 1. Еще другие варианты осуществления соединений в соответствии с данным изобретением включают соединение Пр. 1 в аморфной форме, такой как вариант осуществления 19 соединения Пр. 1. Любой из вариантов осуществления 11, 16, 17 и 18 соединения Пр. 1 и любая их комбинация представляет собой вариант осуществления соединений в соответствии с данным изобретением. Дальнейшие варианты осуществления данного изобретения включают в себя соединения в соответствии с данным изобретением в форме фармацевтически приемлемых сокристаллов. Дополнительные варианты осуществления данного изобретения включают в себя соединения в соответствии с

данным изобретением в форме фармацевтически приемлемых солей.

Примеры 1-12 представляют собой ингибиторы JAK, и их исследовали в ферментативном и клеточном анализе. Результаты ферментативного анализа представлены в таблице 4 под названием «Результаты анализов ферментативного ингибирования». Примеры 1-12 также исследовали в трех клеточных анализах: IL-2 pSTAT5 (JAK1/JAK3), IFN α pSTAT4 (JAK1/TYK2) и GM-CSF pSTAT5 (JAK2/JAK2), результаты которых представлены в таблице 5 под названием «Данные клеточного анализа». Ниже приведено описание способа выполнения ферментативного анализа, включая материалы, используемые в анализе (под заголовком «Материалы»), ход выполнения анализа (под заголовком «Протокол анализа») и способ, используемый для анализа данных (под заголовком «Способ высокоэффективной масс-спектрометрии (HTMS)»).

Анализ ферментативного ингибирования

Материалы

Субстрат (NH₂-KGGEEEEYFELVKK-CO₂), внутренний стандартный пептид (NH₂-SWGAIETDKEYYTVKD-CO₂) и конечный пептид (только для стандартной кривой) (NH₂-KGGEEEEY-Pi-FELVKK-CO₂) приобретали в компании AnaSpec (г. Фремонт, штат Калифорния, США). JAK1-JH1JH2 (574-1154 с меткой His-GST и С-концевым сайтом расщепления TEV (ENLYFQ-G)), JAK3-JH1JH2 (512-1124 с меткой GST и С-концевым сайтом расщепления TEV (ENLYFQ-G)) и Tyk2-JH1JH2 (8H_tev_580-1182-C936A-C1142A с С-концевым сайтом расщепления TEV (ENLYFQ-G)) очищали собственными силами. JAK2-JH1JH2 (532-1132 с меткой GST и С-концевым сайтом расщепления TEV (ENLYFQ-G)) приобретали в компании Invitrogen. Воду класса ЖХ/МС и ацетонитрил (ACN) приобретали в компании HoneyWell, Burdick & Jackson (г. Маскегон, штат Мичиган, США). Диметилсульфоксид 99,8% (DMSO) и трифторуксусную кислоту 99,5% (TFA) приобретали в компании EMD Chemical (г. Гибстаун, штат Нью-Джерси, США). Аденозинтрифосфат (АТФ), 4-морфолинпропансульфоновую кислоту (MOPS), хлорид магния (MgCl₂), этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА), дитиотреитол (DTT), муравьиную кислоту > 95% (FA) и Tween-20 приобретали в компании Sigma (г. Сент-Луис, штат Миссури, США). 384-луночные полипропиленовые планшеты (кат. № 781280) приобретали в компании Greiner (г. Монро, штат Северная Каролина), кассета RapidFire™, колонка C4 (Agilent Technologies, г. Санта-Клара, штат Калифорния).

Эксперименты с использованием HTMS проводили в режиме положительной ионизации на приборе Rapidfire 300 (Agilent Technologies, г. Санта-Клара, штат Калифорния) в сочетании с системой ABSiex QTrap 4000 с источником электрораспылительной ионизации (RF-MS) (Конкорд, Онтарио, Канада). Систему RapidFire проводили с использованием 3 изократических насосов Agilent серии 1200 компании Agilent Technologies (г. Санта-Клара, штат Калифорния) и одного перистальтического насоса модели ISM832C от компании Ismatec (г. Вертхайм, Германия). Управление всей системой осуществляли с помощью программного

обеспечения Rapidfire, взаимодействующего с программным обеспечением Analyst для масс-спектрометра.

Протокол анализа

Для каждого соединения получали серию из 11 проб путем серийного разведения 1 : 3 или 1 : 4 в DMSO, причем проба 12 представляла собой контроль (DMSO). Из планшетов с последовательным разведением пробу переносили в 384-луночный аналитический планшет (№ 781280, Greiner, г. Монро, штат Северная Каролина), используя Labcyte Echo (г. Саннивейл, штат Калифорния) или Biosero ATS (г. Сан-Диего, штат Калифорния). Соединения тестировали в двух повторах. Столбец 12 использовали для положительного контроля, а столбец 24 содержал отрицательные контроли без добавления фермента. В качестве эталонного соединения использовали соединение из нашей внутренней коллекции с ингибирующей активностью в отношении изоформ JAK. Конечная концентрация DMSO составляла $\leq 0,25\%$ в реакционной смеси объемом 20 мкл. Условия анализа для каждого из белков приведены в таблице 3. Ферментную реакцию инициировали добавлением 10 мкл фермента и смеси АТФ к 10 мкл раствора субстрата в реакционном буфере (50 мМ MOPS, pH 7,5, 10 мМ MgCl₂, 1 мМ ЭДТА, 2 мМ DTT, 0,002% Tween-20). Фермент Tyk2 предварительно инкубировали с 2 мМ АТФ в течение 30 мин, после чего инициировали реакцию. Сразу же после добавления фермента в реакционную смесь планшет центрифугировали при 1000 об/мин в течение 1 минуты и инкубировали при 25 °С в течение 45 минут в случае JAK3 и в течение 90 минут в случае JAK1, JAK2 и Tyk2. Реакцию гасили добавлением 20 мкл 0,5% TFA с содержанием 0,15 мкМ внутреннего стандартного пептида с применением дозатора реагентов Multidrop Combi (Thermo Scientific, г. Уолтем, штат Массачусетс). Для стандартной кривой продукта, как правило, использовали несколько лунок из столбца 24. После гашения аналитический планшет центрифугировали при 3000 об/мин в течение 3 минут и герметизировали прокалываемой алюминиевой фольгой (кат. № 06644-001, Agilent) с использованием PlateLoc (Agilent Technologies, г. Санта-Клара, штат Калифорния). Впоследствии планшеты переносили на RapidFire для МС-анализа. Ингибирование соединения оценивали по уменьшению концентраций фосфорилированного продукта в опытных лунках по сравнению с неингибированной ферментативной реакцией. Условия описанных выше анализов приведены в таблице 3, а результаты исследования пр. 1-12 в этих анализах показаны в таблице 4.

Таблица 3 Условия анализа фермента семейства JAK*

Фермент	[фермент], нМ	[АТФ], мкМ	[Субстрат], мкМ	[IS], нМ
JAK1-JH1JH2	8,0	12,5	200	100
JAK2-JH1JH2	7,0 или 3,6	30	40	100
JAK3-JH1JH2	2,0	150	40	100

Фермент	[фермент], нМ	[АТФ], мкМ	[Субстрат], мкМ	[IS], нМ
Тyk2+JH1JH2	25 или 14,7	50	200	100

* Реакционный буфер: 50 мМ MOPS, pH 7,5 10 мМ MgCl₂, 1 мМ ЭДТА, 2 мМ DTT, 0,002% Tween-20; IS означает внутренний стандартный пептид; «субстрат» означает пептид.

Способ высокоэффективной масс-спектрометрии (HTMS)

Анализ проб на приборе RapidFire проводили с использованием подвижной фазы A1, состоящей из воды/TFA/FA (100 : 0,01 : 0,1, об./об./об.), подвижной фазы B1, состоящей из ACN/воды/TFA/FA (80 : 20 : 0,01 : 0,1, об./об./об.). Применяли следующие параметры теста: состояние 1 (аспирация), 250 мс; состояние 2 (загрузка/промывка), 3000 мс; состояние 3 (элюирование), 4000 мс; состояние 4 (повторная калибровка), 1000 мс со скоростью потока 1,25 мл/мин. Пробы аспирировали непосредственно из 384-луночного аналитического планшета и помещали на кассету для твердофазной экстракции C4 в микролитровом диапазоне (тип A) для RF-MS. Нежелательный компонент, такой как соль, кофактор, детергент и крупные белки, вымывали, а оставшиеся аналиты (субстрат, продукт и IS) совместно элюировали непосредственно на систему ABSciex Qtrap 4000. Количественное определение пептида (субстрат), фосфопептида (продукт) и внутреннего стандартного пептида (IS) проводили с помощью MRM с использованием переходов 562→136,0, 589,2→215,7 и 953,2→158,8 (или 974,2→158,8) соответственно.

Таблица 4. Результаты анализов ферментативного ингибирования

Исследуемое соединение	JAK1_JH1JH2 IC ₅₀ (нМ)	JAK2_I_JH1JH2 IC ₅₀ (нМ)	JAK3_I_JH1JH2 IC ₅₀ (нМ)	Тyk2_I_JH1JH2 IC ₅₀ (нМ)
А	<0,2	<0,2	12,4	0,9
В	<0,2	<0,2	13,4	<0,2
С	<0,2	0,6	49,7	0,2
Пр. 1	0,4	8,6	92,2	7,4
Пр. 2	0,2	1,0	33,9	1,5
Пр. 3	0,2	6,2	82,8	11,6
Пр. 4	0,1	6,6	96,2	2,2
Пр. 5	0,3	2,1	23,1	4,1
Пр. 6	0,1	1,4	28,2	1,1
Пр. 7	0,2	5,6	98,4	4,8
Пр. 8	0,4	7,0	75,6	6,6
Пр. 9	0,2	6,6	79,9	4,7
Пр. 10	1,0	6,5	87,5	9,0

Исследуемое соединение	JAK1_JH1JH2 IC ₅₀ (нМ)	JAK2_I_JH1JH2 IC ₅₀ (нМ)	JAK3_I_JH1JH2 IC ₅₀ (нМ)	Tyk2_I_JH1JH2 IC ₅₀ (нМ)
Пр. 11	0,4	1,6	30,3	1,5
Пр. 12	0,9	9,4	101,3	8,7

Клеточные анализы

Клеточный анализ IL-2 pSTAT5 (JAK1/JAK3)

Анализ AlphaLISA (основанный на технологии Alpha компании PerkinElmer) проводили путем посева свежеразмороженных PBMC (Biological Specialty Corporation) в 384-луночные планшеты с плотностью 30 000 клеток на 4 мкл на одну лунку в сбалансированном солевом растворе Хэнкса (HBSS), содержащем 0,1%-й бычий сывороточный альбумин (BSA), без содержания иммуноглобулина G (IgG) и протеазы (Jackson ImmunoResearch, кат. № 001-000-161). Впоследствии клетки обрабатывали соединениями в объеме 2 мкл/лунку, разведенными в ДМСО в полулогарифмически титрованных концентрациях с наибольшей опытной концентрацией 10 мкМ, и конечной концентрацией ДМСО 0,5%, в течение тридцати минут при 37 °С. Впоследствии клетки стимулировали 2 мкл/лунку IL-2 (R&D systems, кат. № 202-IL-050) при концентрации 5 нг/мл в течение тридцати минут при 37 °С. Клеточные реакции завершали добавлением 2 мкл/лунку лизирующего буфера (PerkinElmer, кат. № ALSU-PST5-A10K) с последующей инкубацией в течение пяти минут при комнатной температуре. К клеткам добавляли 5 мкл/лунку акцепторной смеси (PerkinElmer, кат. № ALSU-PST5-A10K) и инкубировали в темноте в течение одного часа при комнатной температуре. Впоследствии к клеткам добавляли 5 мкл/лунку донорной смеси (PerkinElmer, кат. № ALSU-PST5-A10K) и инкубировали в темноте в течение ночи при комнатной температуре. В конечном итоге планшеты считывали на приборе PerkinElmer EnVision для обнаружения сигнала флуоресценции с разрешением по времени. Процентное значение IL-2-зависимого ингибирования pSTAT5 определяли при опытных концентрациях соединения и для каждого соединения строили кривую зависимости от дозы и рассчитывали IC₅₀. Соединение IC₅₀ рассчитывали методом нелинейной регрессии, т. е. путем анализа сигмоидального ответа на дозу на основании кривой полулогарифмического титрования, представляющей собой зависимость Alpha-сигнала от концентрации соединения. Alpha означает гомогенный анализ усиления люминесценции при сближении; Alpha-сигнал представляет собой люминесцентный/флуоресцентный сигнал.

Клеточный анализ IFN α pSTAT4 (JAK1/TYK2)

Анализ AlphaLISA (основанный на технологии Alpha компании PerkinElmer) проводили путем посева свежеразмороженных PBMC (Biological Specialty Corporation) в 384-луночные планшеты с плотностью 100 000 клеток на 6 мкл на одну лунку в модифицированной по способу Дульбекко среде Игла (DMEM), содержащей 10%-ю эмбриональную бычью сыворотку (FBS) и 1000 МЕ/мл пенициллина и 1000 мкг/мл стрептомицина. Впоследствии клетки обрабатывали соединениями в объеме 2 мкл/лунку,

разведенными в ДМСО в полулогарифмически титрованных концентрациях с наибольшей опытной концентрацией 10 мкМ, и конечной концентрацией ДМСО 0,5%, в течение тридцати минут при 37 °С. После этого клетки стимулировали 2 мкл/лунку IFN α (PBL Assay Science, кат. № 11101-2) в концентрации 4 нг/мл в течение тридцати минут при 37 °С. Клеточные реакции завершали добавлением 2 мкл/лунку лизирующего буфера (PerkinElmer, кат. № ALSU-PST4-A10K) с последующей инкубацией в течение пяти минут при комнатной температуре. К клеткам добавляли 4 мкл/лунку акцепторной смеси (PerkinElmer, кат. № ALSU-PST4-A10K) и инкубировали в темноте в течение одного часа при комнатной температуре. Впоследствии к клеткам добавляли 4 мкл/лунку донорной смеси (PerkinElmer, кат. № ALSU-PST4-A10K) и инкубировали в темноте в течение ночи при комнатной температуре. В конечном итоге планшеты считывали на приборе PerkinElmer EnVision для обнаружения сигнала флуоресценции с разрешением по времени. Процентное значение IFN α -зависимого ингибирования pSTAT4 определяли при опытных концентрациях соединения и для каждого соединения строили кривую зависимости от дозы и рассчитывали IC₅₀. Соединение IC₅₀ рассчитывали методом нелинейной регрессии, т. е. путем анализа сигмоидального ответа на дозу на основании кривой полулогарифмического титрования, представляющей собой зависимость Alpha-сигнала от концентрации соединения. Термин Alpha определен в непосредственно предшествующем описании клеточного анализа.

Клеточный анализ GM-CSF pSTAT5 (JAK2/JAK2)

Анализ AlphaLISA (основанный на технологии Alpha компании PerkinElmer) проводили путем посева свежеразмороженных PBMC (Biological Specialty Corporation) в 384-луночные планшеты с плотностью 30 000 клеток на 4 мкл на одну лунку в HBSS, содержащем 0,1% BSA, без содержания IgG и протеазы (Jackson ImmunoResearch, кат. № 001-000-161). Впоследствии клетки обрабатывали соединениями в объеме 2 мкл/лунку, разведенными в ДМСО в полулогарифмически титрованных концентрациях с наибольшей опытной концентрацией 10 мкМ, и конечной концентрацией ДМСО 0,5%, в течение тридцати минут при 37 °С. Затем клетки стимулировали 2 мкл/лунку GM-CSF (R&D systems, кат. № 215-GM-050) при концентрации 11 пг/мл в течение пятнадцати минут при 37 °С. Клеточные реакции завершали добавлением 2 мкл/лунку лизирующего буфера (PerkinElmer, кат. № ALSU-PST5-A10K) с последующей инкубацией в течение пяти минут при комнатной температуре. К клеткам добавляли 5 мкл/лунку акцепторной смеси (PerkinElmer, кат. № ALSU-PST5-A10K) и инкубировали в темноте в течение одного часа при комнатной температуре. Впоследствии к клеткам добавляли 5 мкл/лунку донорной смеси (PerkinElmer, кат. № ALSU-PST5-A10K) и инкубировали в темноте в течение ночи при комнатной температуре. В конечном итоге планшеты считывали на приборе PerkinElmer EnVision для обнаружения сигнала флуоресценции с разрешением по времени. Процентное значение GM-CSF-зависимого ингибирования pSTAT5 определяли при опытных концентрациях соединения и для каждого соединения строили кривую зависимости от дозы и рассчитывали IC₅₀. Соединение IC₅₀ рассчитывали методом

нелинейной регрессии, т. е. путем анализа сигмоидального ответа на дозу на основании кривой полулогарифмического титрования, представляющей собой зависимость Alpha-сигнала от концентрации соединения. Термин Alpha определен в описании клеточного анализа IL-2 pSTAT5 (JAK1/JAK3).

Таблица 5. Данные клеточного анализа

Исследуемое соединение	IL-2 pSTAT5 (JAK1/JAK3) IC ₅₀ (нМ)	IFN α pSTAT4 (JAK1/TYK2) IC ₅₀ (нМ)	GM-CSF pSTAT5 (JAK2/JAK2) IC ₅₀ (нМ)
Пр. 1	21,6	59,5	83,9
Пр. 2	9,0	20,8	61,0
Пр. 3	6,4	10,1	21,9
Пр. 4	35,5	64,7	119,4
Пр. 5	6,4	38,1	28,9
Пр. 6	6,7	39,4	25,1
Пр. 7	9,7	38,5	67,3
Пр. 8	20,6	42,8	33,8
Пр. 9	11,2	35,9	26,9
Пр. 10	16,8	40,4	44,6
Пр. 11	49,1	96,5	201,5
Пр. 12	13,9	81,4	75,4

Примеры 1-12 исследовали в анализах растворимости и проницаемости. Результаты анализа растворимости представлены в таблице 6, озаглавленной «Данные анализа растворимости», а результаты анализа проницаемости представлены в таблице 7, озаглавленной «Данные о проницаемости MDCK-MDR1». Эти анализы растворимости и проницаемости описаны ниже под заголовками «Анализы растворимости» и «Анализы проницаемости», соответственно.

Анализы растворимости

Измерения растворимости проводили в следующих средах для измерения растворимости: имитация желудочного сока (34,2 мМ хлорида натрия и 100 мМ соляной кислоты) или имитация кишечного сока (натощак [pH 6,5]: 3 мМ таурохолата натрия, 0,75 мМ лецитина, 28,4 мМ одноосновного фосфата натрия, 8,7 мМ гидроксида натрия и 105,9 мМ хлорида натрия). Исследуемые соединения растворяли в DMSO в концентрации 10 мМ. Исследуемые соединения дозировали (20 мкл) в планшеты Nunc 1-mL-96-Deep-Well-PP и DMSO испаряли путем продувки азотом из TurboVar 96 в течение 6 часов или до получения сухого остатка. Впоследствии в лунку, содержащую сухое твердое вещество, добавляли 400 мкл среды для растворения. Колпачком Pre-Slit Well Cap плотно закрывали

блок луночного планшета и пробы интенсивно перемешивали в течение 2-5 дней при температуре окружающей среды. По завершении периода инкубации пробы фильтровали через фильтровальный планшет AcroPrep 1-mL-96-Filter в новый планшет 2-mL-96-Deep-Well-PP и супернатанты подвергали количественной оценке посредством УФ-ВЭЖХ с использованием 3-точечной калибровочной кривой в диапазоне 0,004-0,55 мМ. Растворимость для каждого соединения рассчитывали по следующему уравнению:

$$\text{Растворимость} = \frac{\text{площадь пика образца}}{\text{средний коэффициент отклика от 3 стандартов}}$$

Значения растворимости находились в диапазоне 4-400 мкМ. Значения за пределами этого диапазона регистрировали как < 4 мкМ или > 400 мкМ. Значения растворимости регистрировали до тех пор, пока исследуемое соединение было достаточно стабильным для выполнения соответствующего определения растворимости.

Таблица 6. Данные анализа растворимости

Исследуемое соединение	Растворимость SGF (мкМ)	Растворимость SIF (мкМ)
А	>400	>400
В	>400	75
С	>400	>400
Пр. 1	>400	387
Пр. 2	>400	>400
Пр. 3	>400	>400
Пр. 4	>400	>400
Пр. 5	>400	198
Пр. 6	>400	>400
Пр. 7	>400	81
Пр. 8	>400	>400
Пр. 9	>400	>400
Пр. 10	>400	359
Пр. 11	>400	>400
Пр. 12	>400	>400

Анализы проницаемости

Измерения проницаемости проводили в соответствии с протоколом Cyprotex с использованием клеточной линии MDCK-MDR1, полученной от компании NIH (г. Роквилл, штат Мэриленд, США). Клетки между пассажами 6-30 высевали на планшет Multiscreen plate™ (Millipore) с плотностью клеток $3,4 \times 10^5$ клеток/см² и культивировали в течение трех дней, после чего выполняли исследования проницаемости. Клетки в этом анализе образуют когезивный лист из одного слоя клеток, заполняющий площадь

поверхности чашки для культивирования, также известный как конфлюэнтный монослой, а на четвертый день исследуемое соединение добавляли на апикальную сторону мембраны и отслеживали транспорт соединения через монослой в течение 60 минут.

В простом и базовом способе введения терминов А и В, часто используемых в таких анализах, апикальная (А) сторона или компартмент объекта представляет собой сторону такого объекта, которая открыта в просвет или внешнюю среду, а базолатеральная (В) сторона или компартмент представляет собой сторону или компартмент такого объекта, который открыт, как правило, во внутреннюю среду, охватывая противоположную сторону. Например, если такой объект в качестве примера представляет собой эпителиальную клетку кишечника, то апикальная сторона такой кишечной клетки будет представлять собой сторону клетки, открытую в просвет кишечника, а базолатеральная сторона будет представлять собой сторону, открытую в кровеносное русло.

Исследуемые соединения растворяли в DMSO в концентрации 10 мМ. Растворы для дозирования получали путем разбавления исследуемого соединения аналитическим буферным раствором (сбалансированный солевой раствор Хэнкса), pH 7,4, до конечной концентрации 5 мкМ. Для оценки апикально-базолатеральной (А-В) проницаемости буферный раствор извлекали из апикального компартмента и заменяли раствором для дозирования исследуемого соединения, содержащим или не содержащим ингибитор гликопротеина проницаемости (Р-гликопротеин, PgP, P-gP, Pgp или P-gp) элакридар (2 мкМ). Для оценки базолатерально-апикальной (В-А) проницаемости буферный раствор удаляли из дополнительного планшета и заменяли его раствором для дозирования исследуемого соединения. Инкубации выполняли в двух повторениях при 37°C в атмосфере 5% CO₂ с относительной влажностью 95%. Каждый анализ включал в себя такие эталонные маркеры, как пропранолол (высокая проницаемость) и празозин (субстрат PgP). После инкубации в течение 60 минут апикальные и базолатеральные пробы разводили, а исследуемые соединения количественно оценивали с помощью ЖХ/МС/МС, используя 8-точечную калибровочную кривую в диапазоне от 0,0039 до 3 мкМ с соответствующим разведением проб (коэффициент разведения акцептора=1; коэффициент разведения донора и C₀=10). Коэффициент проницаемости (P_{app}) для каждого соединения рассчитывали по следующему уравнению: $P_{app} = (dQ/dt) / (C_0 \times S)$, где dQ/dt представляет собой скорость прохождения лекарственного средства через клетки, C₀ представляет собой концентрацию в компартменте донора в нулевую временную отметку, а S представляет собой площадь клеточного монослоя.

Процент восстановления измеряли для всех условий инкубации. Эти измерения не выявили недопустимого связывания соединения/планшет или накопления соединения в клеточном монослое.

Во втором и третьем столбцах таблицы 7 показаны значения P_{app(A-B)} для апикально-базолатерального транспорта соединения с ингибитором Р-гликопротеина (третий столбец, обозначенный как P^e_{app(A-B)}), который представлял собой элакридар, и без

него (второй столбец). $P_{app(A-B)}$ показывает степень проникновения через клетки в данном анализе, представляя собой модель трансклеточного транспорта через Pgp-экспрессирующие клетки, такие как Pgp-экспрессирующие клетки желудочно-кишечного тракта. Значения $P_{app(A-B)}^e$ ($P_{app(A-B)}$ в присутствии ингибитора Р-гликопротеина), приведенные в столбце 3, определены для подтверждения роли Р-гликопротеина в оттоке соединения. В четвертом столбце таблицы 7 показаны значения $P_{app(B-A)}$ для базолатерально-апикального транспорта соединения. Отношения оттока исследуемого соединения приведены в пятом столбце таблицы 7 в виде $P_{app(B-A)} / P_{app(A-B)}$ с использованием соответствующих значений коэффициента проницаемости из четвертого и второго столбцов той же таблицы. Отношения оттока (пятая колонка, таблица 7) во всех случаях превышают 2 для соединений (А)-(С), а также для соединений пр. 1-12, что указывает на наличие оттока для всех таких соединений.

Значения $P_{app(A-B)}$ в столбце 2, как правило, являются низкими и сопоставимыми со значениями для эталонных соединений (А)-(С), а также соединений пр. 1-12. Эти низкие значения указывают на низкую проницаемость для всех таких соединений, что обусловлено действием Р-гликопротеина, поскольку все такие соединения представляют собой субстраты Р-гликопротеина, на что указывают значения, приведенные в столбце 5 (все превышают 2). Чтобы сделать вывод о низкой проницаемости, значения, приведенные в третьем и четвертом столбцах ($P_{app(A-B)}^e$ и $P_{app(B-A)}$ соответственно), должны быть низкими. Однако эти данные показывают, что значения $P_{app(B-A)}$ для соединений (А)-(С) выше, чем соответствующие значения для соединений пр. 1-12.

Целостность каждого монослоя отслеживали путем измерения проницаемости для люцифера желтого с помощью флуориметрического анализа. Данное исследование показало, что клетки в данном анализе сохраняли удовлетворительный конфлюэнтный монослой.

Таблица 7. Данные о проницаемости MDCK-MDR1

Исследуемое соединение**	MDCK-MDR1 $P_{app(A-B)}$ (10^{-6} см/с) при 5 (мкМ)	MDCK-MDR1 $P_{app(A-B)}^e$ (10^{-6} см/с) при 5 (мкМ)	MDCK-MDR1 $P_{app(B-A)}$ (10^{-6} см/с) при 5 (мкМ)	$P_{app(B-A)} / P_{app(A-B)}$
А	1,3	22	55,3	43
В	0,4	1,7	23,5	59
С	0,5	2,5	23,1	46
Пр. 1	<0,5, 0,4	<0,5, 1,1	0,9, 1,1	>1,9, 3,3
Пр. 2*	1,1	1,6	4,8	4,4
Пр. 3	<0,4, <0,5	2,3, 1,6	17, 16	>41, >33
Пр. 4	0,1	0,5	1,3	8,7
Пр. 5	<0,4, <0,5	0,7, 0,5	1,8, 2,1	> 4,8; > 4,5

Исследуемое соединение**	MDCK-MDR1 $P_{app(A-B)}$ (10^{-6} см/с) при 5 (мкМ)	MDCK-MDR1 $P^e_{app(A-B)}$ (10^{-6} см/с) при 5 (мкМ)	MDCK-MDR1 $P_{app(B-A)}$ (10^{-6} см/с) при 5 (мкМ)	$P_{app(B-A)} / P_{app(A-B)}$
Пр. 6	<0,3, <0,3	0,9, 1,1	2,5, 2,6	> 8,4; > 8,7
Пр. 7	<0,4	1,2	3,6	> 9
Пр. 8	0,1	0,5	1,7	11,5
Пр. 9	<0,4	0,6	1,8	> 4,2
Пр. 10	<0,4	1,1	7,1	> 16,9
Пр. 11	<0,4	0,8	1,1	> 2,9
Пр. 12	<0,5	0,6	1,1	> 2,2

* Начальная концентрация составила >7 мкМ для условий А-В, А-В (с элакридаром) и В-А.

** Если не указано иное, соединения (А)-(С) и пр. 1-12 исследовали в концентрации 5 мкМ. Для данных, показанных в ячейках с двумя точками данных, соединения исследовали дважды.

Исследования в условиях *in vivo*

Протокол 1 перорального дозирования

Трем самкам мышей C57BL/6 не натошак перорально вводили исследуемое соединение в дозе 25 мг/кг перорально в виде раствора в 20% гидроксипропил-бета-циклодекстрине (HP β CD) в дозе 5 мл/кг. Пробы крови собирали через 0,5, 2 и 4 ч после введения дозы посредством кровотоечения из ретроорбитального синуса или венопункции дорсальной плусневой вены. Пробы крови собирали в пробирки, содержащие антикоагулянт (гепарин натрия), и помещали в жидкий лед. Фракцию плазмы отделяли центрифугированием и замораживали при -20°C в течение до 4 ч и -80°C через 4 ч если не анализируется вскоре после взятия образца. Пробы ободочной кишки собирали через 4 ч после введения дозы. От начала слепой кишки вырезали пробу ободочной кишки размером 4-6 см, разрезали ее по продольной оси, а твердое содержимое удаляли путем промывки 2 мл физиологического раствора. Ободочную кишку дополнительно промывали, помещая ее в 5 мл солевого раствора и встряхивали в течение 5 секунд. Впоследствии пробу ободочной кишки промокали досуха, взвешивали и гомогенизировали в виде смеси 1 части ткани (г) и до 4 частей воды для ВЭЖХ (мл). Концентрации соединения в плазме и гомогенате ободочной кишки определяли с помощью количественной жидкостной хроматографии с трехквადрупольный масс-спектрометрией (ЖХ/МС). Этот протокол использовали для оценки следующих исследуемых соединений: соединения (В) и (С) и примеры 6 и 11.

Протокол 2 перорального дозирования

Трем самкам мышей C57BL/6 не натошак перорально вводили исследуемое соединение в дозе 25 мг/кг перорально в виде раствора в 20% HP β CD в дозе 5 мл/кг. Пробы крови собирали через 0,5, 2 и 4 ч после введения дозы посредством кровотоечения

из ретроорбитального синуса или венепункции дорсальной плюсневой вены. Пробы крови собирали в пробирки, содержащие антикоагулянт (гепарин натрия), и помещали в жидкий лед. Фракцию плазмы отделяли центрифугированием и замораживали при -20°C в течение до 4 ч и -80°C через 4 ч если не анализируется вскоре после взятия образца. Пробы ободочной кишки собирали через 4 ч после введения дозы. Через 2 см от начала слепой кишки вырезали пробу ободочной кишки размером 4 см, разрезали ее по продольной оси, а твердое содержимое удаляли путем промывки 2 мл физиологического раствора. Ободочную кишку дополнительно промывали, помещая ее в 5 мл солевого раствора и встряхивали в течение 5 секунд. Впоследствии пробу ободочной кишки промокали досуха, взвешивали и гомогенизировали в виде смеси 1 части ткани (г) и до 4 частей воды для ВЭЖХ (мл). Концентрации соединения в плазме и гомогенате ободочной кишки определяли с помощью количественной жидкостной хроматографии с трехквадрупольной масс-спектрометрией (ЖХ/МС). Этот протокол использовали для оценки следующих исследуемых соединений: соединение (А) и примеры 1-5, 7-10 и 12.

Протокол 3, дозирование внутрь ободочной кишки

Группа интраободочного (i.c.) дозирования. После ингаляционной анестезии изофлураном трех самкам мышей C57BL/6 не натощак вводили внутрь ободочной кишки соединение через небольшой разрез в брюшной стенке с помощью шприца и иглы в дозе 5 мг/кг в виде раствора в 20% HP β CD в объеме дозы 1 мл/кг. Пробы крови собирали через 0,5, 2 и 4 ч после введения дозы посредством кровотока из ретроорбитального синуса. Пробы крови собирали в пробирки, содержащие антикоагулянт (гепарин натрия), и помещали в жидкий лед. Фракцию плазмы отделяли центрифугированием и замораживали при -20°C в течение до 4 ч и -80°C через 4 ч если не анализируется вскоре после взятия образца. Пробы ободочной кишки собирали через 4 ч после введения дозы. Через 2 см от начала слепой кишки вырезали пробу ободочной кишки размером 4 см, разрезали ее по продольной оси, а твердое содержимое удаляли путем промывки 2 мл физиологического раствора. Ободочную кишку дополнительно промывали, помещая ее в 5 мл солевого раствора и встряхивали в течение 5 секунд. Впоследствии пробу ободочной кишки промокали досуха, взвешивали и гомогенизировали в виде смеси 1 части ткани (г) и до 4 частей воды для ВЭЖХ (мл). Концентрации соединения в плазме и гомогенате ободочной кишки определяли с помощью количественной жидкостной хроматографии с трехквадрупольной масс-спектрометрией (ЖХ/МС). Этот протокол использовали для оценки интраободочного дозирования следующих исследуемых соединений: примеры 1, 3 и 4.

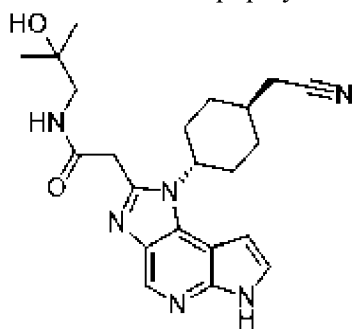
Соединения пр. 1-12 дополнительно оценивали по физико-химическим свойствам, приведенным в таблице 8. Значения cLogP и tPSA рассчитывали с помощью ChemBioDraw Ultra 14.0, где P представляет собой коэффициент распределения n-октанол/вода. Площадь топологической полярной поверхности (tPSA) рассчитывали как сумму поверхностей всех полярных атомов, главным образом кислорода и азота, также включая присоединенные к ним атомы водорода.

Таблица 8. Некоторые физико-химические свойства соединений пр. 1-12

Исследуемое соединение	cLog P	tPSA	количество доноров водородной связи	количество акцепторов водородной связи	количество способных к вращению связей
Пр. 1	0,94	113,11	3	5	6
Пр. 2	2,31	88,17	2	4	3
Пр. 3	1,58	92,88	2	4	6
Пр. 4	0,54	116,67	2	5	6
Пр. 5	0,24	102,11	2	5	5
Пр. 6	0,86	102,11	2	5	6
Пр. 7	1,25	116,67	2	5	6
Пр. 8	1,13	113,11	3	5	6
Пр. 9	1,14	108,48	2	5	5
Пр. 10	1,35	116,67	2	5	6
Пр. 11	1,50	117,27	3	5	5
Пр. 12	0,57	113,11	3	5	6

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы



(Пр. 1),

в котором указанное соединение находится по меньшей мере в одной из форм 1s, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 11b, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52 и 53.

2. Соединение по п. 1, в котором указанное соединение находится по меньшей мере в одной из форм 11, 11b, 15, 16, 17 и 18.

3. Соединение по п. 2, в котором указанное соединение находится в форме 11.

4. Соединение по п. 1, в котором указанное соединение находится по меньшей мере в одной из форм 11 и 11b.

5. Соединение по п. 1, в котором указанное соединение находится по меньшей мере в одной из форм 1s, 6, 10, 5, 8 и 11.

6. Соединение по п. 5, в котором указанное соединение находится по меньшей мере в одной из форм 1s, 6, 10 и 11.

7. Соединение по п. 1, в котором указанное соединение находится в форме 19.

8. Соединение по п. 1, в котором указанное соединение находится по меньшей мере в одной из форм 1s и 16.

9. Соединение по п. 1, в котором указанное соединение находится по меньшей мере в одной из форм 1s и 11b.

10. Соединение по п. 5, в котором указанное соединение находится по меньшей мере в одной из форм 1s и 11.

11. Соединение по п. 1, в котором указанное соединение находится по меньшей мере в одной из форм 1s и 17.

12. Соединение по п. 9, в котором указанное соединение находится в форме 11b.

13. Соединение по п. 1, в котором указанное соединение находится в форме 12.

14. Соединение по п. 1, в котором указанное соединение находится в форме 16.

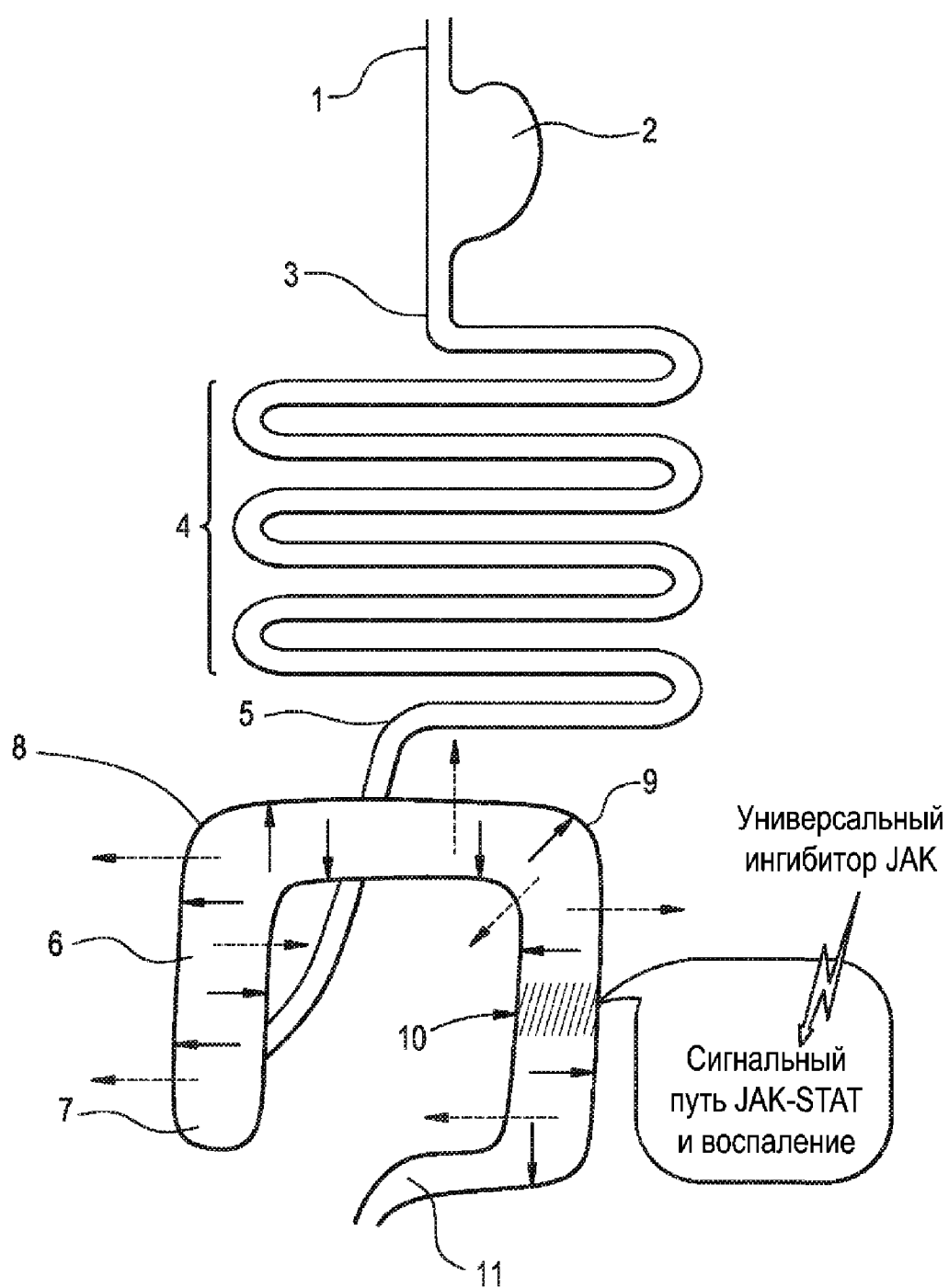
15. Соединение по п. 1, в котором указанное соединение находится в форме 20.

16. Соединение по п. 1, в котором указанное соединение находится по меньшей мере в одной из форм 1s и 12.

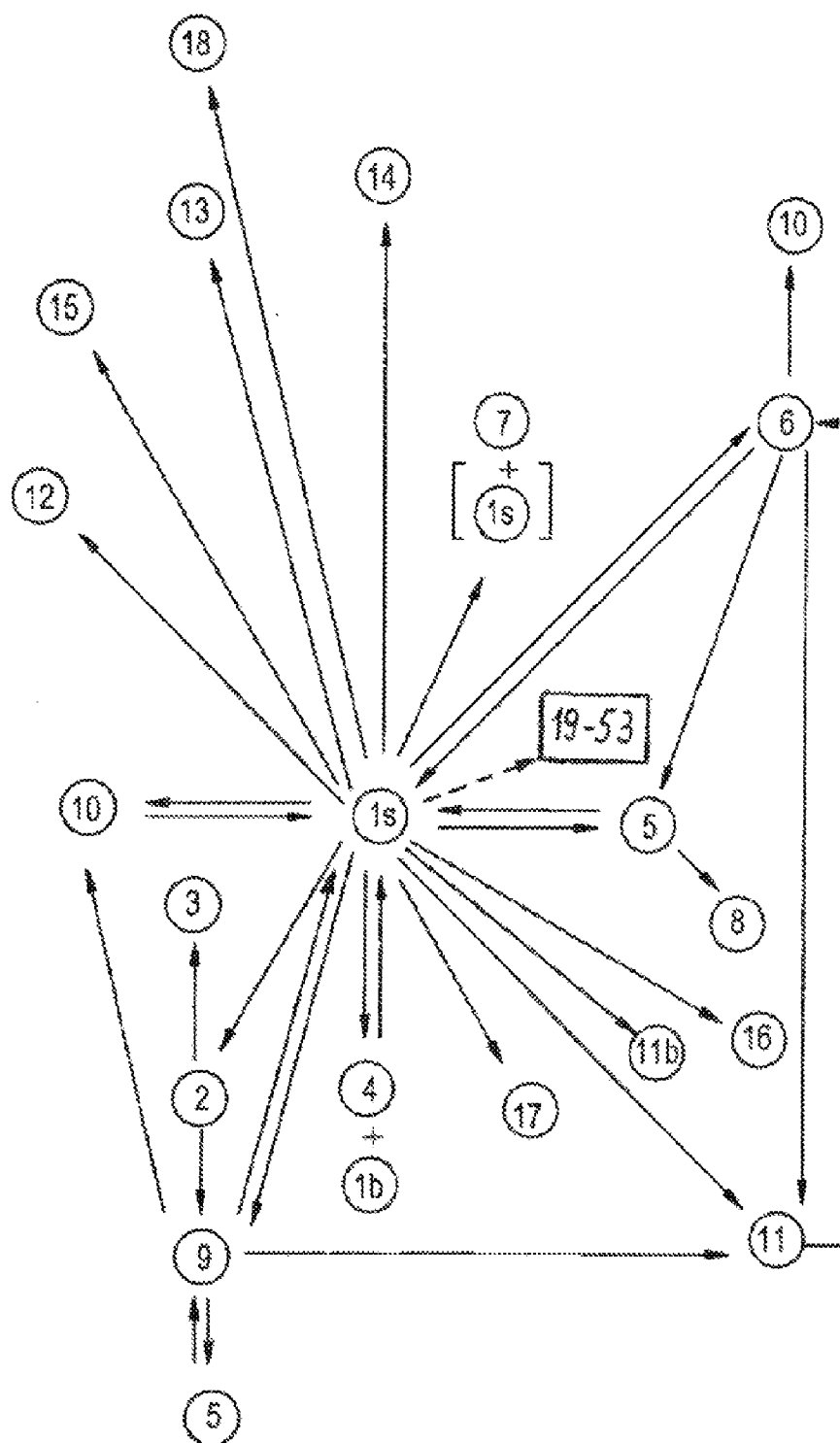
17. Соединение по п. 1, в котором указанное соединение находится по меньшей мере в одной из форм 1s и 15.

18. Соединение по п. 1, в котором указанное соединение находится по меньшей мере в одной из форм 1s, 15 и 19.

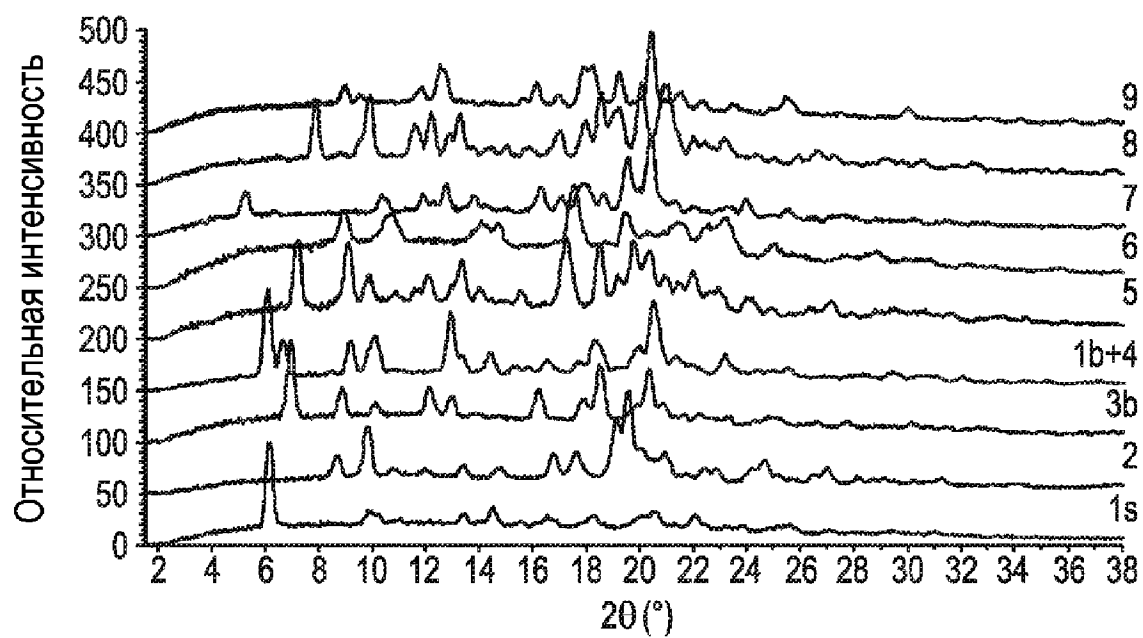
ФИГ. 1



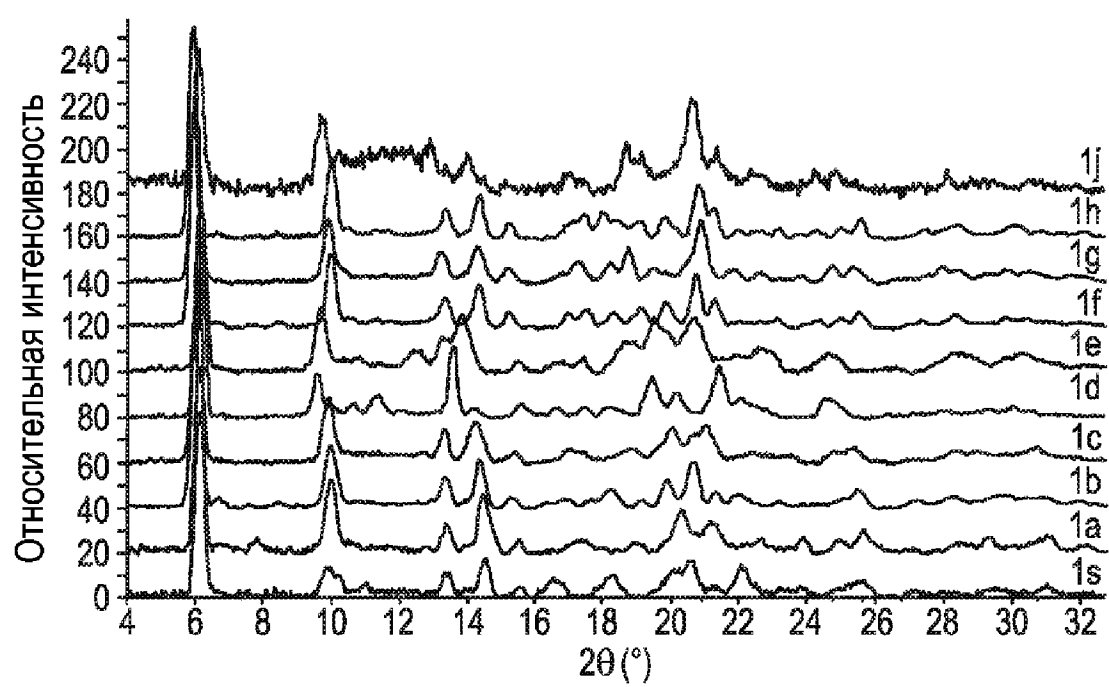
ФИГ. 2



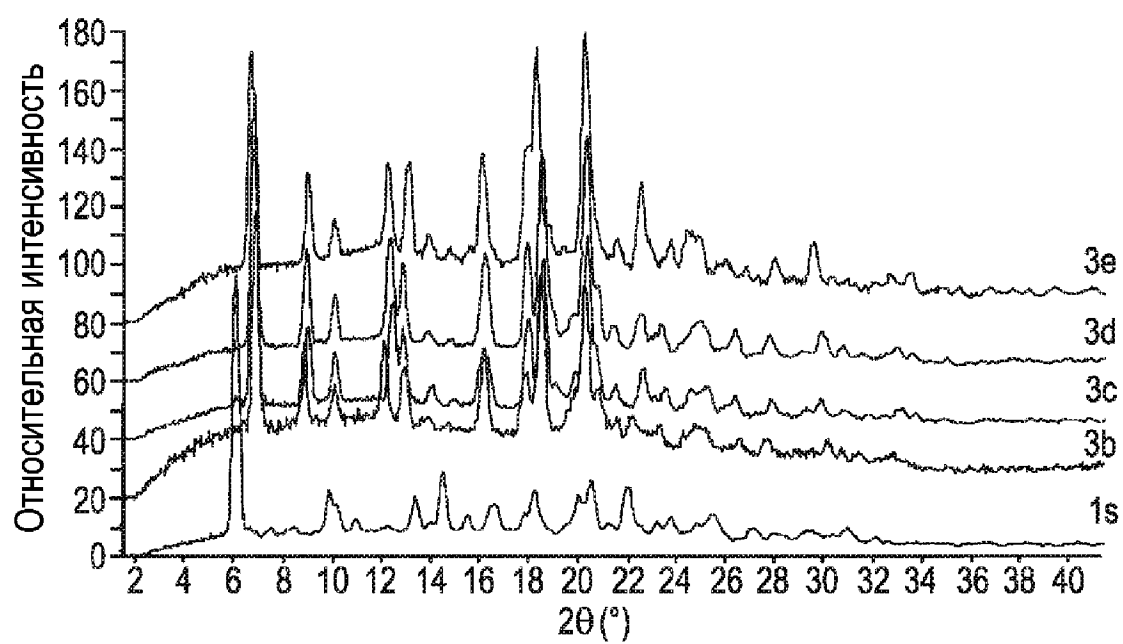
ФИГ. 3



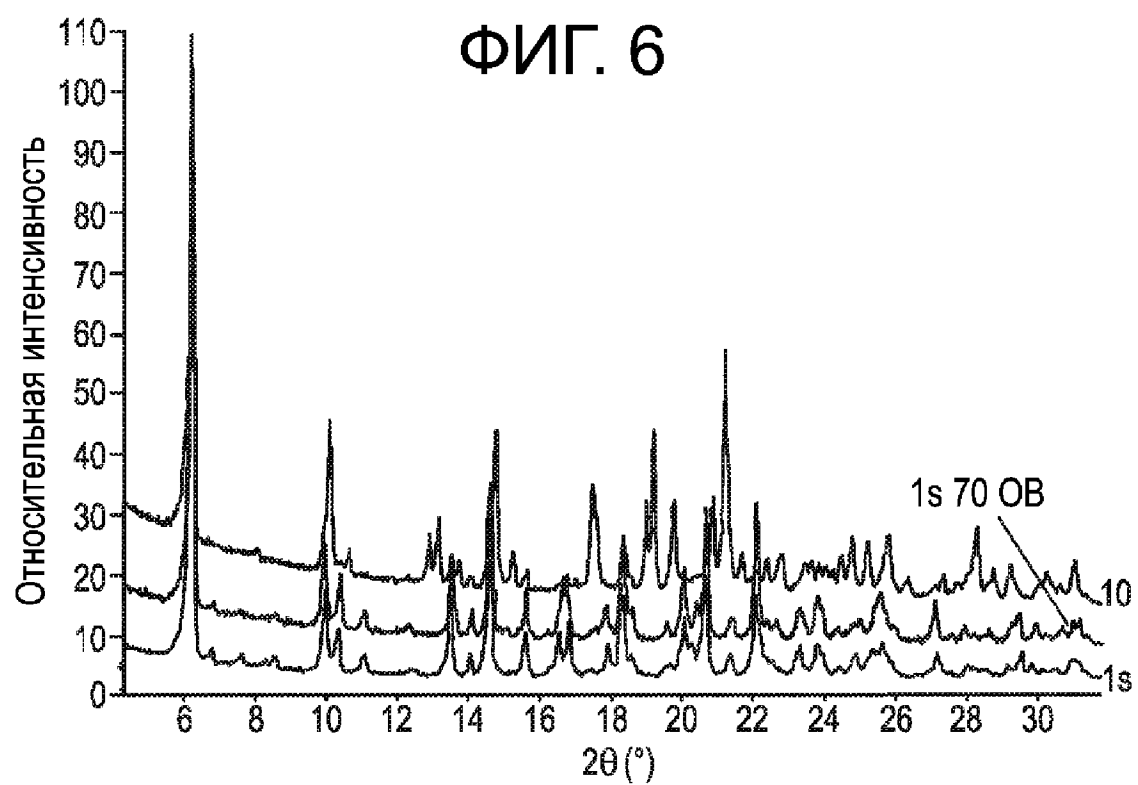
ФИГ. 4



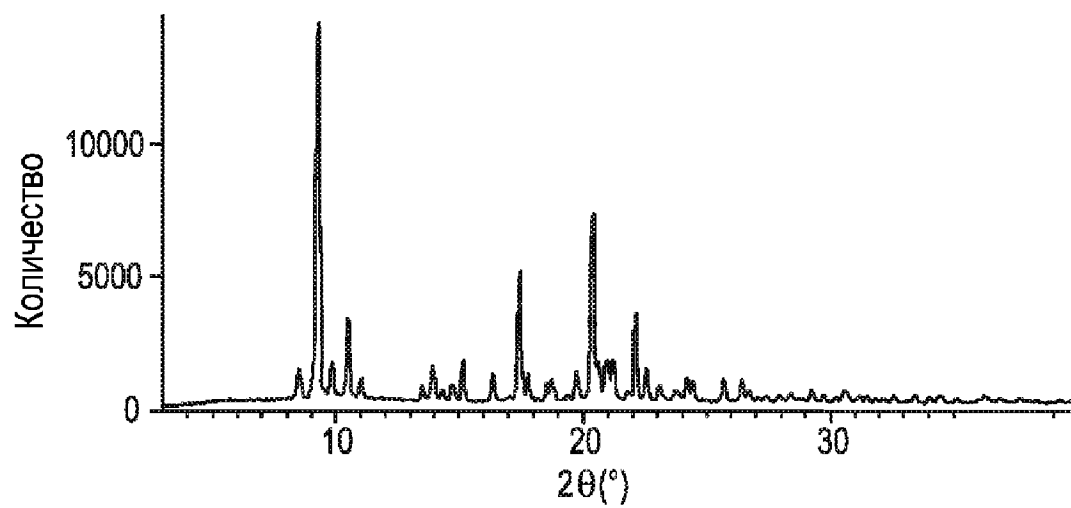
ФИГ. 5



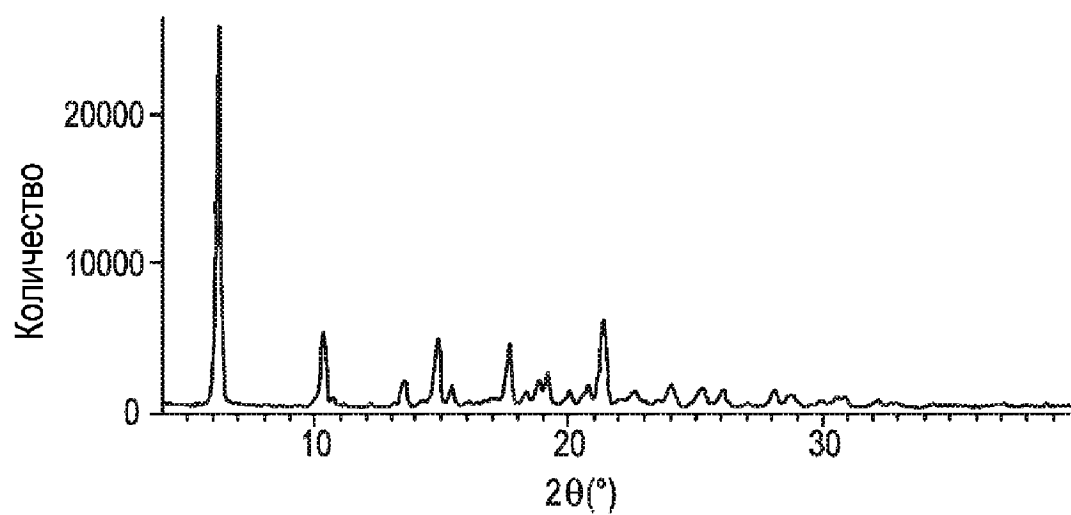
ФИГ. 6



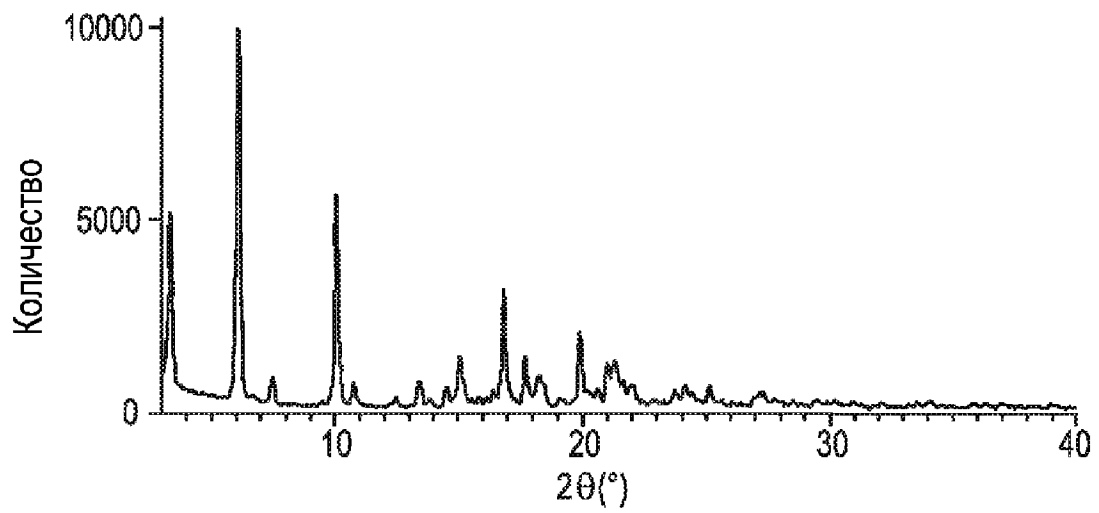
ФИГ. 7А



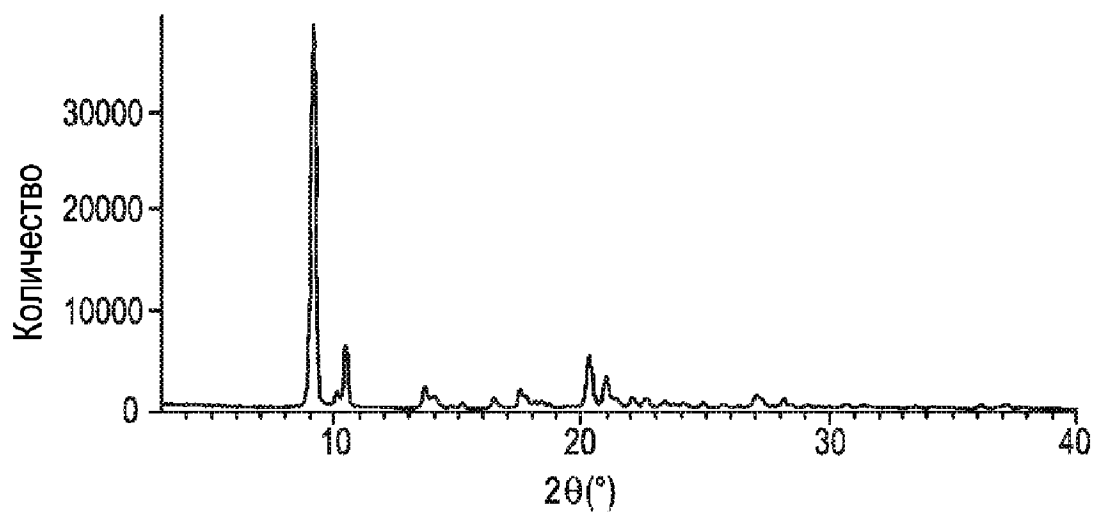
ФИГ. 7В



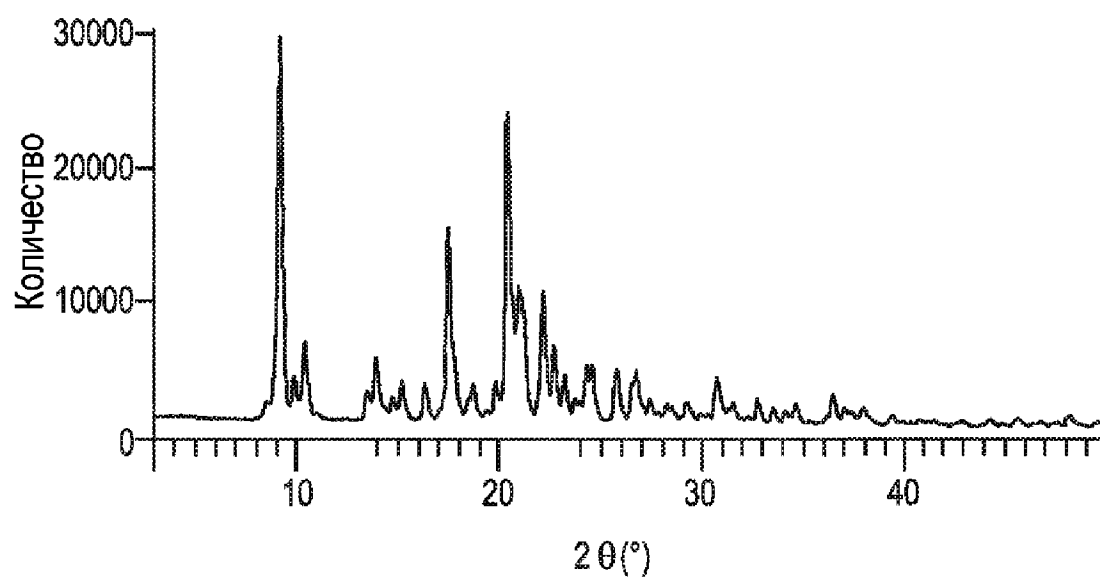
ФИГ. 7С



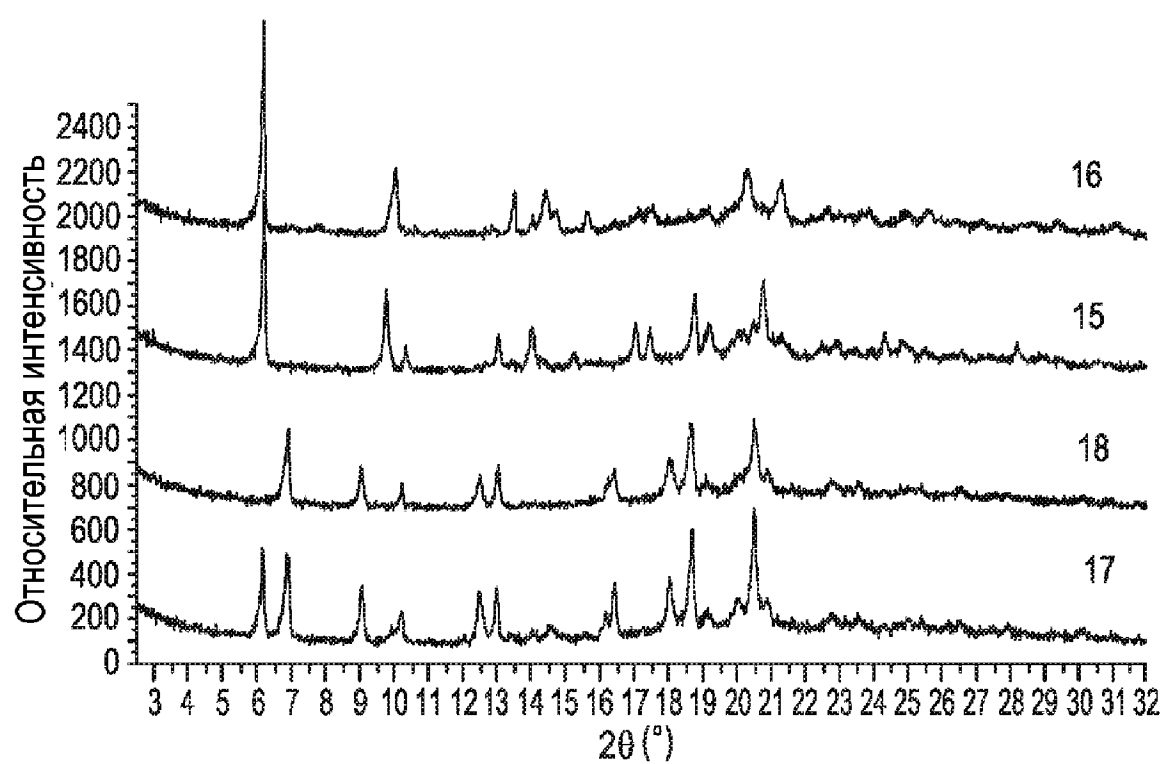
ФИГ. 7D



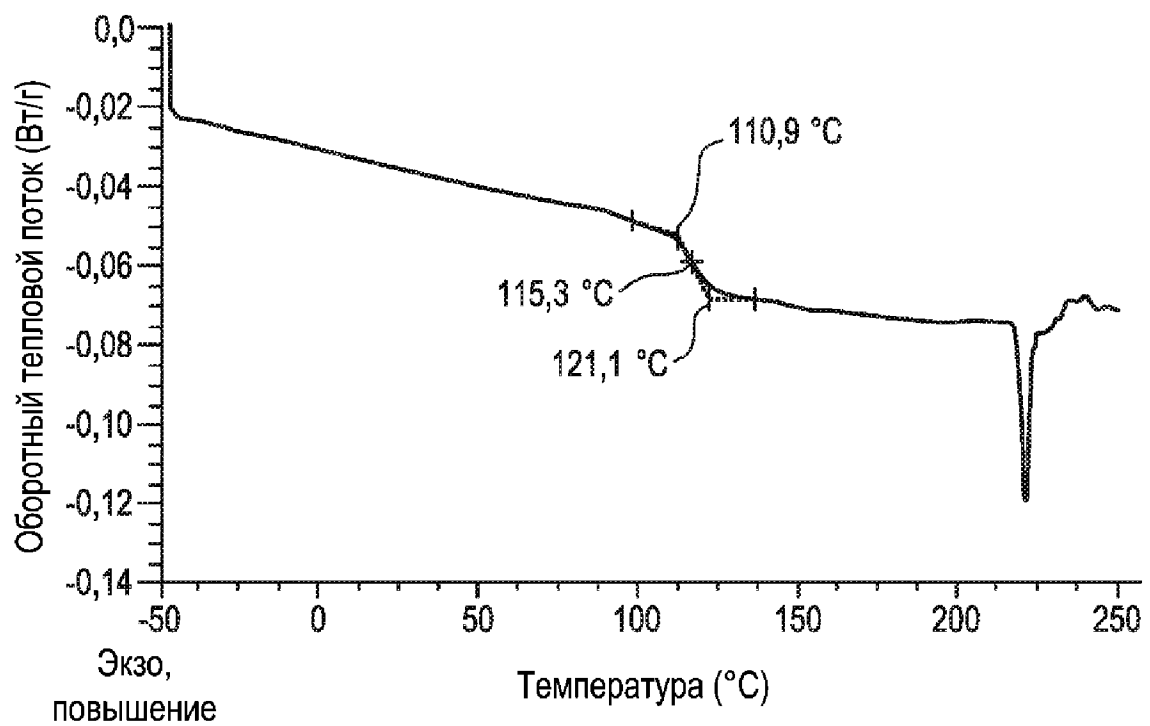
ФИГ. 7Е



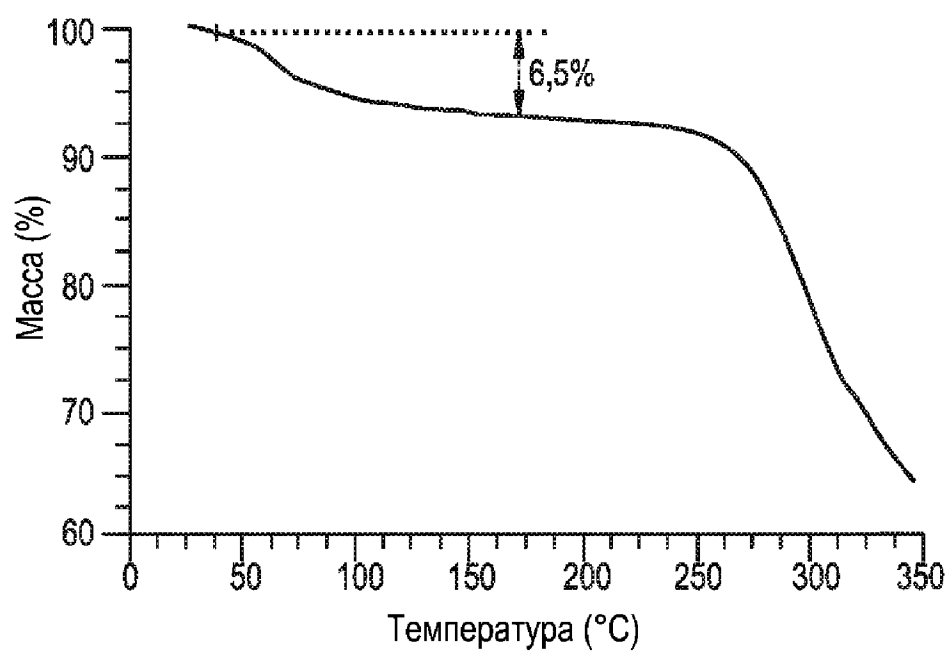
ФИГ. 8



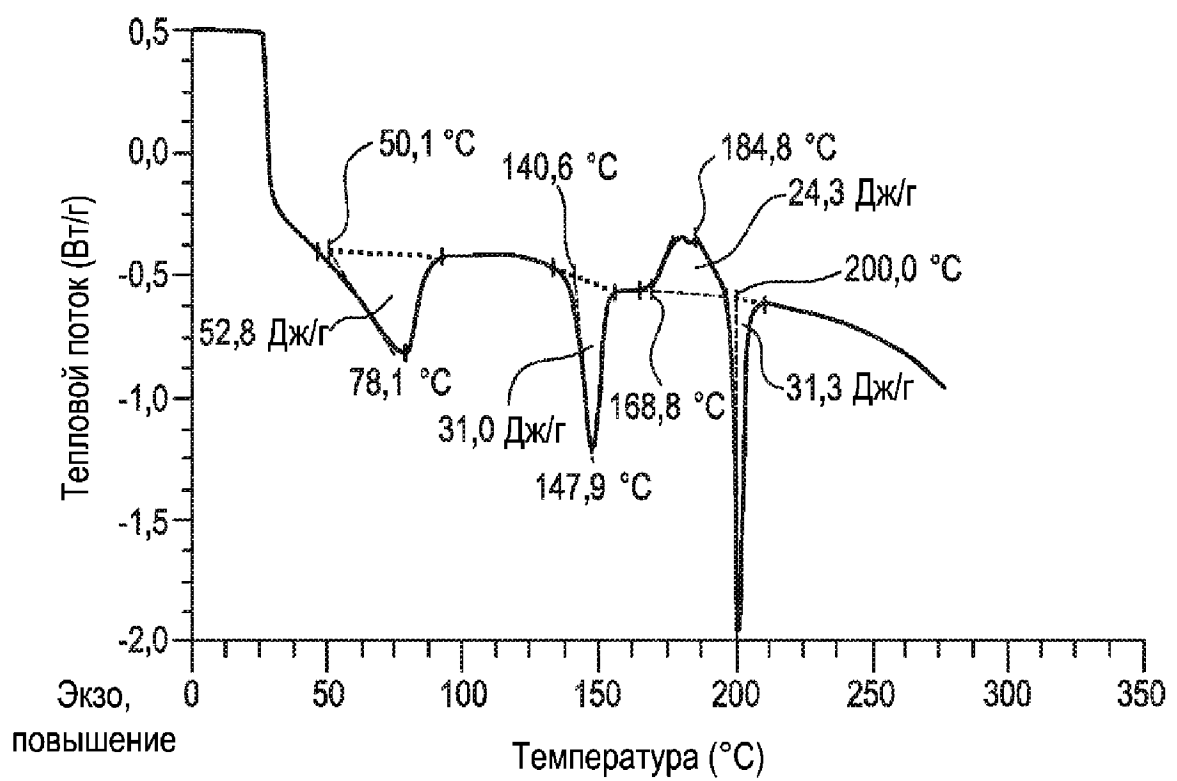
ФИГ. 9



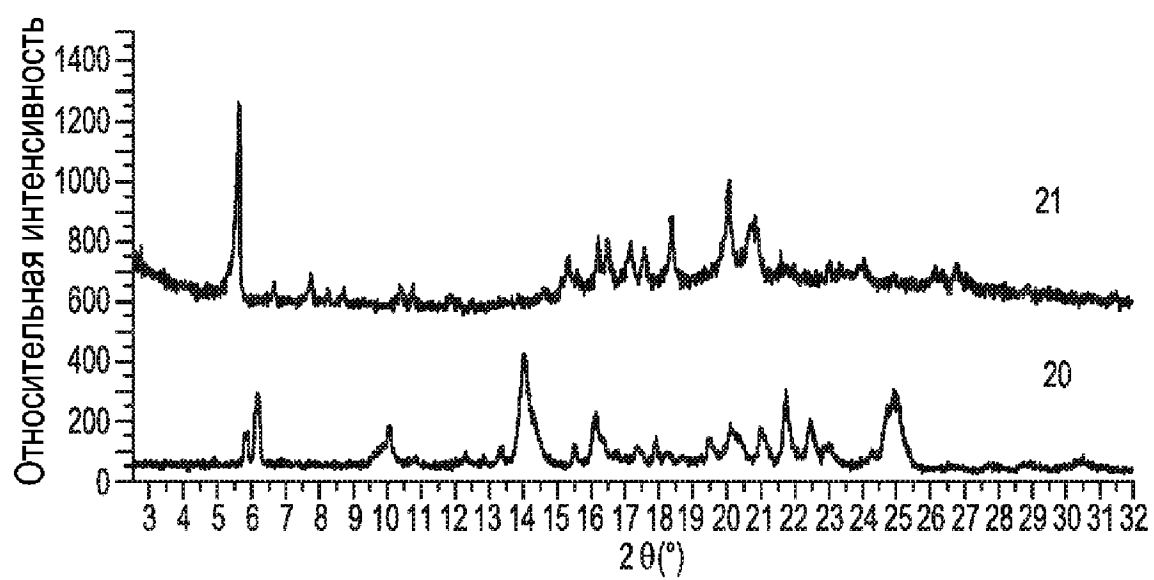
ФИГ. 10А



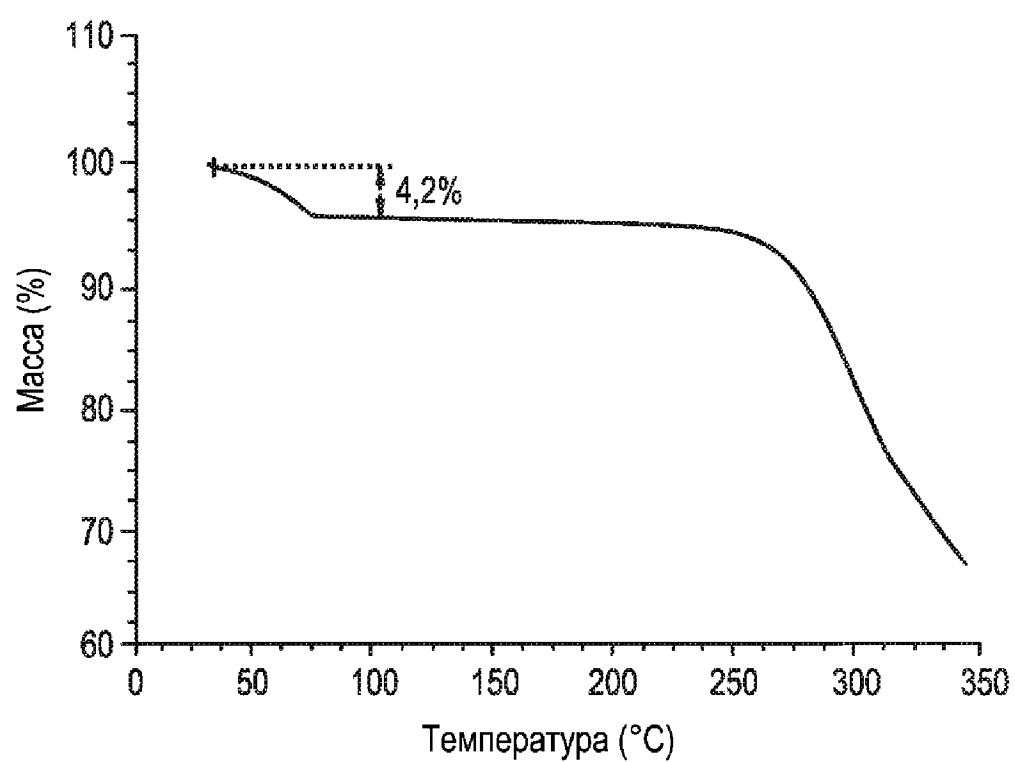
ФИГ. 10В



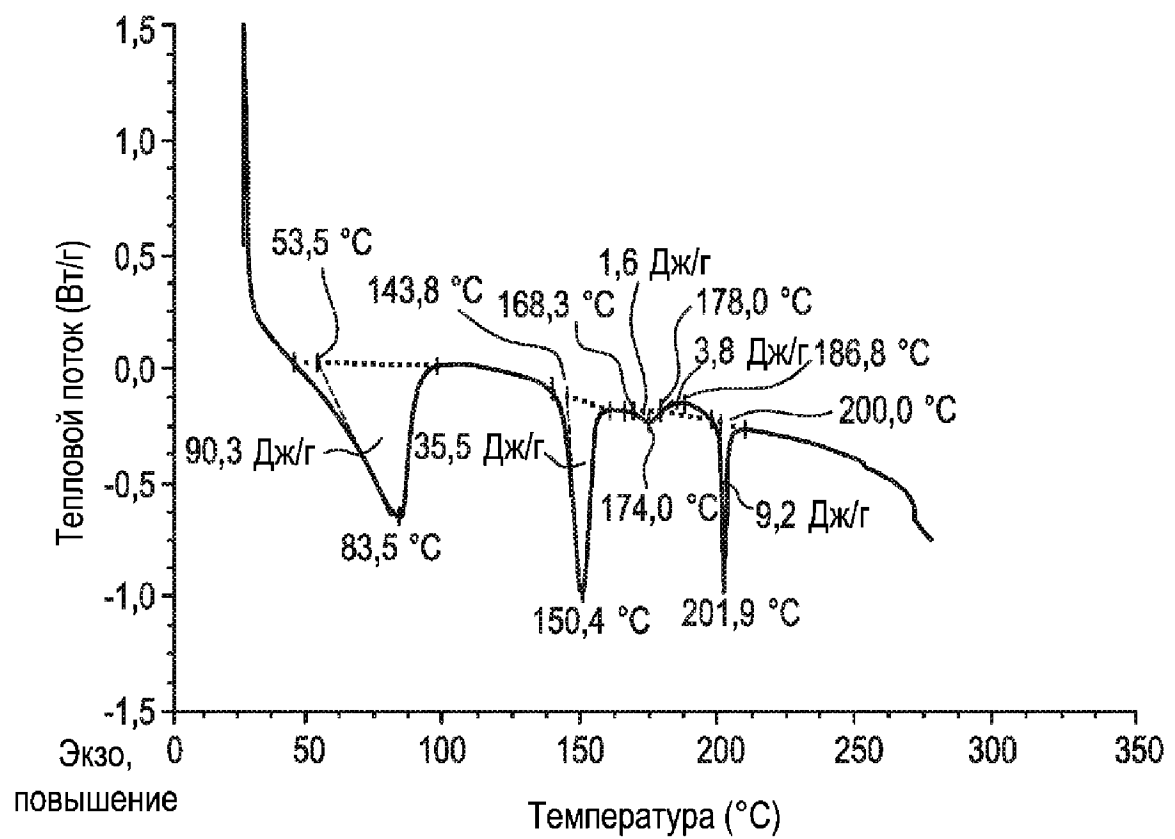
ФИГ. 11



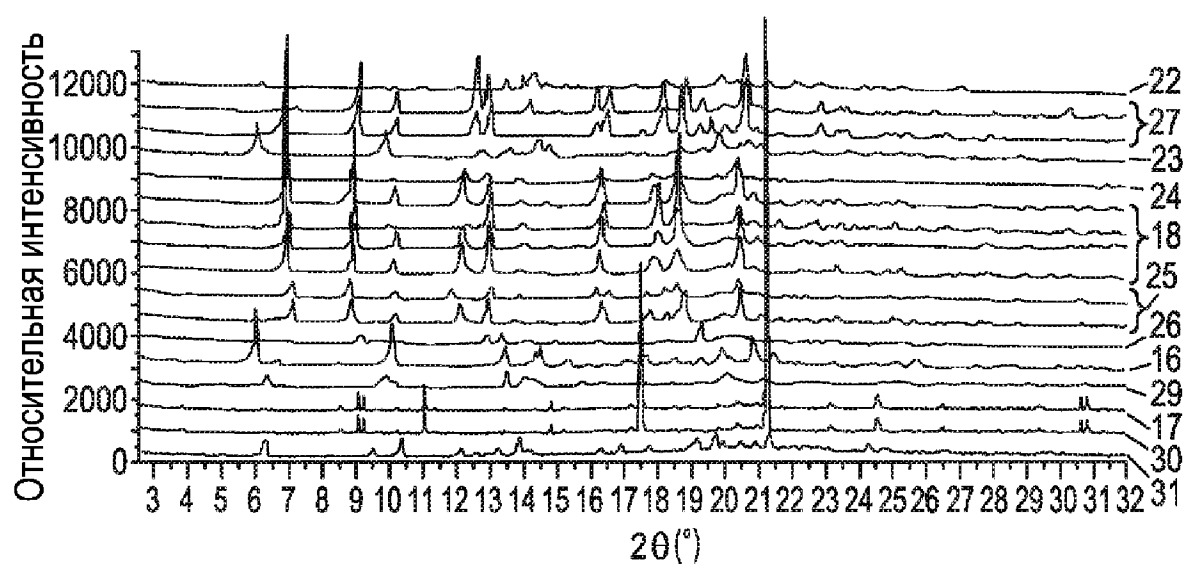
ФИГ. 12А



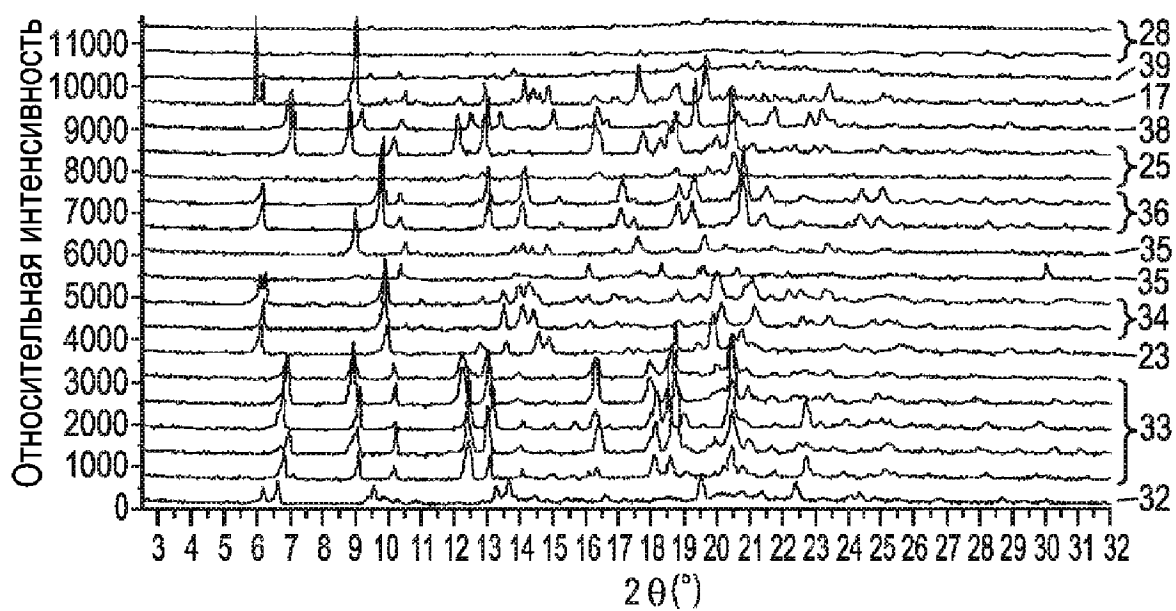
ФИГ. 12В



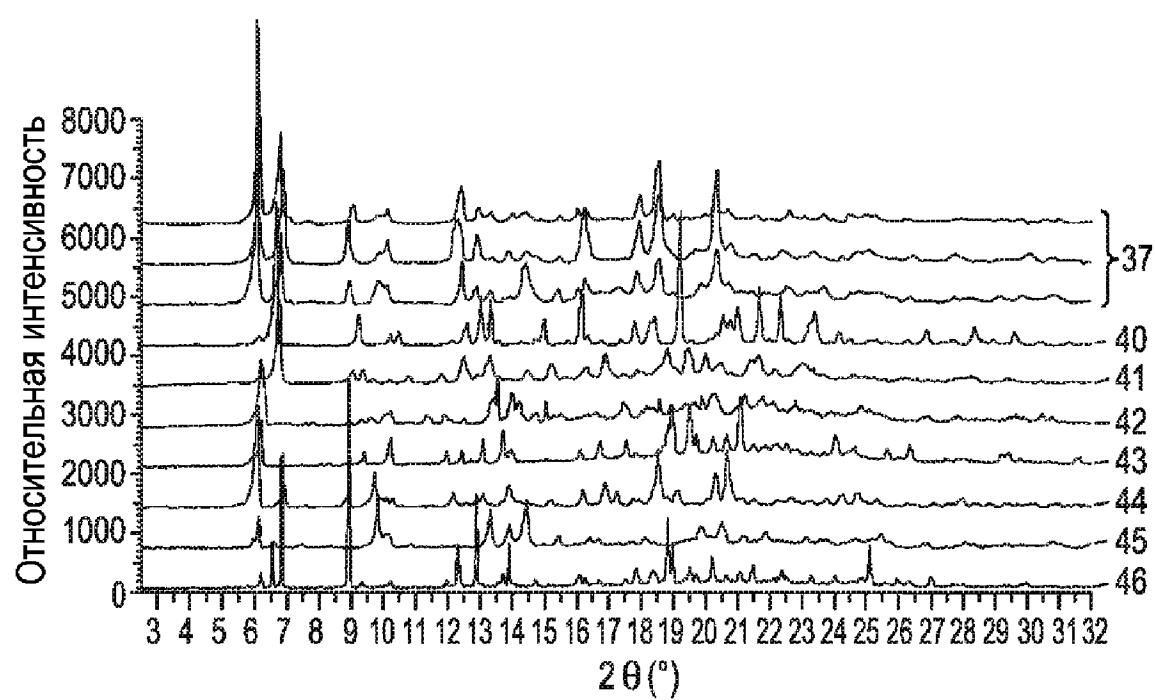
ФИГ. 13



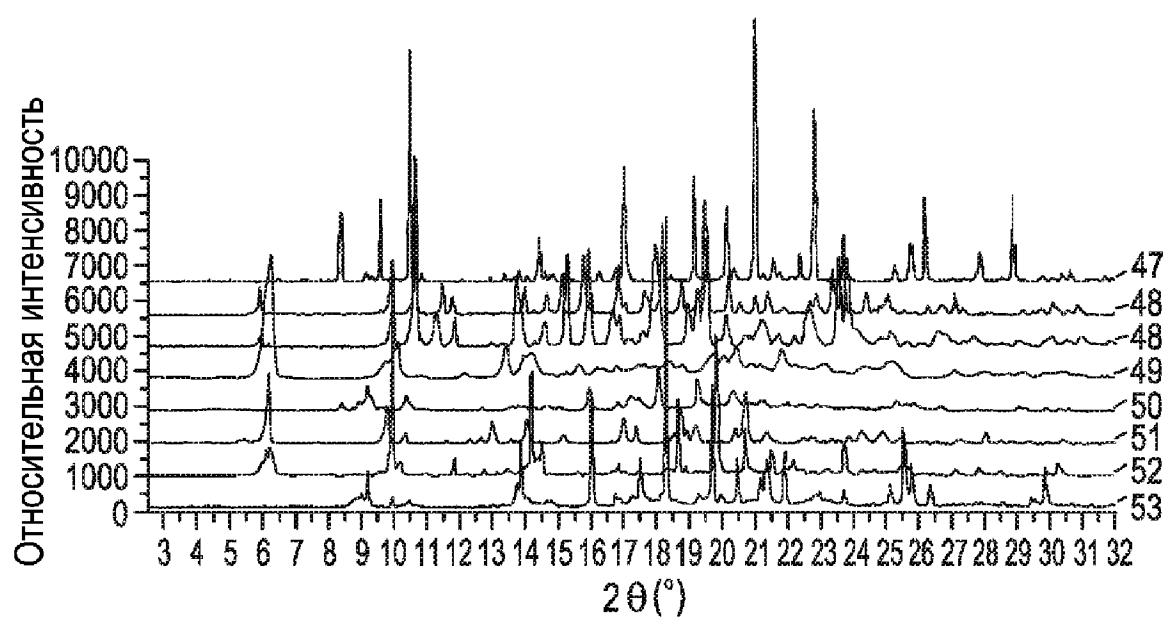
ФИГ. 14



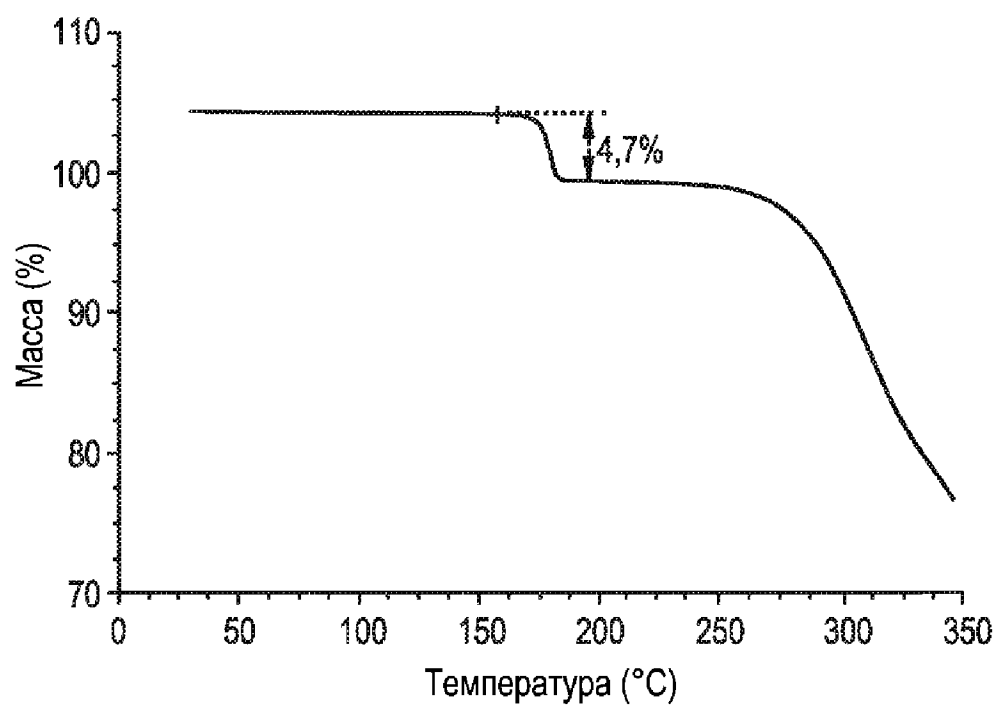
ФИГ. 15



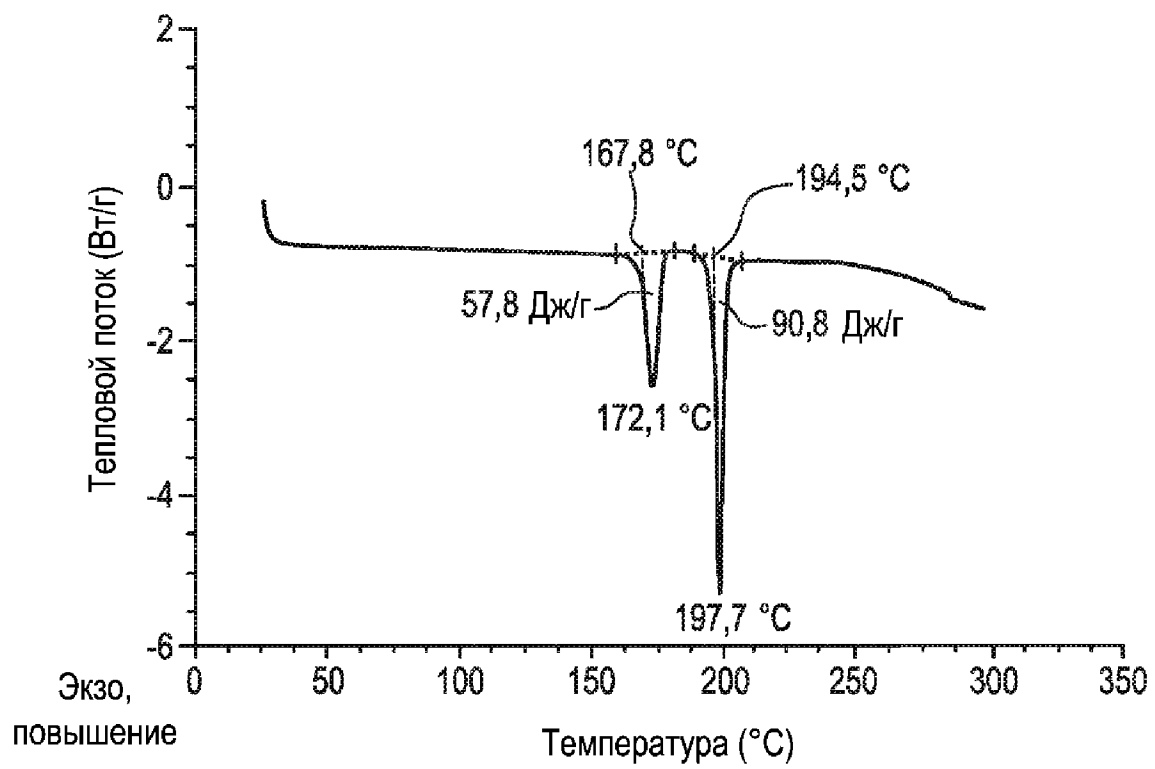
ФИГ. 16



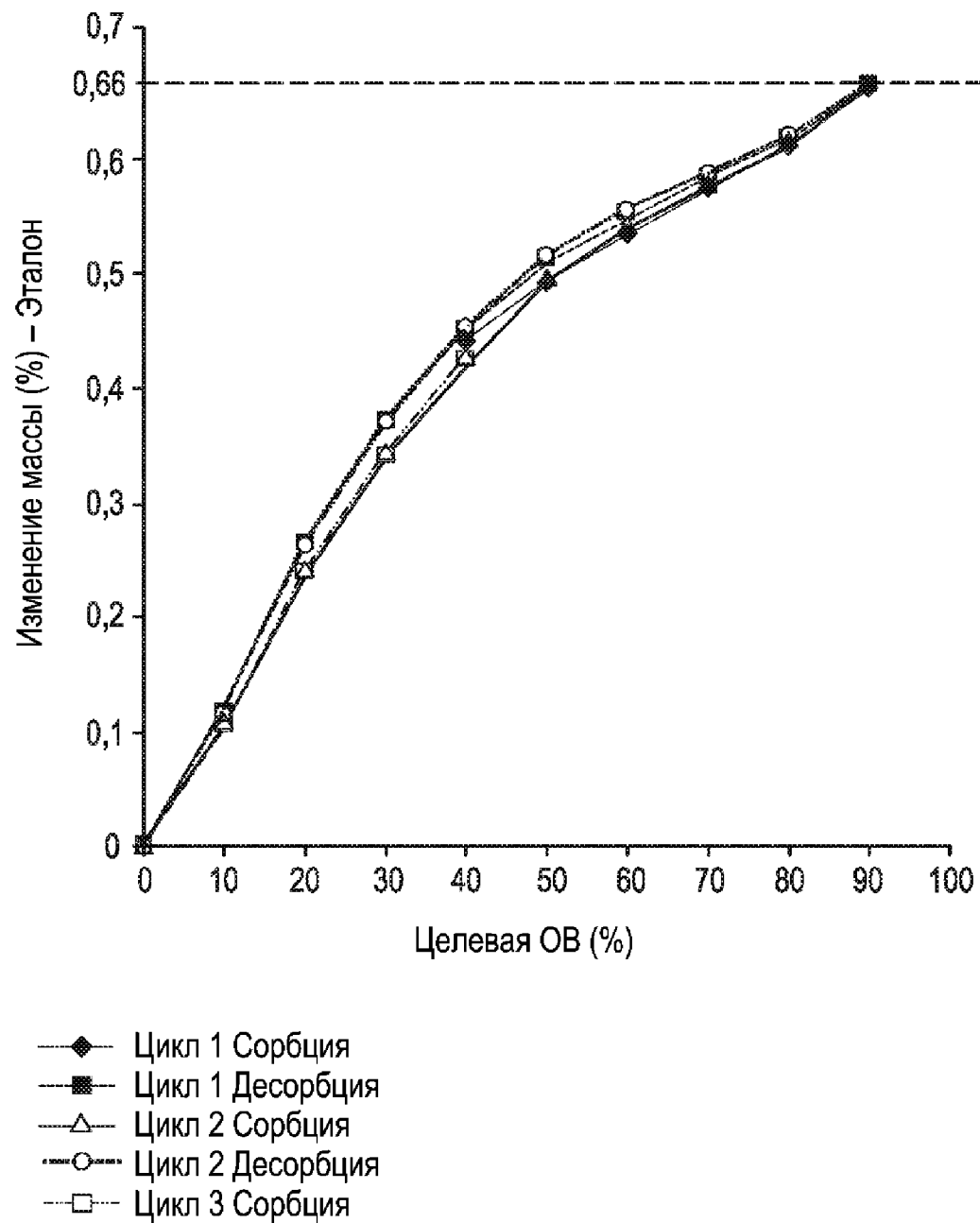
ФИГ. 17А



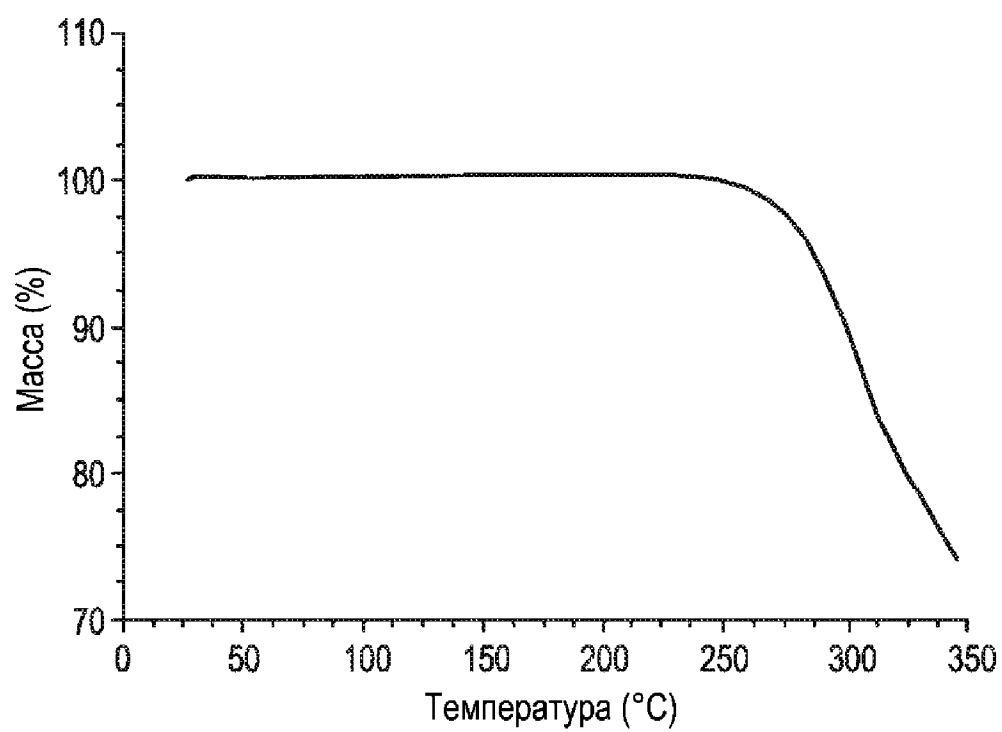
ФИГ. 17В



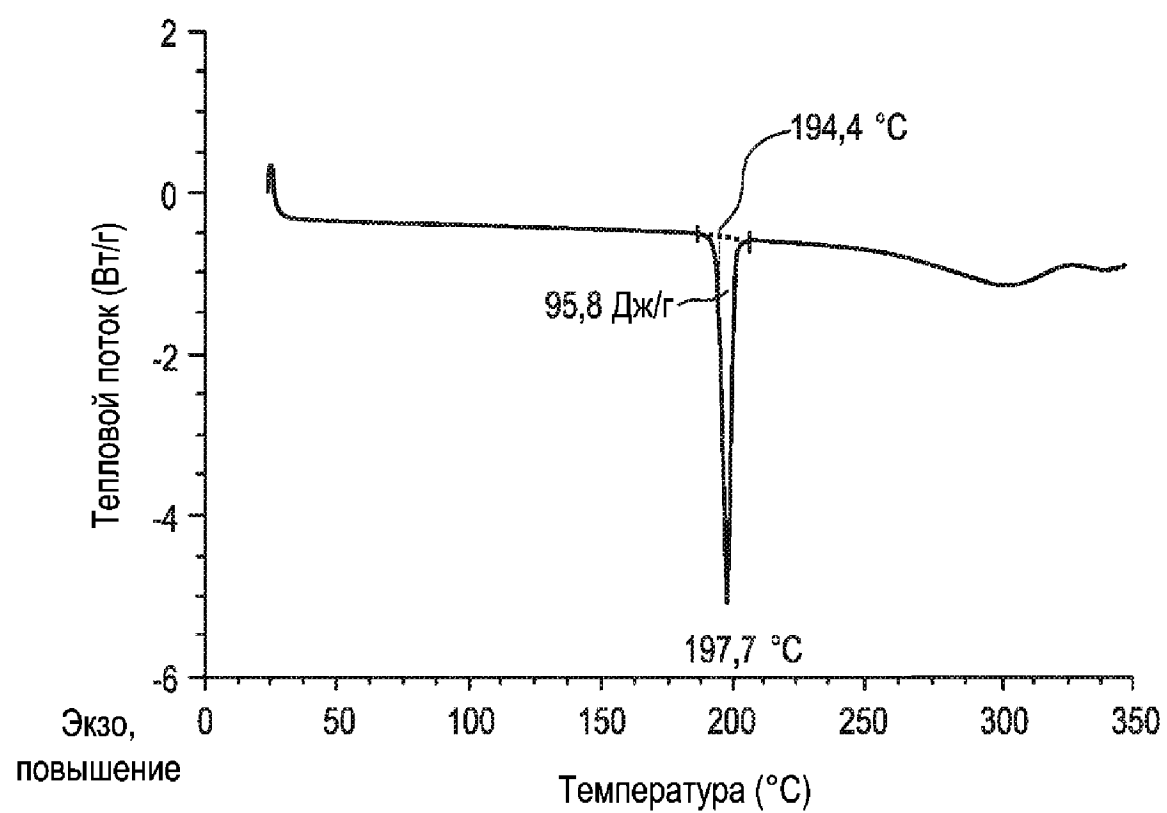
ФИГ. 18



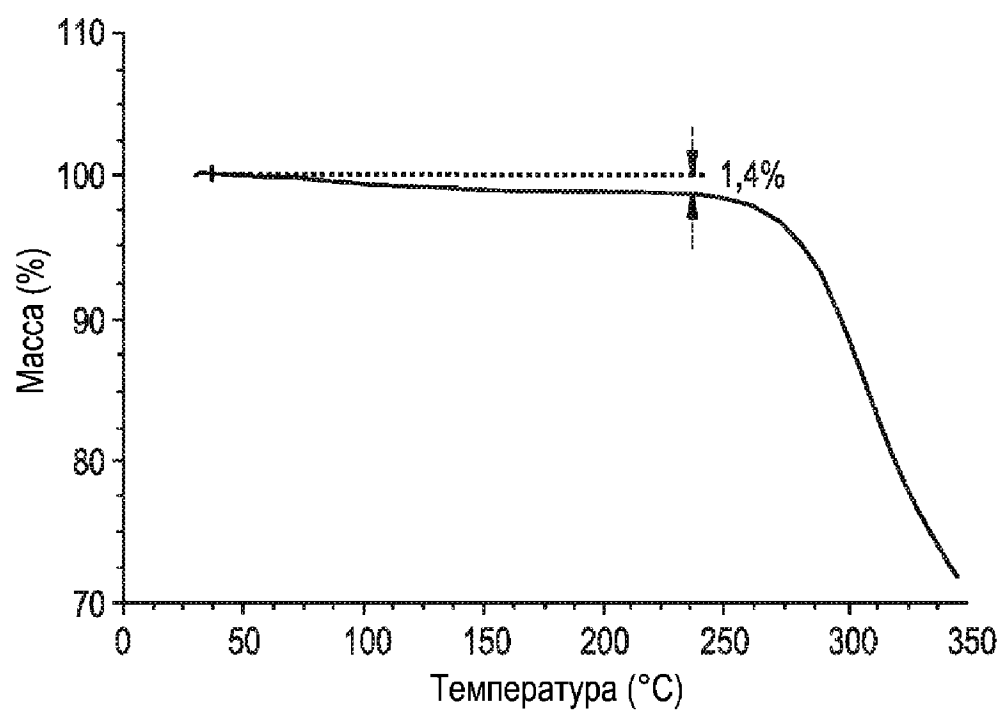
ФИГ. 19А



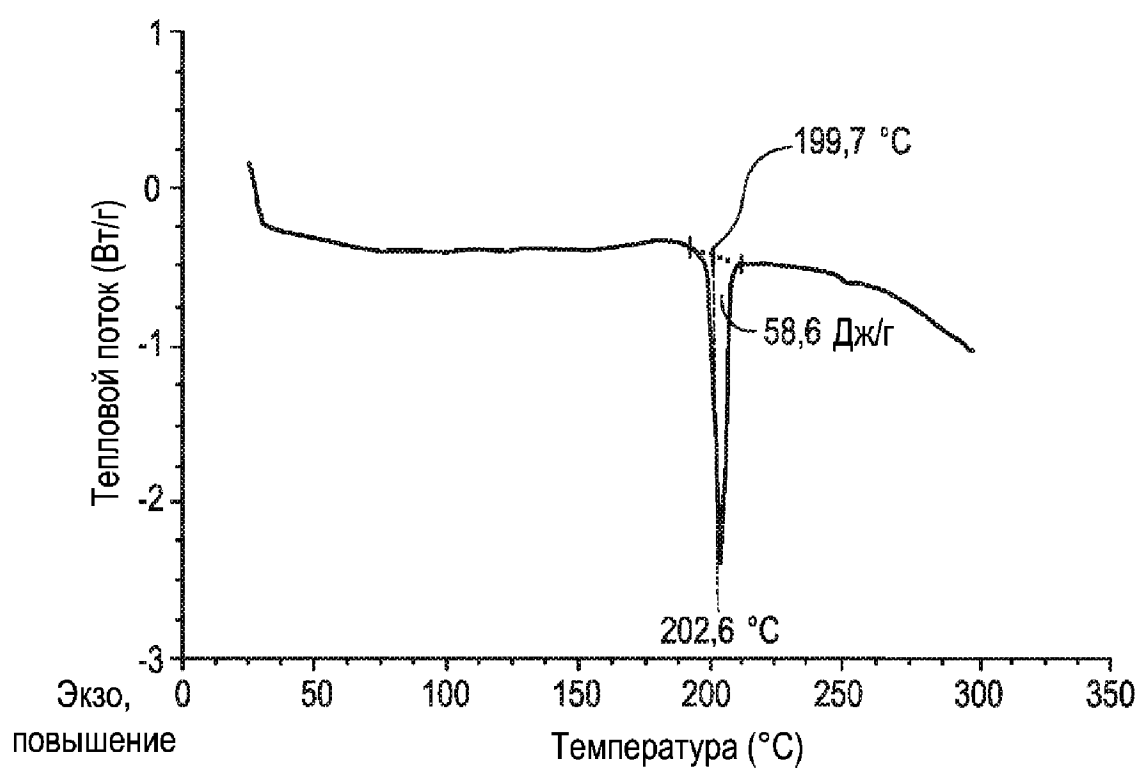
ФИГ. 19В



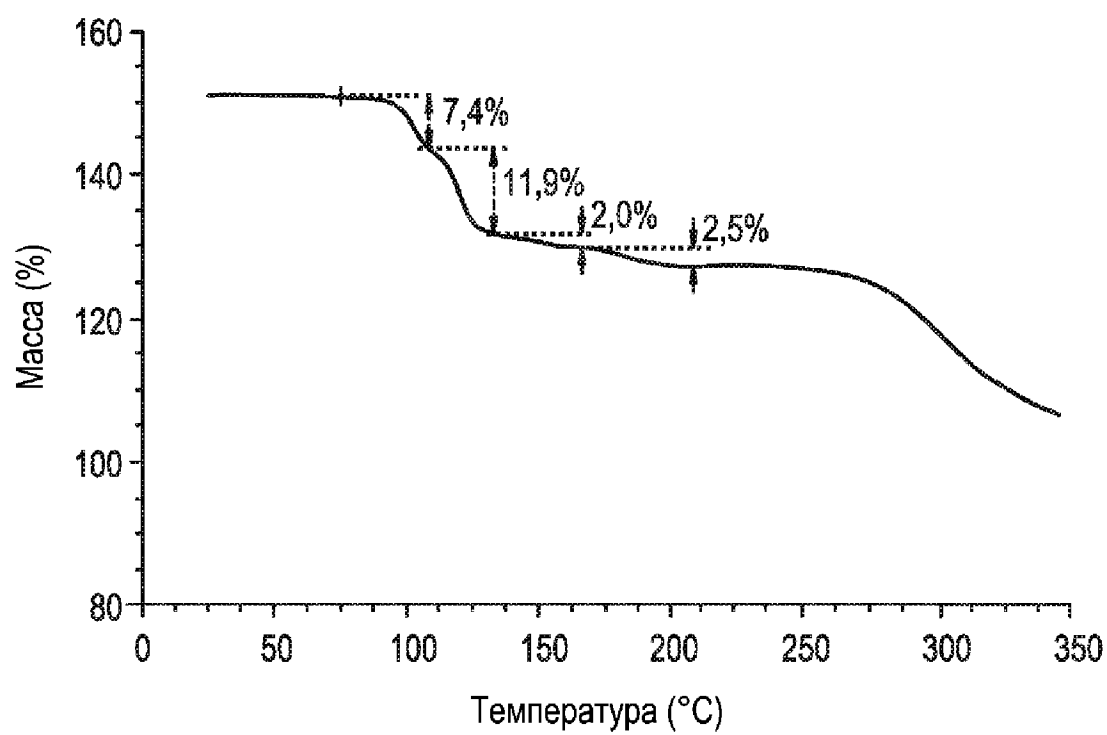
ФИГ. 20А



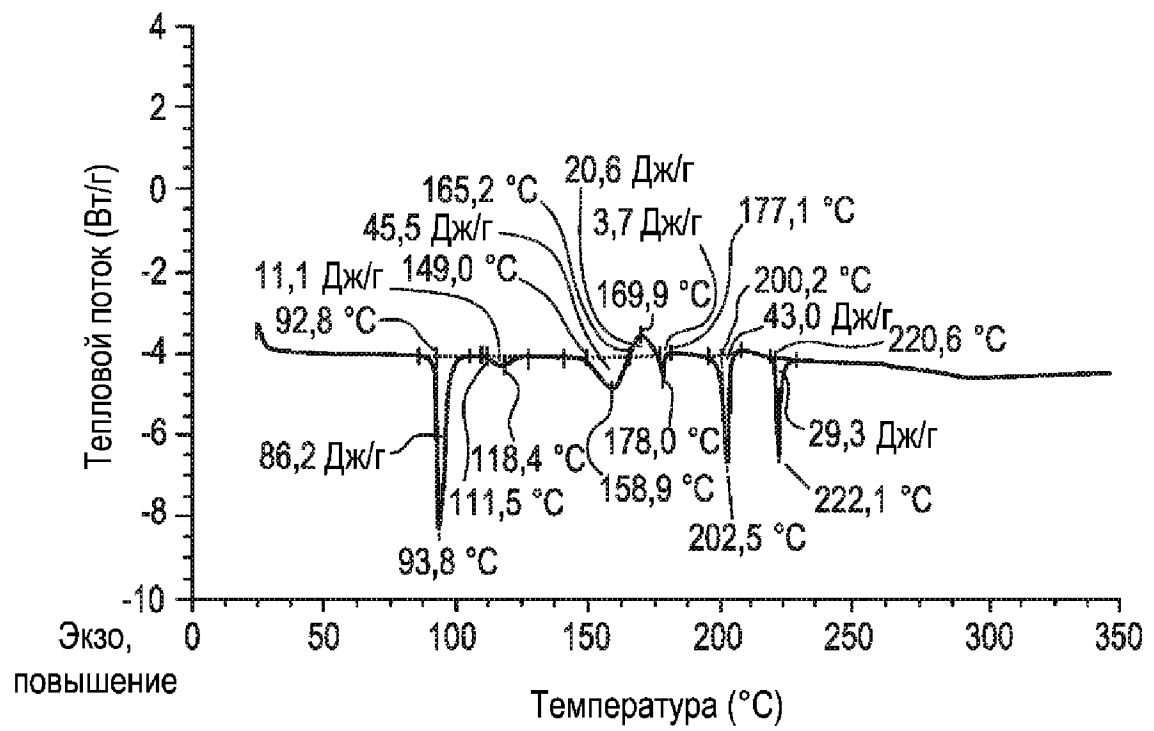
ФИГ. 20В



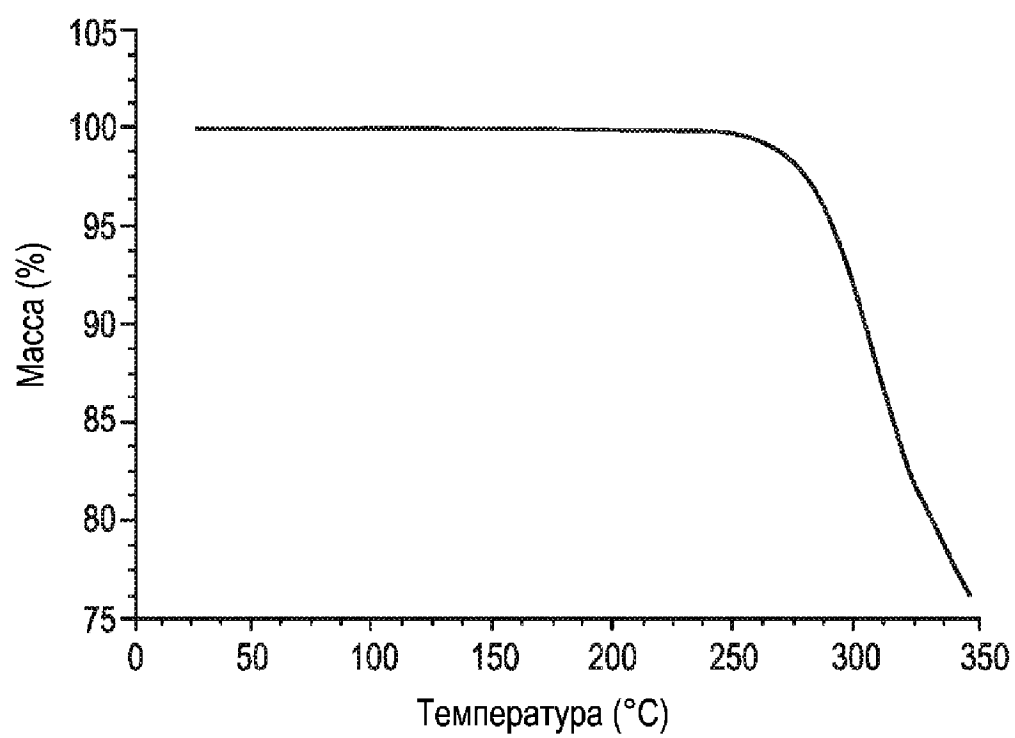
ФИГ. 21А



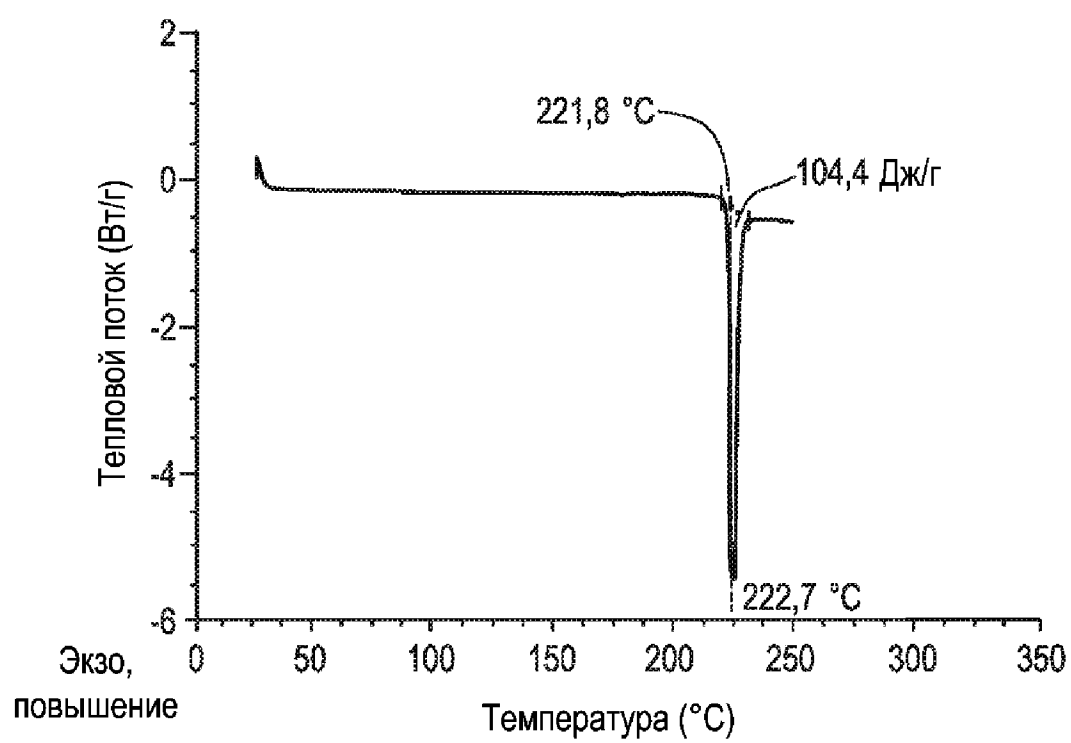
ФИГ. 21В



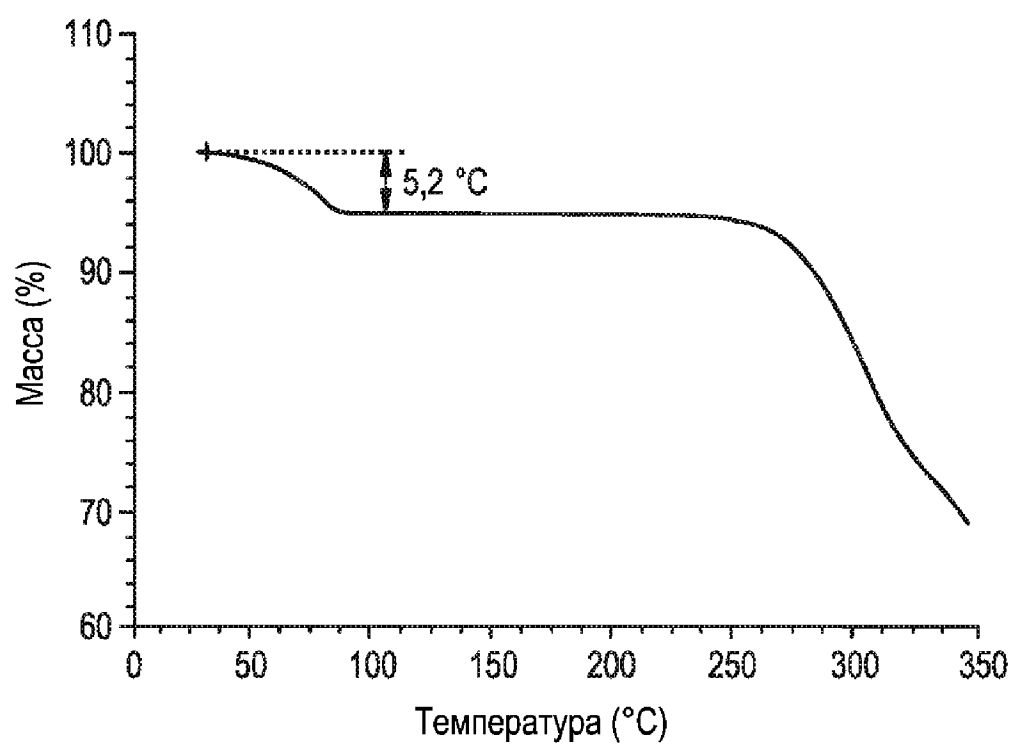
ФИГ. 22А



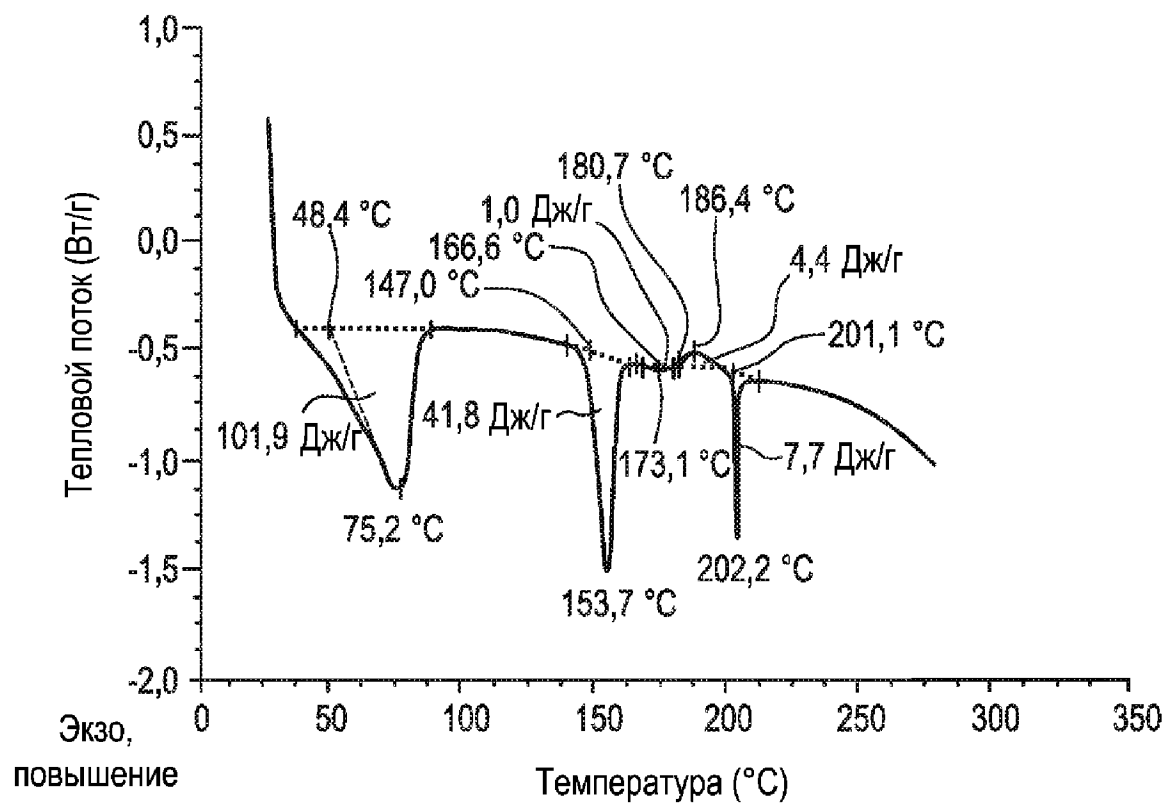
ФИГ. 22В



ФИГ. 23А



ФИГ. 23В



ФИГ. 24

