

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040127**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.04.22

(21) Номер заявки
201891553

(22) Дата подачи заявки
2014.12.22

(51) Int. Cl. **C07D 487/04** (2006.01)
A61K 31/4985 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(54) **КРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ ФОРМЫ СОЕДИНЕНИЙ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЛЕЙКОЗА**

(31) **61/920,407**

(32) **2013.12.23**

(33) **US**

(43) **2019.04.30**

(62) **201690989; 2014.12.22**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ДЖИЛИД САЙЭНС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Бломгрен Питер А., Карри Кевин С.,
Кропф Джефффри И., Ли Сын Х., Ло
Дженнифер Р., Митчелл Скотт А.,
Шмитт Аарон К., Сюн Цзиньмин,
Сюй Цзяньцзюнь, Чжао Чжундун,
Сваминатан Сандарамурти (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) **US-B2-8455493**

US-B2-8440667

WO-A1-2002060492

NATHALIE BOULOC et al.: Structure-based design of imidazo[1,2-a]pyrazine derivatives as selective inhibitors of Aurora-A kinase in cells, Bioorganic&Medicinal Chemistry Letters, 2010, vol. 20, p. 5988-5993

(57) Настоящее описание относится к кристаллическим формам мономезилата и сукцината 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин, являющегося ингибитором Syk, и к их применению для лечения лейкоза. В настоящем описании также предложены фармацевтические композиции, которые содержат указанные кристаллические формы.

B1**040127****040127****B1**

Область техники

Настоящее описание относится к кристаллическим формам соединений и их применению для лечения лейкоза. Настоящее описание также относится к фармацевтическим композициям, содержащим такие кристаллические формы.

Уровень техники

Протеинкиназы являются наибольшим семейством ферментов человека и включают более 500 белков. Тирозинкиназа селезенки (Syk) является представителем семейства тирозинкиназ Syk и регулирует раннее развитие В-клеток, а также активацию зрелых В-клеток, передачу сигналов и выживание.

Ингибирование активности Syk может быть полезным для лечения аллергических расстройств, аутоиммунных заболеваний и воспалительных заболеваний, таких как системная красная волчанка (СКВ), ревматоидный артрит, множественный васкулит, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура (ИТП), миастения гравис, аллергический ринит, хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ), респираторный дистресс-синдром взрослых (РДСВ) и астма. Кроме того, сообщалось, что Syk играет важную роль в лиганд-независимой сигнализации тоничности, опосредованной рецептором В-клеток, которая, как известно, является важным сигналом выживания в В-клетках. Таким образом, ингибирование активности Syk может быть также полезным для лечения определенных типов рака, включая В-клеточную лимфому и лейкоз. В патентах США № 8455493 и 8440667 описаны ингибиторы Syk, и содержание указанных патентов полностью включено в настоящее описание посредством ссылки.

Существует непрекращающаяся потребность в обеспечении соединений, которые являются эффективными ингибиторами Syk, включая соединения, имеющие желаемые фармакокинетические свойства для применения в качестве терапевтических средств для лечения рака и других заболеваний.

Краткое описание изобретения

В первом аспекте настоящего изобретения предложена кристаллическая форма I 6-(6-аминопипразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пипразин-8-амин моно-мезилата, характеризующаяся пиками рентгеновской порошковой дифрактограммы при примерно 19,7, примерно 17,3, примерно 17,9, примерно 21,6 и примерно $25,8^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$.

В некоторых вариантах реализации указанная дифрактограмма содержит пики при 6,0, 6,2, 8,6 и $9,6^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$.

Во втором аспекте настоящего изобретения предложена кристаллическая форма II 6-(6-аминопипразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пипразин-8-амин моно-мезилата, характеризующаяся пиками рентгеновской порошковой дифрактограммы при примерно 17,3, примерно 25,1, примерно 20,4, примерно 19,6 и примерно $18,5^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$.

В некоторых вариантах реализации указанная дифрактограмма содержит пики при 6,1, 6,9, 11,0 и $13,6^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$.

В третьем аспекте настоящего изобретения предложена кристаллическая форма I 6-(6-аминопипразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пипразин-8-амин сукцината, характеризующаяся пиками рентгеновской порошковой дифрактограммы при примерно 16,5, примерно 24,5, примерно 17,7, примерно 28,4 и примерно $21,8^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$.

В некоторых вариантах реализации указанная дифрактограмма содержит пики при 8,0 и $8,3^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$.

В четвертом аспекте настоящего изобретения предложена кристаллическая форма II 6-(6-аминопипразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пипразин-8-амин сукцината, характеризующаяся пиками рентгеновской порошковой дифрактограммы при примерно 25,0, примерно 16,3, примерно 22,0, примерно 7,9 и примерно $7,6^{\circ}2\theta \pm 0,2^{\circ}2\theta$.

В пятом аспекте настоящего изобретения предложена фармацевтическая композиция, содержащая кристаллическую форму согласно предыдущим аспектам изобретения и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

В шестом аспекте настоящего изобретения предложено применение кристаллической формы согласно предыдущим аспектам изобретения или фармацевтической композиции согласно пятому аспекту изобретения для лечения лейкоза у субъекта.

В некоторых вариантах реализации указанное заболевание или состояние представляет собой острый миелоидный лейкоз.

В некоторых вариантах реализации указанный субъект представляет собой человека.

В некоторых вариантах реализации указанное соединение или его фармацевтически приемлемую соль или сокристалл вводят внутривенно, внутримышечно, парентерально, назально или перорально.

В некоторых вариантах реализации указанное соединение или его фармацевтически приемлемую соль или сокристалл вводят один раз в сутки перорально.

В некоторых вариантах реализации указанное соединение или его фармацевтически приемлемую соль или сокристалл вводят два раза в сутки перорально.

В седьмом аспекте настоящего изобретения предложено применение кристаллической формы согласно предыдущим аспектам изобретения для получения лекарственного средства для лечения заболе-

вания или состояния согласно предыдущим вариантам реализации.

Дополнительные аспекты и варианты реализации настоящего описания приведены в настоящем документе.

Краткое описание чертежей

На фиг. 1 представлены результаты анализа методом XRPD для формы I мономезилатной соли соединения согласно примеру 2.

На фиг. 2 представлены результаты анализа методом ЯМР для формы I мономезилатной соли соединения согласно примеру 2.

На фиг. 3 представлены результаты анализа посредством ДСК для формы I мономезилатной соли соединения согласно примеру 2.

На фиг. 4 представлены результаты анализа посредством ТГА для формы I мономезилатной соли соединения согласно примеру 2.

На фиг. 5 представлены результаты анализа методом XRPD для формы II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2.

На фиг. 6 представлены результаты анализа методом ЯМР для формы II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2.

На фиг. 7 представлены результаты анализа методом ДСК для формы II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2.

На фиг. 8 представлены результаты анализа методом ТГА для формы II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2.

На фиг. 9 представлены результаты анализа методом XRPD для формы I сукцината соединения согласно примеру 2.

На фиг. 10 представлены результаты анализа методом ЯМР для формы I сукцината соединения согласно примеру 2.

На фиг. 11 представлены результаты анализа методом ДСК для формы I сукцината соединения согласно примеру 2.

На фиг. 12 представлены результаты анализа методом ТГА для формы I сукцината соединения согласно примеру 2.

На фиг. 13 представлены результаты анализа методом XRPD для формы II сукцината соединения согласно примеру 2.

На фиг. 14 представлены результаты анализа методом ЯМР для формы II соединения согласно примеру 2.

На фиг. 15 представлены результаты анализа методом ДСК для формы II сукцината соединения согласно примеру 2.

На фиг. 16 представлены результаты анализа методом ТГА для формы II соединения согласно примеру 2.

Подробное описание изобретения

Неожиданно было обнаружено, что заявленные кристаллические формы обладают предпочтительными свойствами, делающими их привлекательными для применения согласно настоящему описанию. Соединения в дополнение к тому, что они являются ингибиторами Syk, обладают желаемыми растворимостью и фармакокинетическими свойствами. Эти результаты особенно поразительны с учетом свойств соединений с сопоставимыми параметрами аналогичной базовой структуры.

В последующем описании изложены иллюстративные способы, параметры и т.п. Тем не менее следует отметить, что такое описание не предназначено для ограничения объема настоящего описания, а напротив, представлено в качестве описания иллюстративных вариантов реализации.

Определения.

В контексте настоящего описания в целом предполагается, что следующие слова и фразы имеют значения, указанные ниже, за исключением случаев, когда контекстом, в котором они используются, предусмотрено иное.

Термин "терапевтически эффективное количество", или "фармацевтически эффективное количество", относится к количеству, которое является достаточным для эффективного лечения, как определено ниже, при введении субъекту (например, млекопитающему, такому как человек), нуждающемуся в таком лечении. Терапевтически или фармацевтически эффективное количество будет варьироваться в зависимости от субъекта и болезненного состояния, подлежащего лечению, веса и возраста субъекта, тяжести болезненного состояния, способа введения и т.п., которые могут быть легко определены средним специалистом в данной области техники. Например, "терапевтически эффективным количеством", или "фармацевтически эффективным количеством", кристаллической формы является количество, достаточное для модуляции экспрессии или активности Syk и, таким образом, лечения субъекта (например, человека), страдающего от некоторого состояния, или для облегчения или смягчения существующих симптомов состояния. Например, терапевтически или фармацевтически эффективное количество может представлять собой количество, достаточное для уменьшения симптома заболевания или состояния, отвечающего на ингибирование активности Syk.

Термин "полиморф" относится к различным кристаллическим структурам кристаллического соединения. Различные полиморфы могут возникнуть в результате различий в упаковке кристалла (упаковочный полиморфизм) или различия в упаковке между различными конформерами одной и той же молекулы (конформационный полиморфизм).

Термин "ингибирование" означает уменьшение, такое как значительное уменьшение, биологической активности или процесса относительно исходной активности. "Ингибирование активности Syk" относится к уменьшению активности Syk в качестве непосредственного или опосредованного ответа на присутствие формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 относительно активности Syk в отсутствии такого соединения или его фармацевтически приемлемой соли или сокристалла. Указанное уменьшение активности может происходить благодаря непосредственному взаимодействию соединения с Syk или благодаря взаимодействию соединения(ий), описанного(ых) в настоящем документе, с одним или более другими факторами, которые, в свою очередь, влияют на активность Syk. Например, присутствие соединения(ий) может уменьшать активность Syk путем непосредственного связывания с Syk, путем обеспечения уменьшения активности Syk другим фактором (непосредственно или опосредованно) или путем (непосредственного или опосредованного) уменьшения количества Syk, присутствующего в клетке или организме. В некоторых вариантах реализации ингибирование активности Syk может быть сравнено для одного и того же субъекта до лечения или может быть проведено сравнение с другими субъектами, не получающими лечения.

Ингибирование активности Syk также относится к наблюдаемому ингибированию активности Syk в стандартном биохимическом исследовании активности Syk, таком как исследование с гидролизом АТФ, описанное ниже в примере 12.

В некоторых вариантах реализации соединение, описанное в настоящем документе, например форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2, ингибирует активность киназы Syk со значением IC_{50} , меньшим или равным 1 мкМ, таким как от 0,1 нМ до 1 мкМ или от 1 нМ до 1 мкМ. В некоторых вариантах реализации соединение или его фармацевтически приемлемая соль или сокристалл имеют значение IC_{50} , меньшее или равное менее 500 нМ, такое как от 0,1 до 500 нМ или от 1 до 500 нМ. В некоторых вариантах реализации соединение, или его фармацевтически приемлемая соль, или сокристалл имеют значение IC_{50} , меньшее или равное менее 200 нМ, такое как от 0,1 до 200 нМ или от 1 до 200 нМ. В некоторых вариантах реализации соединение, или его фармацевтически приемлемая соль, или сокристалл имеют значение IC_{50} , меньшее или равное менее 100 нМ, такое как от 0,1 до 100 нМ или от 1 до 100 нМ. В некоторых вариантах реализации соединение, или его фармацевтически приемлемая соль, или сокристалл имеют значение IC_{50} , меньшее или равное 50 нМ, такое как от 0,1 до 50 нМ или от 1 до 50 нМ. В некоторых вариантах реализации соединение или его фармацевтически приемлемая соль или сокристалл имеют значение IC_{50} , меньшее или равное 20 нМ, такое как от 0,1 до 20 нМ или от 1 до 20 нМ. В некоторых вариантах реализации соединение или его фармацевтически приемлемая соль или сокристалл имеют значение IC_{50} , меньшее или равное 10 нМ, такое как от 0,1 до 10 нМ или от 1 до 10 нМ. В некоторых вариантах реализации значение IC_{50} определяют как описано в исследовании согласно примеру 12.

"Ингибирование активности В-клеток" относится к уменьшению активности В-клеток в качестве непосредственного или опосредованного ответа на присутствие Формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 относительно активности В-клеток в отсутствии такого соединения, или его фармацевтически приемлемой соли, или сокристалла. Уменьшение активности может происходить благодаря непосредственному взаимодействию соединения с Syk, или один или более факторов, в свою очередь, воздействуют на активность В-клеток.

Ингибирование активности В-клеток также относится к наблюдаемому ингибированию экспрессии CD86 в стандартном исследовании. В некоторых вариантах реализации соединение, описанное в настоящем документе, имеет значение IC_{50} , меньшее или равное 10 мкМ, такое как от 1 нМ до 10 мкМ или от 10 нМ до 10 мкМ. В некоторых вариантах реализации соединение имеет значение IC_{50} , меньшее или равное менее 1 мкМ, такое как от 1 нМ до 1 мкМ или от 10 нМ до 1 мкМ. В некоторых вариантах реализации соединение имеет значение IC_{50} , меньшее или равное 500 нМ, такое как от 1 до 500 нМ или от 10 до 500 нМ.

Термин "активность В-клеток" также включает активацию, перераспределение, переорганизацию или кэпирование одного или более различных рецепторов мембраны В-клеток или связанных с мембраной иммуноглобулинов, например IgM, IgG и IgD. Большинство В-клеток также имеют мембранные рецепторы для части Fc IgG в форме либо комплексов антиген-антитело, либо агрегированного IgG. В-клетки также содержат мембранные рецепторы для активированных компонентов комплемента, например, C3b, C3d, C4 и C1q. Данные различные мембранные рецепторы и связанные с мембраной иммуноглобулины характеризуются мобильностью мембраны и могут подвергаться перераспределению и кэпированию, которое может инициировать передачу сигнала.

Активность В-клеток также включает синтез и выработку антител или иммуноглобулинов. Имму-

ноглобулины синтезируются серией В-клеток и имеют общие структурные особенности и структурные единицы. Различают пять классов иммуноглобулинов, т.е. IgG, IgA, IgM, IgD и IgE, на основании структурных различий их тяжелых цепей, включая аминокислотную последовательность и длину полипептидной цепи. Антитела к конкретному антигену могут быть определены для всех или нескольких классов иммуноглобулинов и могут быть ограничены одним классом или подклассом иммуноглобулинов. Аутоантитела, или аутоиммунные антитела, могут аналогичным образом принадлежать к одному или нескольким классам иммуноглобулинов. Например, ревматоидные факторы (антитела к IgG) наиболее часто идентифицируют как иммуноглобулин IgM, но они также могут состоять из IgG или IgA.

Кроме того, также предполагается, что активность В-клеток включает серию событий, ведущих к клональной экспансии (пролиферации) В-клеток из предшественников - В-лимфоцитов - и дифференциации в клетках плазмы, синтезирующих антитела, которая происходит в сочетании со связыванием антигена и сигналами цитокинов от других клеток.

Термин "ингибирование пролиферации В-клеток" относится к ингибированию пролиферации аномальных В-клеток, таких как раковые В-клетки, например В-клетки лимфомы, или ингибированию нормальных, не больных В-клеток. Термин "ингибирование пролиферации В-клеток" означает любое значительное уменьшение количества В-клеток либо *in vitro*, либо *in vivo*. Таким образом, ингибирование пролиферации В-клеток *in vitro* представляет собой любое значительное уменьшение количества В-клеток в образце *in vitro* при приведении его в контакт с формой I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формой I или II сукцината соединения согласно примеру 2 по сравнению с равноценным образцом, который не приводили в контакт с соединением(ями).

Ингибирование пролиферации В-клеток также относится к наблюдаемому ингибированию пролиферации В-клеток в стандартном исследовании с введением тимидина для пролиферации В-клеток, например исследовании, известном в данной области техники. В некоторых вариантах реализации соединения, описанные в настоящем документе, например форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2, имеют значение IC_{50} , меньшее или равное 10 мкМ, такое как от 1 нМ до 10 мкМ или от 10 нМ до 10 мкМ. В некоторых вариантах реализации соединения или его фармацевтически приемлемая соль или сокристалл имеют значение IC_{50} , меньшее или равное менее 1 мкМ, такое как от 1 нМ до 1 мкМ или от 10 нМ до 1 мкМ. В некоторых вариантах реализации соединения или его фармацевтически приемлемая соль или сокристалл имеют значение IC_{50} , меньшее или равное 500 нМ, такое как от 1 до 500 нМ или от 10 до 500 нМ. В некоторых вариантах реализации соединения или его фармацевтически приемлемая соль или сокристалл имеют значение IC_{50} , меньшее или равное 200 нМ, такое как от 1 до 200 нМ или от 10 до 200 нМ. В некоторых вариантах реализации соединения или его фармацевтически приемлемая соль или сокристалл имеют значение IC_{50} , меньшее или равное 100 нМ, такое как от 1 до 100 нМ или от 10 до 100 нМ.

Термин "уменьшение активации базофилов" относится к способности соединений, описанных в настоящем документе, уменьшать активацию базофилов. Активация базофилов вовлечена, например, в воспалительные и аутоиммунные заболевания, описанные в настоящем документе, и такое уменьшение активации базофилов требуется для соединений, описанных в настоящем документе, например формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2. Активация базофилов может быть оценена путем определения экспрессии CD63 базофилами, например, посредством исследования CD63 в клетках цельной крови человека (25% крови), например такого, как исследование, описанное в примере 9 ниже.

В некоторых вариантах реализации соединения, описанное в настоящем документе, например форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2, имеет значение EC_{50} в подходящем исследовании CD63, меньшее или равное 10 мкМ, такое как от 1 нМ до 10 мкМ или от 10 нМ до 10 мкМ. В некоторых вариантах реализации соединения, или его фармацевтически приемлемая соль, или сокристалл имеют значение EC_{50} , меньшее или равное менее 1 мкМ, такое как от 1 нМ до 1 мкМ или от 10 нМ до 1 мкМ. В некоторых вариантах реализации соединения, или его фармацевтически приемлемая соль, или сокристалл имеют значение EC_{50} , меньшее или равное 500 нМ, такое как от 1 до 500 нМ или от 10 до 500 нМ. В некоторых вариантах реализации соединения, или его фармацевтически приемлемая соль, или сокристалл имеют значение EC_{50} , меньшее или равное 200 нМ, такое как от 1 до 200 нМ или от 10 до 200 нМ. В некоторых вариантах реализации соединения, или его фармацевтически приемлемая соль, или сокристалл имеют значение EC_{50} , меньшее или равное 150 нМ, такое как от 1 до 150 нМ или от 10 до 150 нМ. В некоторых вариантах реализации соединения, или его фармацевтически приемлемая соль, или сокристалл имеют значение IC_{50} , меньшее или равное 100 нМ, такое как от 1 до 100 нМ или от 10 до 100 нМ. В некоторых вариантах реализации соединения, или его фармацевтически приемлемая соль, или сокристалл имеют значение EC_{50} , меньшее или равное 75 нМ, такое как от 1 до 75 нМ или от 10 до 75 нМ. В некоторых вариантах реализации соединения, или его фармацевтически приемлемая соль, или сокристалл имеют значение EC_{50} , определяются, как описано в исследовании согласно примеру 9.

Термин "кинетическая растворимость" относится к исследованию растворимости соединения в подходящем буфере, таком как фосфатный буфер, с pH 7,4 при заданной температуре, например при 37°C. В одном случае кинетическую растворимость измеряют при 37°C в фосфатном буфере при pH 7,4,

например, посредством исследования, описанного в примере 10.

В некоторых вариантах реализации соединения, описанные в настоящем документе, например форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2, имеют кинетическую растворимость при 37°C в фосфатном буфере с pH 7,4, большую или равную 10 мкМ, такую как от 10 до 500 мкМ или от 10 до 250 мкМ. В некоторых вариантах реализации соединения или его фармацевтически приемлемая соль или сокристалл имеют кинетическую растворимость при 37°C в фосфатном буфере с pH 7,4, большую или равную 20 мкМ, такую как от 20 до 500 мкМ или от 20 до 250 мкМ. В некоторых вариантах реализации соединения или его фармацевтически приемлемая соль или сокристалл имеют кинетическую растворимость при 37°C в фосфатном буфере с pH 7,4, большую или равную 30 мкМ, такую как от 30 до 500 мкМ или от 30 до 250 мкМ. В некоторых вариантах реализации соединения или его фармацевтически приемлемая соль или сокристалл имеют кинетическую растворимость при 37°C в фосфатном буфере с pH 7,4, большую или равную 40 мкМ, такую как от 40 до 500 мкМ или от 40 до 250 мкМ. В некоторых вариантах реализации соединения или его фармацевтически приемлемая соль или сокристалл имеют кинетическую растворимость при 37°C в фосфатном буфере с pH 7,4, большую или равную 50 мкМ, такую как от 50 до 500 мкМ или от 50 до 250 мкМ. В некоторых вариантах реализации соединения или его фармацевтически приемлемая соль или сокристалл имеют кинетическую растворимость при 37°C в фосфатном буфере с pH 7,4, большую или равную 60 мкМ, такую как от 60 до 500 мкМ или от 60 до 250 мкМ. В некоторых вариантах реализации соединения или его фармацевтически приемлемая соль или сокристалл имеют кинетическую растворимость при 37°C в фосфатном буфере с pH 7,4, большую или равную 70 мкМ, такую как от 70 до 500 мкМ или от 70 до 250 мкМ. В некоторых вариантах реализации соединения или его фармацевтически приемлемая соль или сокристалл имеют кинетическую растворимость при 37°C в фосфатном буфере с pH 7,4, большую или равную 80 мкМ, такую как от 80 до 500 мкМ или от 80 до 250 мкМ. В некоторых вариантах реализации соединения или его фармацевтически приемлемая соль или сокристалл имеют кинетическую растворимость при 37°C в фосфатном буфере с pH 7,4, большую или равную 90 мкМ, такую как от 90 до 500 мкМ или от 90 до 250 мкМ. В некоторых вариантах реализации кинетическую растворимость определяют посредством исследования, описанного в примере 10.

"Стабильность в гепатоцитах человека" является мерой стабильности соединений по отношению к метаболизму, осуществляемому гепатоцитами человека, и ее оценивают в виде предполагаемого клиренса соединений в плазме печени в л/ч/кг. Предполагаемый клиренс в гепатоцитах может быть определен, например, посредством исследования, описанного в примере 11.

В некоторых вариантах реализации соединения, описанные в настоящем документе, например форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2, имеют предполагаемый клиренс в плазме печени, меньший или равный 0,50 л/ч/кг, такой как от 0,005 до 0,50 л/ч/кг или от 0,01 до 0,50 л/ч/кг. В некоторых вариантах реализации соединения имеет предполагаемый клиренс в плазме печени, меньший или равный 0,40 л/ч/кг, такой как от 0,005 до 0,40 л/ч/кг или от 0,01 до 0,40 л/ч/кг. В некоторых вариантах реализации соединения имеет предполагаемый клиренс в плазме печени, меньший или равный 0,30 л/ч/кг, такой как от 0,005 до 0,30 л/ч/кг или от 0,01 до 0,30 л/ч/кг. В некоторых вариантах реализации соединения имеет предполагаемый клиренс в плазме печени, меньший или равный 0,20 л/ч/кг, такой как от 0,005 до 0,20 л/ч/кг или от 0,01 до 0,20 л/ч/кг. В некоторых вариантах реализации соединения имеет предполагаемый клиренс в плазме печени, меньший или равный 0,10 л/ч/кг, такой как от 0,005 до 0,10 л/ч/кг или от 0,01 до 0,10 л/ч/кг. В некоторых вариантах реализации соединения имеет предполагаемый клиренс в плазме печени, меньший или равный 0,09 л/ч/кг, такой как от 0,005 до 0,09 л/ч/кг или от 0,01 до 0,09 л/ч/кг. В некоторых вариантах реализации соединения имеет предполагаемый клиренс в плазме печени, меньший или равный 0,08 л/ч/кг, такой как от 0,005 до 0,08 л/ч/кг или от 0,01 до 0,08 л/ч/кг. В некоторых вариантах реализации соединения имеет предполагаемый клиренс в плазме печени, меньший или равный 0,07 л/ч/кг, такой как от 0,005 до 0,07 л/ч/кг или от 0,01 до 0,07 л/ч/кг. В некоторых вариантах реализации соединения имеет предполагаемый клиренс в плазме печени, меньший или равный 0,06 л/ч/кг, такой как от 0,005 до 0,06 л/ч/кг или от 0,01 до 0,06 л/ч/кг. В некоторых вариантах реализации предполагаемый клиренс в гепатоцитах определяют посредством исследования, описанного в примере 11.

"Аллергия", или "аллергическое расстройство", относится к приобретенной гиперчувствительности к веществу (аллергену). Аллергические состояния включают экзему, аллергический ринит или насморк (coryza), сенную лихорадку, бронхиальную астму, крапивницу (сыпь) и пищевую аллергию, а также другие atopические состояния.

"Астма" относится к расстройству дыхательной системы, характеризующемуся воспалением, сужением дыхательных путей и усиленной реакцией дыхательных путей на вдыхаемые агенты. Астма часто, но не исключительно ассоциируется с atopическими или аллергическими симптомами.

Под "значительным" понимают любое детектируемое изменение, являющееся статистически значимым в стандартном параметрическом тесте статистической значимости, таком как Т-тест Стьюдента, в котором $p < 0,05$.

"Заболевание, восприимчивое к ингибированию активности Syk" представляет собой заболевание,

при котором ингибирование киназы Syk обеспечивает терапевтический эффект, такой как ослабление симптомов, уменьшение прогрессирования заболевания, задержка наступления заболевания или ингибирование аберрантной активности некоторых типов клеток (моноцитов, В-клеток и тучных клеток).

Термин "субъект" относится к животному, такому как у млекопитающие, который является или будет объектом лечения, наблюдения или эксперимента. Способы, описанные в настоящем документе, могут быть применены как для терапии человека, так и для применения в ветеринарии. В некоторых вариантах реализации субъект представляет собой млекопитающее, в некоторых вариантах реализации субъект представляет собой человека, а в некоторых вариантах реализации субъект выбран из кошек и собак. Термин "нуждающийся в этом субъект", или "нуждающийся в этом человек", относится к субъекту, такому как человек, который может иметь или у которого предполагается наличие заболеваний или состояний, на которые оказывает благоприятное действие некоторое лечение, например лечение формой I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формой I или II сукцината соединения согласно примеру 2, описанными в настоящем документе. Данные термины включают субъекта, который может быть определен как имеющий риск или у которого предполагается наличие таких заболеваний или состояний, при которых лечение предотвращало бы развитие заболевания или состояния.

"Лечение", или "проведение лечения", представляет собой подход для получения предпочтительных или желаемых результатов, включая клинические результаты. Предпочтительные или желаемые клинические результаты могут включать один или более из следующих:

(i) подавление заболевания или состояния (например, уменьшение выраженности одного или более симптомов, имеющих место вследствие заболевания или состояния, и/или уменьшение степени заболевания или состояния);

(ii) замедление или торможение развития одного или более клинических симптомов, ассоциированных с заболеванием или состоянием (например, стабилизация заболевания или состояния, предотвращение или задержка ухудшения или прогрессирования заболевания или состояния и/или предотвращение или задержка распространения (например, метастазов) заболевания или состояния); и/или

(iii) облегчение заболевания, т.е. оказание действия, вызывающего регрессию клинических симптомов (например, облегчение болезненного состояния, обеспечение частичной или полной ремиссии заболевания или состояния, усиление эффекта другого лекарственного средства, задержку прогрессирования заболевания, увеличение качества жизни и/или продление времени выживания).

"Задержка" развития заболевания или состояния означает отсрочку, препятствование, замедление, торможение, стабилизацию и/или откладывание развитие заболевания или состояния. Эта задержка может иметь различную продолжительность в зависимости от истории заболевания или состояния и/или субъекта, подлежащего лечению. Способ, согласно которому происходит "задержка" развития заболевания или состояния, представляет собой способ, при котором уменьшается вероятность развития заболевания или состояния в определенный период времени и/или уменьшается степень заболевания или состояния в определенный период времени по сравнению с тем, когда указанный способ не используется. Такие сравнения, как правило, основаны на клинических исследованиях с использованием статистически значимого числа субъектов. Развитие заболевания или состояния может быть обнаружено с использованием стандартных способов, таких как обычный медицинский осмотр, маммография, визуализация или биопсия. Развитие может также относиться к прогрессированию заболевания или состояния, которое может изначально не определяться, и включает возникновение, повторное возникновение (рецидив) и наступление.

Во многих случаях соединения согласно настоящему описанию способны образовывать кислые и/или основные соли ввиду наличия amino и/или карбоксильных групп или групп, сходных с ними.

"Фармацевтически приемлемые соли" включают, например, соли с неорганическими кислотами и соли с органической кислотой. Примеры солей могут включать в себя гидрохлорид, фосфат, дифосфат, гидробромид, сульфат, сульфид, нитрат, малат, малеат, фумарат, тартрат, сукцинат, цитрат, ацетат, лактат, метансульфонат (мезилат), бензолсульфонат (безилат), п-толуолсульфонат (тозилат), 2-гидроксиэтилсульфонат, бензоат, салицилат, стеарат и алканеат (такой как ацетат, $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$, где n равен 0-4). Кроме того, если соединения, описанные в настоящем документе, получены в виде кислотно-аддитивной соли, свободное основание может быть получено путем подщелачивания раствора кислой соли. И наоборот, если продукт является свободным основанием, аддитивная соль, в частности фармацевтически приемлемая аддитивная соль, может быть получена путем растворения свободного основания в подходящем органическом растворителе и обработки раствора кислотой в соответствии с традиционными методиками получения кислотноаддитивных солей из основных соединений. Специалисты в данной области техники смогут узнать различные методики синтеза, которые могут быть использованы для получения нетоксичных фармацевтически приемлемых аддитивных солей.

Форма I и II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 и форма I и II сукцината соединения согласно примеру 2 также может представлять собой фармацевтически приемлемый сокристалл или соль сокристалла. Термины "сокристалл" или "соль сокристалла", используемые в настоящем описании, означают кристаллический материал, состоящий из двух или более уникальных твердых веществ при комнатной температуре, каждый из которых имеет свои отличительные физические характеристики,

такие как структура, температура плавления, а также теплоты плавления, гигроскопичность, растворимость и стабильность. Сокристалл или соль сокристалла могут быть получены в соответствии с известным способом сокристаллизации. Термины "сокристалл" (или кокристалл) или соль сокристалла также относятся к многокомпонентной системе, в которой существует молекула или молекулы АФИ-хозяева (активного фармацевтического ингредиента), такие как форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2, и молекула или молекулы-гости (или сообразователи). В частных вариантах реализации указанный фармацевтически приемлемый сокристалл формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 с молекулой-сообразователем находится в кристаллической форме, выбранной из сокристалла с малоновой кислотой, сокристалла с янтарной кислотой, сокристалла с декановой кислотой, сокристалла с салициловой кислотой, сокристалла с ванилиновой кислотой, сокристалла с мальтолом или сокристалла с гликолевой кислотой. Сокристаллы могут иметь улучшенные свойства по сравнению с исходной формой (т.е. свободной молекулой, цвиттер-ионом и т.д.) или солью исходного соединения. Улучшенные свойства могут включать повышенную растворимость, усиленное растворение, повышенную биодоступность, повышенный ответ на дозу, пониженную гигроскопичность, кристаллическую форму обычно аморфного соединения, кристаллическую форму соединения, трудно образующую соль или соединение, не образующее соль, сниженное разнообразие форм разнообразия, более желательную морфологию и т.п.

Термин "кристаллические формы" и соответствующие используемые в настоящем документе термины относятся к различным кристаллическим модификациям данного вещества, включая, но не ограничиваясь ими, полиморфы, сольваты, гидраты, сокристаллы и другие молекулярные комплексы, а также их соли, сольваты солей, гидраты солей, другие молекулярные комплексы солей и их полиморфы. Кристаллические формы вещества могут быть получены с помощью ряда способов, известных в данной области техники. Такие способы включают, но не ограничиваются ими, перекристаллизацию из расплава, охлаждение расплава, перекристаллизацию из растворителя, перекристаллизацию в замкнутых пространствах, таких как, например, нанопоры или капилляры, перекристаллизацию на поверхностях или матрицах, таких как, например, полимеры, перекристаллизацию в присутствии добавок, таких как, например, вспомогательные молекулы для получения сокристаллов, десольватацию, обезвоживание, быстрое испарение, быстрое охлаждение, медленное охлаждение, диффузию пара, сублимацию, измельчение и измельчение с каплями растворителя.

В контексте настоящего описания "фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество" представляет собой фармацевтически приемлемый наполнитель, который включает без ограничения все и любые носители, растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые агенты, изотонические агенты и агенты, задерживающие всасывание, и т.п. Применение таких сред и агентов для фармацевтически активных веществ хорошо известно в данной области техники. За исключением случаев, когда любая обычная среда или агент несовместимы с активным ингредиентом, предполагается их применение в терапевтических композициях. В композиции также могут быть включены дополнительные активные ингредиенты.

Термин "носитель" относится к вспомогательному веществу или носителю, которые включают без ограничения разбавители, разрыхлители, ингибиторы осаждения, поверхностно-активные вещества, агенты, способствующие скольжению, связующие, смазывающие агенты и т.п., с которыми вводят соединение. Носители в общем описаны в настоящем документе, а также в источнике "Remington's Pharmaceutical Sciences", автор E.W. Martin. Примеры носителей включают, но не ограничиваются ими, моностеарат алюминия, стеарат алюминия, карбоксиметилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу натрия, кросповидон, глицерилстеарат, глицерилмоностеарат, гидроксиэтилцеллюлозу, гидроксиэтилцеллюлозу, гидроксиметилцеллюлозу, гидроксиктакозанилгидроксистерат, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, лактозу, моногидрат лактозы, стеарат магния, маннит, микрокристаллическую целлюлозу, поллоксамер 124, поллоксамер 181, поллоксамер 182, поллоксамер 188, поллоксамер 237, поллоксамер 407, повидон, диоксид кремния, коллоидный диоксид кремния, силикон, силиконовый адгезив 4102 и силиконовую эмульсию. Тем не менее следует понимать, что носители, выбранные для фармацевтических композиций, и количества таких носителей в композиции могут варьироваться в зависимости от способа получения состава (примерами являются сухой гранулированный состав, состав в виде твердой дисперсии).

Термин "разбавитель", как правило, относится к веществу, которое используется для разбавления интересующего соединения перед доставкой. Разбавители могут также служить для стабилизации соединений. Примеры разбавителей могут включать крахмал, сахараиды, дисахарида, сахарозу, лактозу, полисахарида, целлюлозу, простые эфиры целлюлозы, гидроксипропилцеллюлозу, сахарные спирты, ксилит, сорбит, мальтит, микрокристаллическую целлюлозу, карбонат кальция или натрия, лактозу, моногидрат лактозы, двузамещенный кальция фосфат, целлюлозу, прессуемые сахара, двузамещенного кальция фосфата дегидрат, маннит, микрокристаллическую целлюлозу и трикальцийфосфат.

Термин "разрыхлитель", как правило, относится к веществу, которое при добавлении к твердому препарату облегчает его распад или разложение после введения и обеспечивает высвобождение активно-

го ингредиента как можно более эффективно, чтобы обеспечить его быстрое растворение. Примеры разрыхлителей могут включать кукурузный крахмал, натрия крахмалгликолят, кроскармеллозу натрия, кросповидон, микрокристаллическую целлюлозу, модифицированный кукурузный крахмал, натрия карбоксиметилкрахмал, повидон, прежелатинированный крахмал и альгиновую кислоту.

Термин "ингибиторы осаждения", как правило, относится к веществу, которое предотвращает или ингибирует осаждение активного агента из пересыщенного раствора. Один из примеров ингибитора осаждения включает гидроксипропилметилцеллюлозу (ГПМЦ).

Термин "поверхностно-активные вещества", как правило, относится к веществу, которое снижает поверхностное натяжение между жидкостью и твердой фазой, что может улучшить смачивание активного агента или улучшить растворимость активного агента. Примеры поверхностно-активных веществ включают полоксамер и лаурилсульфат натрия.

Термин "агент, способствующий скольжению", как правило, относится к веществам, используемым в составах таблеток и капсул, для улучшения свойств текучести в процессе прессования таблеток и для обеспечения эффекта, предотвращающего слипание. Примеры агентов, способствующих скольжению, могут включать коллоидный диоксид кремния, тальк, высокодисперсный (fumed) диоксид кремния, крахмал, производные крахмала и бентонит.

Термин "связующее", как правило, относится к любой фармацевтически приемлемой пленке, которая может быть использована для связывания активного и инертные компонентов носителя для поддержания связанных и отдельных частей. Примеры связующих веществ могут включать гидроксипропилцеллюлозу, гидроксипропилметилцеллюлозу, повидон, коповидон и этилцеллюлозу.

Термин "смазывающее вещество", как правило, относится к веществу, которое добавляют к порошковой смеси для предотвращения прилипания уплотненной порошкообразной массы к оборудованию в процессе получения таблеток или инкапсулирования. Смазывающее вещество может способствовать выталкиванию таблетки из формы и может улучшить текучесть порошка. Примеры смазывающих веществ могут включать стеарат магния, стеариновую кислоту, диоксид кремния, жиры, стеарат кальция, полиэтиленгликоль, стеарилфумарат натрия или тальк, а также солилизаторы, такие как жирные кислоты, в том числе лауриновая кислота, олеиновая кислота и жирная кислота C₈/C₁₀.

Соединения.

В данном документе и где-либо в настоящем описании предложены соединения, такие как приведено в разделах "Краткое описание" и "Примеры".

Названия предложенных в настоящем документе соединений даны с использованием ChemBioDraw Ultra 12.0, и специалист в данной области техники понимает, что структура соединения может быть названа и идентифицирована с использованием других общепринятых систем номенклатуры и символов, включая CAS и IUPAC.

Иллюстративные соединения согласно настоящему изобретению перечислены ниже в таблице А. Названия представленных в таблице А соединений даны с использованием ChemBioDraw Ultra 12.0, и следует понимать, что для идентификации соединений с той же структурой могут быть использованы и другие названия. Другие соединения или радикалы могут быть названы с использованием обычных названий, или систематических, или несистематических названий. Названия соединений могут быть также даны с использованием других систем номенклатуры и символов, которые обычно признаются в области химии, включая, например, системы номенклатуры и символов Химической реферативной службы (англ.: Chemical Abstract Service, CAS) и Международного союза чистой и прикладной химии (IUPAC). Любая неопределенность в обозначении соединений могут быть преодолены путем обращения к структуре в тех случаях, когда она представлена.

Таблица А

Иллюстративные соединения

Структура	Название
	6-(6-амино-5-метилпиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин
	6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин
	(R)-4-(4-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)фенил)морфолин-2-ил)метанол
	6-(6-аминопиразин-2-ил)-5-метил-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин
	2-(5-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанол
	2-((4-(4-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)фенил)пиперазин-1-ил)метил)пропан-1,3-диол
	2-(5-((6-(6-амино-5-метилпиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанол

В одном из вариантов реализации настоящего изобретения предложен 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амина мезилат, например 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амина моно-мезилат. Например, в настоящем изобретении предложена форма I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амина моно-мезилата, которая может характеризоваться пиками XRPD при примерно 19,7, примерно 17,3, примерно 17,9, примерно 21,6 и при-

мерно 25,8 (градусов 2-тета). Также предложена форма II 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин мономезилата, которая может характеризоваться пиками XRPD при примерно 17,3, примерно 25,1, примерно 20,4, примерно 19,6 и примерно 18,5 (градусов 2-тета).

В одном из вариантов реализации настоящего изобретения предложен 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сукцинат. Например, в настоящем изобретении предложена форма I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сукцината, которая может характеризоваться пиками XRPD при примерно 16,5, примерно 24,5, примерно 17,7, примерно 28,4 и примерно 21,8 (градусов 2-тета). В настоящем изобретении также предложена форма II 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сукцината, которая может характеризоваться пиками XRPD при примерно 25,0, примерно 16,3, примерно 22,0, примерно 7,9 и примерно 7,6 (градусов 2-тета).

Термин "примерно", используемый в отношении пиков XRPD, означает, например, $\pm 0,2$, $\pm 0,1$, $\pm 0,05$ (градусов 2-тета) и т.п.

Соединения, описанные в настоящем документе, например форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2, обеспечивают явные преимущества в качестве ингибиторов Syk. Соединения, описанные в настоящем документе, представляют собой ингибиторы активности киназы Syk согласно определению, например, в виде ингибирования активности киназы Syk в биохимическом исследовании или в виде уменьшения активации базофилов, определенного по экспрессии CD63, как описано в разделе "Примеры". Соединения, описанные в настоящем документе, также обладают желательными свойствами для применения в качестве лекарственного средства, включая кинетическую растворимость при 37°C в фосфатном буфере с pH 7,4 и низкие уровни клиренса в гепатоцитах. Данные признаки обеспечивают ингибиторы Syk для лечения заболевания, обладающие фармакокинетическими характеристиками, которые обеспечивают терапевтическое окно, такое, что соединения могут быть эффективными в меньших дозах, чем соединения, известные в настоящее время. В связи с этим предложенные соединения обеспечивают эффективные дозы с минимальной нецелевой активностью, что может снизить нежелательные побочные эффекты, снизить шанс лекарственного взаимодействия и повысить шансы соблюдения субъектом заданного терапевтического режима.

В некоторых вариантах реализации соединения, описанные в настоящем документе, например форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2, являются эффективными для одного или более из ингибирования активности киназы Syk или снижения активации базофилов, определяемой по экспрессии CD63. Например, соединение ингибирует активность киназы Syk со значением IC_{50} , меньшим или равным 1 мкМ, меньшим или равным 500 нМ, меньшим или равным 200 нМ, меньшим или равным 100 нМ, меньшим или равным 50 нМ, меньшим или равным 20 нМ или меньшим или равным 10 нМ по данным подходящего исследования активности киназы Syk, такого как исследование, описанное в примере 12; и/или уменьшает активность экспрессии CD63 со значением EC_{50} , меньшим или равным 1 мкМ, меньшим или равным 500 нМ, меньшим или равным 200 нМ, меньшим или равным 150 нМ, меньшим или равным 100 нМ или меньшим или равным 75 нМ по данным подходящего исследования для определения экспрессии CD63 в базофилах, такого как исследование, описанное в примере 9.

В некоторых вариантах реализации форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2 эффективны как в ингибировании киназы Syk, так и уменьшении экспрессии CD63. Например, соединение ингибирует активность киназы Syk со значением IC_{50} , меньшим или равным 1 мкМ, меньшим или равным 500 нМ, меньшим или равным 200 нМ, меньшим или равным 100 нМ, меньшим или равным 50 нМ, меньшим или равным 20 нМ или меньшим или равным 10 нМ по данным подходящего исследования активности киназы Syk, такого как исследование, описанное в примере 12; и уменьшает экспрессию CD63 со значением EC_{50} , меньшим или равным 1 мкМ, меньшим или равным 500 нМ, меньшим или равным 200 нМ, меньшим или равным 150 нМ, меньшим или равным 100 нМ или меньшим или равным 75 нМ по данным подходящего исследования для определения экспрессии CD63 в базофилах, такого как исследование, описанное в примере 9.

В некоторых вариантах реализации в дополнение к одному или более из свойств ингибирования киназы Syk и уменьшения активации базофилов, определенного по экспрессии CD63, включая оба свойства: ингибирование киназы Syk и уменьшение активации базофилов, определенное по экспрессии CD63, форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2 обладают желаемыми свойствами для применения в виде лекарственного средства, включая одно или более из кинетической растворимости и низких уровней клиренса в гепатоцитах. В некоторых вариантах реализации форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2 обладают одним или более из желаемых свойств кинетической растворимости и низких уровней клиренса в гепатоцитах, включая кинетическую растворимость при 37°C в фосфатном буфере с pH 7,4, большую или равную 10 мкМ, большую

или равную 20 мкМ, большую или равную 30 мкМ, большую или равную 40 мкМ, большую или равную 50 мкМ, большую или равную 60 мкМ, большую или равную 70 мкМ, большую или равную 80 мкМ или большую или равную 90 мкМ по данным подходящего определения кинетической растворимости, такого как исследование, описанное в примере 10; и/или предполагаемый клиренс в гепатоцитах, меньший или равный 0,50 л/ч/кг, меньший или равный 0,40 л/ч/кг, меньший или равный 0,30 л/ч/кг, меньший или равный 0,20 л/ч/кг, меньший или равный 0,10 л/ч/кг, меньший или равный 0,09 л/ч/кг, меньший или равный 0,08 л/ч/кг, меньший или равный 0,07 л/ч/кг или меньший или равный 0,06 л/ч/кг по данным подходящего определения предполагаемого клиренса в гепатоцитах, такого как исследование, описанное в примере 11.

В некоторых вариантах реализации форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2 обладают желаемым свойством кинетической растворимости и низкими уровнями клиренса в гепатоцитах, включая кинетическую растворимость при 37°C в фосфатном буфере с pH 7,4, большую или равную 10 мкМ, большую или равную 20 мкМ, большую или равную 30 мкМ, большую или равную 40 мкМ, большую или равную 50 мкМ, большую или равную 60 мкМ, большую или равную 70 мкМ, большую или равную 80 мкМ или большую или равную 90 мкМ по данным подходящего определения кинетической растворимости, такого как исследование, описанное в примере 10; и предполагаемый клиренс в гепатоцитах, меньший или равный 0,50 л/ч/кг, меньший или равный 0,40 л/ч/кг, меньший или равный 0,30 л/ч/кг, меньший или равный 0,20 л/ч/кг, меньший или равный 0,10 л/ч/кг, меньший или равный 0,09 л/ч/кг, меньший или равный 0,08 л/ч/кг, меньший или равный 0,07 л/ч/кг или меньший или равный 0,06 л/ч/кг по данным подходящего определения предполагаемого клиренса в гепатоцитах, такого как исследование, описанное в примере 11.

В некоторых вариантах реализации форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2 эффективны как в ингибировании киназы Syk, так и в уменьшении экспрессии CD63, а также обладают желаемым свойством кинетической растворимости и низкими уровнями клиренса в гепатоцитах. Например, соединение ингибирует активность киназы Syk со значением IC₅₀, меньшим или равным 1 мкМ, меньшим или равным 500 нМ, меньшим или равным 200 нМ, меньшим или равным 100 нМ, меньшим или равным 50 нМ, меньшим или равным 20 нМ или меньшим или равным 10 нМ по данным подходящего исследования активности киназы Syk, такого как исследование, описанное в примере 12; и вызывает уменьшение экспрессии CD63 со значением EC₅₀, меньшим или равным 1 мкМ, меньшим или равным 500 нМ, меньшим или равным 200 нМ, меньшим или равным 150 нМ, меньшим или равным 100 нМ или меньшим или равным 75 нМ по данным подходящего исследования для определения экспрессии CD63 в базофилах, такого как исследование, описанное в примере 10; и имеет кинетическую растворимость при 37°C в фосфатном буфере с pH 7,4, большую или равную 10 мкМ, большую или равную 20 мкМ, большую или равную 30 мкМ, большую или равную 40 мкМ, большую или равную 50 мкМ, большую или равную 60 мкМ, большую или равную 70 мкМ, большую или равную 80 мкМ или большую или равную 90 мкМ по данным подходящего определения кинетической растворимости, такого как исследование, описанное в примере 10; и имеет предполагаемый клиренс в гепатоцитах, меньший или равный 0,50 л/ч/кг, меньший или равный 0,40 л/ч/кг, меньший или равный 0,30 л/ч/кг, меньший или равный 0,20 л/ч/кг, меньший или равный 0,10 л/ч/кг, меньший или равный 0,09 л/ч/кг, меньший или равный 0,08 л/ч/кг, меньший или равный 0,07 л/ч/кг или меньший или равный 0,06 л/ч/кг по данным подходящего определения предполагаемого клиренса в гепатоцитах, такого как исследование, описанное в примере 11.

Способы применения.

В настоящем изобретении предложены форма I и II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 и форма I и II сукцината соединения согласно примеру 2 для применения в терапии. Предложен способ лечения субъекта, например млекопитающего, такого как человек, имеющего заболевание, отвечающее на ингибирование активности Syk, включающий введение субъекту, имеющему такое заболевание или у которого предполагается наличие такого заболевания, эффективного количества формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2. В одном аспекте субъекту, такому как человек, вводят фармацевтическую композицию, содержащую форму I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форму I или II сукцината соединения согласно примеру 2 и фармацевтически приемлемый носитель. В настоящем изобретении также предложены форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2 для применения в таких способах.

В некоторых вариантах реализации форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2 могут быть введены субъекту (например, человеку), имеющему риск заболевания или состояния или указанные заболевания или состояния в семейном анамнезе.

В некоторых вариантах реализации форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2 могут также ингибировать другие киназы, таким образом, лечатся заболевание, симптомы заболевания и состояния, связанные с этими киназами.

Способы лечения также включают ингибирование активности Syk и/или ингибирование активности

В-клеток путем ингибирования связывания АТФ или гидролиза посредством Syk или посредством некоторого другого механизма *in vivo* у субъекта, страдающего заболеванием, отвечающим на ингибирование активности Syk, путем введения эффективной концентрации формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2. Примером эффективной концентрации является концентрация, эффективная для ингибирования активности *in vitro*. Эффективная концентрация может быть определена экспериментально, например, путем анализа концентрации соединения в крови после введения человеку или теоретически путем расчета биодоступности.

В некоторых вариантах реализации состояние, отвечающее на ингибирование активности Syk и/или активности В-клеток, представляет собой рак, аллергическое расстройство, и/или аутоиммунное и/или воспалительное заболевание, и/или острую воспалительную реакцию.

Также предложен способ ингибирования активности В-клеток у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение эффективного количества формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2.

Также предложен способ ингибирования пролиферации В-клеток у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение эффективного количества формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2.

Также предложен способ лечения субъекта, имеющего лейкоз, путем введения эффективного количества формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2. В некоторых вариантах реализации состояние и заболевание, которые можно лечить с применением формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2, представляют собой острый миелоидный лейкоз (AML).

Syk является известным ингибитором апоптоза в В-клетках лимфомы. Ошибочный апоптоз вносит вклад в патогенез и резистентность к лекарственным средствам при лейкозах и лимфомах. Таким образом, также предложен способ обеспечения или индуцирования апоптоза в клетках, экспрессирующих Syk, включающий приведение указанной клетки в контакт с формой I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формой I или II сукцината соединения согласно примеру 2. Также в настоящем документе предложено соединение, описанное в настоящем документе, например форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2, для применения для получения лекарственного средства для лечения заболевания или состояния, описанного в настоящем документе, например лейкоза.

Субъекты.

Любые из предложенных способов лечения могут быть использованы для лечения субъекта, у которого диагностировано или предполагается наличие аллергического расстройства, и/или аутоиммунного и/или воспалительного заболевания, и/или острой воспалительной реакции, или рака.

В некоторых вариантах реализации любых предложенных в настоящем описании способов субъект представляет собой человека, имеющего риск развития рака (например, человека, генетически или иным образом предрасположенного к раку) и у которого диагностирован или не диагностирован рак. В контексте настоящего описания субъект, "имеющий риск", представляет собой субъекта, имеющего риск развития рака (например, гематологического злокачественного новообразования). У субъекта может быть или не быть обнаруживаемое заболевание и у него может проявляться или не проявляться обнаруживаемое заболевание до лечения способами, описанными в настоящем документе. Субъект, имеющий риск, может иметь один или более так называемых факторов риска, которые являются измеряемыми параметрами, коррелирующими с развитием рака, такими, как описано в настоящем документе. У субъекта, имеющего один или более данных факторов риска, существует большая вероятность развития рака, чем у индивидуума, не имеющего этих факторов риска. Эти факторы риска могут включать в себя, например, возраст, пол, расу, диету, историю предыдущей болезни, наличие предшествующего заболевания, генетические (например, наследственные) факторы и воздействие окружающей среды. В некоторых вариантах реализации субъект, имеющий риск рака, включает, например, субъекта, чьи родственники имели эту болезнь, и тех, чей риск определяется с помощью анализа по генетическим или биохимическим маркерам. Предыдущая история наличия рака может быть фактором риска для случаев рецидива рака.

В настоящем описании также предложены способы лечения субъекта (например, человека), имеющего один или более симптомов, связанных с раком (например, гематологическим злокачественным новообразованием). В некоторых вариантах реализации субъект находится на ранней стадии рака. В других вариантах реализации субъект находится на поздней стадии рака.

В настоящем описании также предложены способы лечения субъекта (например, человека), который проходит один или более стандартных видов терапии для лечения рака (например, гематологического злокачественного новообразования), таких как химиотерапия, лучевая терапия, иммунотерапия и/или хирургическое вмешательство. Таким образом, в некоторых вышеприведенных вариантах реализации форму I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форму I или II сукцината соединения согласно примеру 2 вводят до, во время или после введения химиотерапии, лучевой терапии,

иммунотерапии и/или хирургического вмешательства. В другом аспекте настоящего описания предложены способы лечения субъекта (например, человека), который является "устойчивым" к лечению рака или который имеет "рецидив" после лечения рака (например, гематологического злокачественного новообразования). Субъект, "устойчивый" к терапии против рака, представляет собой субъекта, который не отвечает на конкретное лечение, и также называется резистентным. Рак может быть резистентным к лечению с начала лечения или может стать резистентным в течение курса лечения, например после лечения может проявляться некоторое действие на рак, но оно не достаточно для того, чтобы считаться ремиссией или частичной ремиссией. Субъект, имеющий "рецидив", означает, что рак вернулся или вернулись его признаки и симптомы после периода улучшения, например, после того как лечение показало эффективное снижение рака, такое как, после того как субъект находился в стадии ремиссии или частичной ремиссии. В некоторых вариантах реализации субъект может представлять собой человека, который (i) рефрактерен к по меньшей мере одной терапии против рака, или (ii) имеет рецидив после лечения посредством по меньшей мере одной терапии против рака, или характеризуется и (i), и (ii). В некоторых вариантах реализации субъект является устойчивым к по меньшей мере двум, по меньшей мере трем или по меньшей мере четырем видам терапии против рака (включая, например, стандартные или экспериментальные виды химиотерапии).

В некоторых вариантах реализации субъект рефрактерен к по меньшей мере одному, по меньшей мере двум, по меньшей мере трем или по меньшей мере четырем видам терапии против рака (включая, например, стандартную или экспериментальную химиотерапию), выбранным из флударабина, ритуксимаба, обинутузумаба, алкилирующих агентов, алемтузумаба и других видов химиотерапевтического лечения, таких как CHOP (циклофосфамид, доксорубин, винкристин, преднизолон); R-CHOP (ритуксимаб-CHOP); hyperCVAD (гиперфракционированный циклофосфамид, винкристин, доксорубин, дексаметазон, метотрексат, цитарабин); R-hyperCVAD (ритуксимаб-hyperCVAD); FCM (флударабин, циклофосфан, митоксантрон); R-FCM (ритуксимаб, флударабин, циклофосфамид, митоксантрон); бортезомибом и ритуксимаб; темсилолимус и ритуксимаб; темсилолимус и Велкейд (Velcade®); Йод-131-тозитумаб (Bexxar®) и CHOP; CVP (циклофосфамид, винкристин, преднизон); R-CVP (ритуксимаб-CVP); ICE (ифосфамид, карбоплатин, этопозид); R-ICE (ритуксимаб-ICE); FCR (флударабин, циклофосфан, ритуксимаб); FR (флударабин, ритуксимаб); D.T. PACE (дексаметазон, талидомид, цисплатин, Адриамицин (Adriamycin®), циклофосфамид, этопозид); и иделалисиб.

Другие примеры химиотерапевтического лечения (включая стандартные и экспериментальные виды химиотерапии) описаны ниже. Кроме того, лечение некоторых лимфом рассмотрено в источниках Cheson, B.D., Leonard, J.P.: "Monoclonal Antibody Therapy for B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma", The New England Journal of Medicine, 2008, 359(6), p. 613-626; и Wierda, W.G.: "Current и Investigational Therapies for Patients with CLL", Hematology, 2006, p. 285-294. Графики возникновения лимфомы в Соединенных Штатах приведены в источнике Morton, L.M. et al.: "Lymphoma Incidence Patterns by WHO Subtype in the United States, 1992-2001", Blood, 2006, 107(1), p. 265-276.

Например, лечение неходжкинских лимфом (NHL), особенно имеющих происхождение из В-клеток, включает применение моноклональных антител, стандартных химиотерапевтических подходов (например, CHOP, CVP, FCM, MCP и т.п.), радиоиммунотерапии и их комбинаций, в частности интеграции терапии антителами с химиотерапией. Примеры неконъюгированных моноклональных антител для лечения неходжкинской лимфомы/В-клеточных видов рака включают ритуксимаб, алемтузумаб, человеческие или гуманизированные антитела к CD20, лимуиликсимаб, анти-TRAIL, бевацизумаб, галиксимаб, эпрутузумаб, SGN-40 и анти-CD74. Примеры экспериментальных агентов, представляющих собой антитела, используемых при лечении неходжкинской лимфомы/В-клеточных видов рака, включают офатумумаб, ha20, PRO131921, алемтузумаб, галиксимаб, SGN-40, CHIR-12.12, эпрутузумаб, лимуиликсимаб, аполизумаб, милатумаб и бевацизумаб. Примеры стандартных режимов химиотерапии неходжкинской лимфомы/В-клеточных видов рака включают CHOP (циклофосфамид, доксорубин, винкристин, преднизолон), FCM (флударабин, циклофосфан, митоксантрон), CVP (циклофосфамид, винкристин и преднизон), MCP (митоксантрон, хлорамбуцил и преднизолон), R-CHOP (ритуксимаб плюс CHOP), R-FCM (ритуксимаб плюс FCM), R-CVP (ритуксимаб плюс CVP) и R-MCP (R-MCP). Примеры радиоиммунотерапии неходжкинской лимфомы/В-клеточных видов рака включают меченный иттрием-90 ибритумаб тиуксетан и меченный йодом 131 тозитумаб.

В другом примере терапевтические методы лечения лимфомы из клеток мантийной зоны (MCL) включают комбинацию химиотерапии, такой как CHOP (циклофосфамид, доксорубин, винкристин, преднизолон), hyperCVAD (гиперфракционированный циклофосфамид, винкристин, доксорубин, дексаметазон, метотрексат, цитарабин) и FCM (флударабин, циклофосфамид, митоксантрон). Кроме того, эти режимы могут быть дополнены моноклональным антителом ритуксимаб (Ритуксан) с получением комбинированных видов терапии с использованием R-CHOP, hyperCVAD-R и R-FCM. Другие подходы включают объединение любых из вышеуказанных видов терапии с трансплантацией стволовых клеток или лечение с помощью ICE (ифосфамид, карбоплатин и этопозид). Другие подходы к лечению лимфомы из клеток мантийной зоны включают иммунотерапию, такую как с использованием моноклональных

антител, таких как ритуксимаб (Ритуксан). Ритуксимаб может быть использован для лечения индолентного В-клеточного рака, в том числе лимфомы из клеток маргинальной зоны, МВ, ХЛЛ и мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы. Комбинация ритуксимаба и химиотерапевтических агентов является особенно эффективной. Модифицированным подходом является радиоиммунотерапия, в которой моноклональное антитело объединено с радиоизотопной частицей. Примером являются йод-131-тозитумомаб (Бекскасар (Веххаг®)) и иттрий-90-ибритумомаб тиоксетан (Зевалин (Zevalin®)). В другом примере Бекскасар (Веххаг®) используют при лечении последовательной с СНОР. Другой пример иммунотерапии включает использование вакцин против рака, которые основаны на генетической обработке опухоли отдельного субъекта. Примером вакцины от лимфомы является вакцина GTOP-99 (МайВакс (MyVax®)). Другие подходы к лечению лимфомы из клеток мантийной зоны включают трансплантацию аутологичных стволовых клеток в сочетании с химиотерапией в высоких дозах или лечение лимфомы из клеток мантийной зоны включает введение ингибиторов протеасом, таких как Велкейд (Velcade®) (бортезомиб или PS-341), или агентов против ангиогенеза, таких как талидомид, особенно в комбинации с Ритуксаном. Другим подходом к лечению является введение лекарственных средств, которые приводят к разложению белка Bcl-2 и увеличивают чувствительность клеток рака к химиотерапии, такой как введение облимерсена (Genasense) в комбинации с другими химиотерапевтическими агентами. Другой подход к лечению включает введение ингибиторов mTOR, которые могут привести к ингибированию роста клеток и даже гибели клеток; неограничивающим примером является Темсиролиму (CCI-779) и Темсиролиму в комбинации с Ритуксаном (Rituxan®), Велкейдом (Velcade®) или другими химиотерапевтическими агентами.

Были описаны и другие недавние виды терапии MCL (Nature Reviews, Jares, P., 2007). Такие примеры включают Флавопиридол, PD0332991, R-роковитин (Selicilib, CYC202), стирилсульфоны, Обатоклак (GX15-070), TRAIL, антитела anti-TRAIL DR4 и DR5, Темсиролиму (CCI-779), эверолиму (RAD001), BMS-345541, Куркумин, Вориностат (SAHA), Талидомид, леналидомид (Ревлилимид (Revlimid®), CC-5013) и Гельданамицин (17-AAG).

Примеры других терапевтических средств, используемых для лечения макроглобулинемии Вальденстрема (WM), включают перифозин, бортезомиб (Велкейд (Velcade®)), ритуксимаб, силденафил цитрат (Виагра (Viagra®)), CC-5103, талидомид, эспратузумаб (гуманизированное антитело hLL2-анти-CD22), симвастатин, энзастаурин, кампас-1Н (campath-III), дексаметазон, DT PACE, облимерсен, антинеопластон A10, антинеопластон AS2-1, алемтузумаб, бет-алетин, циклофосфамид, доксорубицина гидрохлорид, преднизон, винкристина сульфат, флударабин, филграстим, мелфалан, рекомбинантный интерферон-альфа, кармустин, цисплатин, циклофосфамид, цитарабин, этопозид, мелфалан, доластатин 10, моноклональное антитело MN-14 с индием In-111, иттриевый Y-90 гуманизированный эспратузумаб, антитимоцитарный глобулин, бусульфан, циклоспорин, метотрексат, микофенолят мофетил, терапевтические аллогенные лимфоциты, иттриевый Y-90 ибритумомаб тиоксетан, сиролиму, такролиму, карбоплатин, тиотепу, паклитаксел, алдеслейкин, рекомбинантный интерферон-альфа, доцетаксел, ифосфамид, месну, рекомбинантный интерлейкин-12, рекомбинантный интерлейкин-11, ингибитор АВТ-263 семейства белков Bcl-2, денилейкин дифитотокс, танеспимицин, эверолиму, пегфилграстим, вориностат, альвоцидиб, лиганд к рекомбинантному flt3, рекомбинантный человеческий тромбопоэтин, лимфокин-активируемые клетки-киллеры, амифостина тригидрат, аминокамптотецин, иринотекана гидрохлорид, каспофунгина ацетат, клофарабин, эпоэтин альфа, неларабин, пентостатин, сарграмостим, винорелбин дитартрат, пептидную вакцину на основе аналога WT-1, пептидную вакцину WT1 126-134, фенретинид, иксабепилон, оксалиплатин, моноклональное антитело CD19, моноклональное антитело CD20, жирные кислоты омега-3, митоксантрона гидрохлорид, октреотида ацетат, тозитумомаб и йодный 1-131-тозитумомаб, мотоксафин гадолиний, триоксид мышьяка, типифарниб, полученный из аутологичной опухоли человека HSPPC-96, велтузумаб, бриостатин 1, пегилированный липосомальный доксорубицина гидрохлорид и любую их комбинацию.

Примеры терапевтических процедур, используемых для лечения WM, включают трансплантацию стволовых клеток периферической крови, аутологичную трансплантацию гематopoэтических стволовых клеток, аутологичную трансплантацию костного мозга, терапию антителами, биологическую терапию, терапию ингибиторами ферментов, общее облучение тела, инфузию стволовых клеток, абляцию костного мозга с поддержкой стволовых клеток, трансплантацию обработанных in vitro стволовых клеток периферической крови, трансплантацию пуповинной крови, иммуноферментные методы, фармакологическое исследование, терапию низкий уровень терапии LET-кобальт-60-гамма-лучи, блеомицин, традиционные хирургические операции, лучевую терапию и немиелоаблативную аллогенную трансплантацию гематopoэтических стволовых клеток.

Примеры других терапевтических агентов, применяемых для лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL) с помощью лекарственных средств (Blood, 2005, Abramson, J.) включают циклофосфамид, доксорубицин, винкристин, преднизон, моноклональные антитела к CD20, этопозид, блеомицин, многие из агентов, перечисленных для макроглобулинемии, Вальденстрема и любую их комбинацию, такую как ICE и R ICE.

Примеры других терапевтических средств, применяемых для лечения хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ) (Spectrum, 2006, Fernandes, D.), включают иделалисиб (Зиделиг (Zydelig®)), хлорамбуцил (Лейкеран), циклофосфамид (Цилоксан, Эндоксан, Эндоксана, Цислостин), Флударабин (Флудара), Пенстатин (Нипент), Кладрибин (Лейстарин), Доксорубицин (Адриамицин (Adriamycin®), Адрибластин), Винкристин (Онковин), Преднизон, Преднизолон, Алемтузумаб (Кэмпас (Campath), MabCampath), многие из агентов, перечисленных для макроглобулинемии Вальденстрема, комбинированную и химиотерапию, и химиоиммунотерапию, включая общий режим комбинации: CVP (циклофосфамид, винкристин, преднизолон); R-CVP (ритуксимаб-CVP); ICE (ифосфамид, карбоплатин, этопозид); R-ICE (ритуксимаб-ICE); FCR (флударабин, циклофосфан, ритуксимаб); и FR (флударабин, ритуксимаб).

В другом аспекте предложен способ повышения чувствительности субъекта (например, человека), который (i) рефрактерен по меньшей мере к одному химиотерапевтическому лечению, или (ii) имеет рецидив после лечения посредством химиотерапии, или характеризуется и (i), и (ii), причем указанный способ включает введение указанному субъекту формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2, или содержащей их фармацевтической композиции. Субъект, чувствительность которого повышают, представляет собой субъект, отвечающий на лечение, в котором задействовано введение формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2, или у которого не развилась резистентность к такому лечению.

В другом аспекте настоящего описания предложены способы лечения субъекта (например, человека) от рака с сопутствующим заболеванием, причем указанное лечение также эффективно для лечения сопутствующего заболевания. Сопутствующее раку заболевание представляет собой заболевание, которое возникает в то же время, что и рак.

В некоторых вариантах реализации настоящего описания предложены способы лечения субъекта (например, человека) от хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ) с сопутствующим заболеванием, причем указанное заболевание также эффективно для лечения сопутствующего заболевания. Множество субъектов с ХЛЛ будут иметь одно или более заболеваний, например заболевания, влияющие на систему кровяного давления, сосудистую и сердечную системы, эндокринную и метаболическую системы, мочеполовую систему, скелетно-мышечную систему, дыхательную систему, неврологическую систему, верхнюю и нижнюю системы желудочно-кишечного тракта, психическую систему, системы уха, носа и горла, систему почек или систему печени. Конкретные болезненные состояния ХЛЛ включают, но не ограничиваются ими, один или более других видов рака (например, рак груди, головы и шеи, легкого, меланому, неходжкинскую Т-клеточную лимфому, рак предстательной железы, толстой кишки, тонкого кишечника, гинекологических и мочевыводящих путей), гипертензию, гиперлипидемию, ишемическую болезнь сердца, заболевания периферических сосудов, кардиомиопатию, приобретенные пороки сердца, фибрилляцию предсердий, цереброваскулярные заболевания (например, транзиторную ишемическую атаку, инсульт), хроническую обструктивную болезнь легких, заболевания суставов, пептическую язву, воспалительное заболевание кишечника, психическое заболевание, заболевание щитовидной железы, доброкачественную гиперплазию предстательной железы, сахарный диабет и остеоартрит (Satram-Hoang et al., *Journal of Cancer Therapy*, 2013, 4:1321-1329; Thurmes et al., *Leukemia&Lymphoma*, 2008, 49(1):49-56).

В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения сопутствующего ХЛЛ заболевания у субъекта (например, человека), включающий введение указанному субъекту формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 или содержащей их фармацевтической композиции. В некоторых вариантах реализации сопутствующее заболевание выбрано из группы, состоящей из одного или более других видов рака (например, рака груди, головы и шеи, легкого, меланомы, неходжкинской Т-клеточной лимфомы, рака предстательной железы, толстой кишки, тонкого кишечника, гинекологических и мочевыводящих путей), гипертензии, гиперлипидемии, ишемической болезни сердца, заболеваний периферических сосудов, кардиомиопатии, приобретенных пороков сердца, фибрилляции предсердий, цереброваскулярного заболевания (например, транзиторной ишемической атаки, инсульта), хронической обструктивной болезни легких, заболевания суставов, пептической язвы, воспалительного заболевания кишечника, психического заболевания, заболевания щитовидной железы, доброкачественной гиперплазии предстательной железы, сахарного диабета и остеоартрита.

Монотерапия.

Также предложены способы лечения, в которых форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2 являются единственным активным агентом, который дают субъекту, и также включены способы лечения, в которых форму I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форму I или II сукцината соединения согласно примеру 2 дают субъекту в комбинации с одним или более дополнительными активными агентами. Как монотерапия, так и комбинированная терапия предполагаются и описаны для применения в способах, подробно описанных в настоящем документе, таких как способ лечения любых заболеваний или состояний, подробно описанных в настоящем документе, и для применения для любого субъекта,

подробно описанного в настоящем документе.

Монотерапия.

В некоторых вариантах реализации способ лечения рака, аллергического расстройства, и/или ауто-иммунного и/или воспалительного заболевания, и/или острой воспалительной реакции включает введение нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2, причем указанный субъект не подвергается терапии от того же заболевания или состояния посредством другого агента или другой процедуры.

В некоторых вариантах реализации, в которых форму I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форму I или II сукцината соединения согласно примеру 2 вводят в виде монотерапии субъекту, у которого было диагностировано или предполагается наличие рака, причем указанный субъект может представлять собой человека, который (i) является устойчивым по отношению к по меньшей мере одной терапии против рака, или (ii) имеет рецидив после лечения посредством по меньшей мере одной терапии против рака, или характеризуется и (i), и (ii). В некоторых вариантах реализации субъект является устойчивым по отношению к по меньшей мере двум, по меньшей мере трем или по меньшей мере четырем видам терапии против рака (включая, например, стандартные или экспериментальные виды химиотерапии). Например, в некоторых вариантах реализации субъект может представлять собой человека, который (i) рефрактерен к терапии с использованием антитела к CD20, алкилирующего агента (например, бендамустина), аналога пурина (например, флударабина), антрациклина или любой их комбинации; (ii) имеет рецидив после лечения антителом к CD20, алкилирующим агентом (например, бендамустином), аналогом пурина (например, флударабином), антрациклином или любой их комбинацией, или характеризуется и (i), и (ii).

Субъект, представляющий собой человека, который является устойчивым по отношению к по меньшей мере одной терапии против рака, как описано выше, возможно, получал одну или большее количество терапий ранее. В некоторых вариантах реализации такие субъекты получали одну, две, три или четыре, или по меньшей мере одну, по меньшей мере две, по меньшей мере три, по меньшей мере четыре или по меньшей мере пять, или от одной до десяти, от одной до девяти, от одной до восьми, от одной до семи, от одной до шести, от одной до пяти или от одной до четырех терапий против рака до начала лечения с применением способов, описанных в настоящем документе (например, до введения формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 в виде монотерапии).

Следует понимать, что, когда субъект (например, человек) получает лечение формой I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формой I или II сукцината соединения согласно примеру 2 в виде монотерапии, субъект может получать один или более других видов терапии, которые не являются терапией против рака.

В некоторых вариантах реализации предложен способ лечения сопутствующего раку заболевания, включая, но не ограничиваясь ХЛЛ, у субъекта (например, человека), у которого был диагностирован рак, например ХЛЛ, причем указанный способ включает проведение субъекту терапии для лечения сопутствующего заболевания в комбинации с формой I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формой I или II сукцината соединения согласно примеру 2 или содержащей их фармацевтической композицией. В некоторых вариантах реализации указанное сопутствующее заболевание выбрано из группы, состоящей из одного или более других видов рака (например, рака груди, головы и шеи, легкого, меланомы, неходжкинской Т-клеточной лимфомы, рака предстательной железы, толстой кишки, тонкого кишечника, гинекологических и мочевыводящих путей), артериальной гипертензии, гиперлипидемии, ишемической болезни сердца, заболеваний периферических сосудов, кардиомиопатии, приобретенного порока сердца, фибрилляции предсердий, цереброваскулярного заболевания (например, транзиторной ишемической атаки, инсульта), хронической обструктивной болезни легких, заболевания суставов, пептической язвы, воспалительного заболевания кишечника, психического заболевания, заболевания щитовидной железы, доброкачественной гиперплазии предстательной железы, сахарного диабета и остеоартрита.

Фармацевтические композиции и введение.

Форму I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форму I или II сукцината соединения согласно примеру 2 обычно вводят в виде фармацевтической композиции. Таким образом, в настоящем описании предложены фармацевтические композиции, которые содержат в качестве активного ингредиента одно или более описанных соединений или их фармацевтически приемлемых солей, фармацевтически приемлемых сокристаллов или фармацевтически приемлемых сложных эфиров и один или более фармацевтически приемлемых носителей (vehicles), таких как вспомогательные вещества, переносящие среды (carriers), включая инертные твердые разбавители и наполнители, разбавители, включая стерильный водный раствор и различные органические растворители, усилители проникновения, солубилизаторы и адъюванты. Фармацевтические композиции могут быть введены отдельно или в комбинации с другими терапевтическими агентами. Такие композиции получают способом, хорошо известным в фармацевтической области (см., например, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing

Co., Philadelphia, PA, 17th ed. (1985); и Modern Pharmaceutics, Marcel Dekker, Inc. 3rd ed. (G.S. Banker & C.T. Rhodes, eds.)).

Фармацевтические композиции можно вводить в виде одной или нескольких доз любым из приемлемых способов введения агентов, имеющих аналогичное применение, например, как описано в патентах и заявках на патенты, включенных посредством ссылки, включая ректальный, буккальный, интраназальный и трансдермальный способы, путем внутриартериальной инъекции, внутривенно, внутривентриально, парентерально, внутримышечно, подкожно, перорально, местно, в виде ингаляций или через пропитанное или покрытое устройство, такое как стент, например, или вставляемый в артерию цилиндрический полимер.

Одним из видов введения является парентеральный, в частности, путем инъекции. Формы, в которых форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2 могут быть включены для введения путем инъекции, включают водные или масляные суспензии или эмульсии с кунжутным маслом, кукурузным маслом, хлопковым маслом или арахисовым маслом, а также эликсирами, маннитом, декстрозой или стерильным водным раствором и аналогичными фармацевтическими носителями. Также традиционно для инъекций могут быть использованы водные растворы в солевом растворе. Также могут использоваться этанол, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль и т.п. (и их подходящие смеси), производные циклодекстрина и растительные масла. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, путем применения покрытия, такого как лецитин, путем поддержания требуемого размера частиц в случае дисперсии и путем применения поверхностно-активных веществ. Предотвращение действия микроорганизмов может осуществляться различными антибактериальными и противогрибковыми агентами, например парабенами, хлорбутанолом, фенолом, сорбиновой кислотой, тимеросалом и т.п.

Стерильные растворы для инъекций готовят путем введения соединения согласно настоящему описанию в требуемом количестве в соответствующий растворитель с различными другими ингредиентами, перечисленными выше, и в случае необходимости с последующей стерилизацией посредством фильтрации. Как правило, дисперсии получают путем включения различных стерилизованных активных ингредиентов в стерильный носитель, который содержит основную дисперсионную среду и другие необходимые ингредиенты из числа перечисленных выше. В случае стерильных порошков для получения стерильных растворов для инъекций предпочтительными способами получения являются вакуумная сушка и методы сублимационной, которые позволяют получить порошок активного ингредиента плюс любой дополнительный желаемый ингредиент из предварительно стерильно отфильтрованного раствора. В некоторых вариантах реализации для парентерального введения получают стерильные растворы для инъекций, содержащие терапевтически эффективное количество, например, от 0,1 до 1000 мг, формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2. Тем не менее следует понимать, что фактически вводимое количество соединения обычно будет определяться лечащим врачом в свете соответствующих обстоятельств, включая состояние, подлежащее лечению, выбранный способ введения, фактически вводимое соединение и его относительную активность, возраст, вес и реакцию конкретного субъекта, тяжесть симптомов субъекта и т.п.

Пероральное введение представляет собой другой путь введения формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2. Введение может быть осуществлено через капсулу или таблетки с энтеросолюбильным покрытием или т.п. При приготовлении фармацевтических композиций, которые содержат форму I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форму I или II сукцината соединения согласно примеру 2, активный ингредиент обычно разбавляют вспомогательным веществом и/или заключают в такой носитель, который может находиться в форме капсулы, саше, бумаги или другой емкости. Когда вспомогательное вещество служит в качестве разбавителя, оно может находиться в форме твердого, полутвердого или жидкого материала (как указано выше), который выступает в качестве носителя (vehicle), переносимой среды (carrier) или среды для активного ингредиента. Таким образом, композиции могут быть представлены в форме таблеток, пилюль, порошков, лепешек, саше (sachets), облаток (cachets), эликсиров, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (в виде твердого вещества или в жидкой среде), мазей, содержащих, например, до 10% по массе активного соединения, мягких и твердых желатиновых капсул, стерильных растворов для инъекций и стерильно упакованных порошков.

Некоторые примеры подходящих вспомогательных веществ в составе для перорального введения включают лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмалы, аравийскую камедь (gum acacia), фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, стерильную воду, сироп и метилцеллюлозу. Указанные составы могут дополнительно содержать смазывающие агенты, такие как тальк, стеарат магния и минеральное масло; смачивающие агенты; эмульгирующие и суспендирующие агенты; консерванты, такие как метил- и пропилгидроксibenzoаты; подсластители и ароматизирующие агенты.

Фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, могут быть приготовлены таким образом, чтобы обеспечить быстрое, замедленное или отсроченное высвобождение активного ингредиента после введения субъекту с использованием процедур, известных в данной области. Системы дос-

- 18 -

[illegible]

В некоторых вариантах реализации для перорального введения каждая дозировочная единица содержит примерно 1 мг, примерно 2 мг, примерно 5 мг, примерно 10 мг, примерно 15 мг, примерно 20 мг, примерно 25 мг, примерно 30 мг, примерно 35 мг, примерно 40 мг, примерно 45 мг, примерно 50 мг, примерно 75 мг, примерно 100 мг, примерно 125 мг, примерно 150 мг, примерно 175 мг, примерно 200 мг, примерно 225 мг, примерно 250 мг, примерно 300 мг, примерно 350 мг, примерно 400 мг, примерно 450 мг, примерно 500 мг, примерно 550 мг, примерно 600 мг, примерно 650 мг, примерно 700 мг, примерно 750 мг, примерно 800 мг, примерно 850 мг, примерно 900 мг, примерно 950 мг или примерно 1000 мг формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2.

Дозы для перорального введения, описанного выше, могут быть введены один раз в сутки (QD) или два раза в сутки (BID). В некоторых вариантах реализации форму I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форму I или II сукцината соединения согласно примеру 2 или содержащую их фармацевтическую композицию, вводят перорально в единичной дозе примерно 1 мг один раз в сутки, примерно 2 мг один раз в сутки, примерно 5 мг один раз в сутки, примерно 10 мг один раз в сутки, примерно 15 мг один раз в сутки, примерно 20 мг один раз в сутки, примерно 25 мг один раз в сутки, примерно 30 мг один раз в сутки, примерно 35 мг один раз в сутки, примерно 40 мг один раз в сутки, примерно 45 мг один раз в сутки, примерно 50 мг один раз в сутки, примерно 75 мг один раз в сутки, примерно 100 мг один раз в сутки, примерно 125 мг один раз в сутки, примерно 150 мг один раз в сутки, примерно 175 мг один раз в сутки, примерно 200 мг один раз в сутки, примерно 225 мг один раз в сутки, примерно 250 мг один раз в сутки, примерно 300 мг один раз в сутки, примерно 350 мг один раз в сутки, примерно 400 мг один раз в сутки, примерно 450 мг один раз в сутки, примерно 500 мг один раз в сутки, примерно 550 мг один раз в сутки, примерно 600 мг один раз в сутки, примерно 650 мг один раз в сутки, примерно 700 мг один раз в сутки, примерно 750 мг один раз в сутки, примерно 800 мг один раз в сутки, примерно 850 мг один раз в сутки, примерно 900 мг один раз в сутки, примерно 950 мг один раз в сутки или примерно 1000 мг один раз в сутки. В некоторых вариантах реализации форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2 или содержащую их фармацевтическую композицию вводят перорально в единичной дозе примерно 1 мг два раза в сутки, примерно 2 мг два раза в сутки, примерно 5 мг два раза в сутки, примерно 10 мг два раза в сутки, примерно 15 мг два раза в сутки, примерно 20 мг два раза в сутки, примерно 25 мг два раза в сутки, примерно 30 мг два раза в сутки, примерно 35 мг два раза в сутки, примерно 40 мг два раза в сутки, примерно 45 мг два раза в сутки, примерно 50 мг два раза в сутки, примерно 75 мг два раза в сутки, примерно 100 мг два раза в сутки, примерно 125 мг два раза в сутки, примерно 150 мг два раза в сутки, примерно 175 мг два раза в сутки, примерно 200 мг два раза в сутки, примерно 225 мг два раза в сутки, примерно 250 мг два раза в сутки, примерно 300 мг два раза в сутки, примерно 350 мг два раза в сутки, примерно 400 мг два раза в сутки, примерно 450 мг два раза в сутки, примерно 500 мг два раза в су-

тки, примерно 550 мг два раза в сутки, примерно 600 мг два раза в сутки, примерно 650 мг два раза в сутки, примерно 700 мг два раза в сутки, примерно 750 мг два раза в сутки, примерно 800 мг два раза в сутки, примерно 850 мг два раза в сутки, примерно 900 мг два раза в сутки, примерно 950 мг два раза в сутки или примерно 1000 мг два раза в сутки.

В некоторых вариантах реализации для парентерального введения каждая дозировочная единица содержит от 0,1 мг до 1 г, от 0,1 до 700 мг или от 0,1 до 100 мг формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2.

Тем не менее для любой из дозировочных единиц, описанных в настоящем документе, понятно, что фактически вводимое количество соединения обычно будет определяться врачом в свете соответствующих обстоятельств, включая состояние, подлежащее лечению, выбранный способ введения, конкретное вводимое соединение и его относительную активность, возраст, вес и ответ отдельного субъекта, тяжесть симптомов субъекта и т.п.

Для получения твердых композиций, таких как таблетки, основной активный ингредиент смешивают с фармацевтическим вспомогательным веществом с получением твердой предварительно приготовленной композиции, содержащей гомогенную смесь формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2. Когда говорят, что эти предварительно приготовленные композиции являются гомогенными, подразумевают, что активный ингредиент равномерно распределен в композиции таким образом, что указанная композиция может быть легко разделена на равные эффективные единичные лекарственные формы, такие как таблетки, пилюли и капсулы.

Таблетки или пилюли, описанные в настоящем документе, могут быть покрыты или иным образом приготовлены с получением лекарственной формы, обеспечивающей преимущество пролонгированного действия или с обеспечением защиты от кислой среды желудка. Например, таблетка или пилюля может содержать внутренний дозируемый компонент и внешний дозируемый компонент, причем последний в указанной форме может быть нанесен на первый. Указанные два компонента могут быть разделены энтеросолюбильным слоем, который служит для противостояния разложению в желудке и позволяет внутреннему компоненту пройти в исходном виде в двенадцатиперстную кишку или обеспечивает отсрочку высвобождения внутреннего компонента. Для таких энтеросолюбильных слоев или покрытий могут использоваться различные материалы, включая ряд полимерных кислот и смеси полимерных кислот с такими материалами, как шеллак, цетиловый спирт и ацетат целлюлозы.

Композиции для ингаляции или инсuffляции могут включать растворы и суспензии в фармацевтически приемлемых водных или органических растворителях или их смесях и порошках. Жидкие или твердые композиции, содержащие форму I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форму I или II сукцината соединения согласно примеру 2, могут содержать подходящие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества, описанные ранее. Предпочтительно композиции вводят пероральным или назальным путем через вдыхание с получением местного или системного эффекта. Композиции в предпочтительно фармацевтически приемлемых растворителях могут быть распылены с использованием инертных газов. Распыляемые через небулайзер растворы можно вдыхать непосредственно из устройства для распыления, или указанное устройство для распыления может быть присоединено к маске для ингаляции или дыхательному устройству с перемежающимся положительным давлением. Раствор, суспензия или порошковые композиции могут быть введены предпочтительно перорально или назально из устройств, которые доставляют состав соответствующим образом.

Режим дозирования.

В предложенных в настоящем описании способах форму I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форму I или II сукцината соединения согласно примеру 2 или содержащую их фармацевтическую композицию, вводят в терапевтически эффективном количестве для достижения требуемой цели. Определение терапевтически эффективного количества находится в компетенции специалиста в данной области техники особенно в свете подробного описания, представленного в настоящем документе. В некоторых вариантах реализации (способах лечения рака) терапевтически эффективное количество формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 может (i) уменьшать число раковых клеток; (ii) уменьшать размер опухоли; (iii) подавлять, задерживать, замедлять до некоторой степени и предпочтительно останавливать инфильтрацию раковых клеток в периферические органы; (iv) подавлять (например, замедлять до некоторой степени и предпочтительно останавливать) метастазы опухоли; (v) подавлять рост опухоли; (vi) задерживать возникновение и/или повторное возникновение опухоли; и/или (vii) облегчать до некоторой степени один или более симптомов, ассоциированных с раком. В различных вариантах реализации указанное количество является достаточным для облегчения, смягчения, уменьшения и/или задержки одного или более симптомов рака.

Терапевтически эффективное количество может изменяться в зависимости от субъекта и заболевания или состояния, подлежащего лечению, веса и возраста субъекта, тяжести заболевания или состояния и способа введения, которые могут быть легко определены некоторым или средним специалистом в данной области техники.

Режим дозирования формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 в способах, предложенных в настоящем описании, может варьироваться, например, в зависимости от показания, способа введения и тяжести состояния. В зависимости от способа введения подходящая доза может быть рассчитана в зависимости от массы тела, площади поверхности тела и размера органа. Конечный режим введения определяется лечащим врачом с учетом надлежащей медицинской практики, принимая во внимание различные факторы, которые модифицируют действие лекарственных средств, например специфическую активность соединения, вид и тяжесть болезненного состояния, способность субъекта отвечать на лечение, возраст, состояние, массу тела, пол и диету субъекта, а также тяжесть любой инфекции. Дополнительные факторы, которые могут быть приняты во внимание, включают время и частоту введения, комбинации лекарственных средств, чувствительность реакции и переносимость/ответ на терапию. Дальнейшее уточнение доз, подходящих для лечения, включая любые составы, упомянутые в настоящем описании, производится рутинным образом специалистом-практиком без лишних экспериментов, особенно в свете раскрытой информации о дозах и исследованиях, а также фармакокинетических данных, наблюдаемых для людей в клинических испытаниях. Подходящие дозы могут быть установлены путем применения определенных исследований для определения концентрации агента в биологической жидкости организма или другом образце совместно с данными доза-ответ.

Выбранные состав и способ введения могут быть приспособлены для отдельного субъекта, природы состояния, подлежащей лечению у указанного субъекта, и в целом решения лечащего врача. Например, терапевтический индекс формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 может быть увеличен путем модификации или дериватизации соединения для нацеленной доставки в раковые клетки, экспрессирующие маркер, идентифицирующий указанные клетки в качестве таковых. Например, соединения могут быть связаны с антителом, которое распознает маркер, который является селективным или специфичным для раковых клеток, таким образом, что соединения помещают близко к указанным клеткам для проявления их эффектов локально, как описано ранее. См., например, Pietersz et al., *Immunol. Rev.*, 129:57 (1992); Trail et al., *Science*, 261:212 (1993); и Rowlinson-Busza et al., *Curr. Opin. Oncol.*, 4:1142 (1992).

Терапевтически эффективное количество формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 может быть представлено в одной дозе или нескольких дозах для достижения необходимого конечного результата лечения. В контексте настоящего описания термин "доза" относится к общему количеству активного ингредиента (например, формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2), которое субъект (например, человек) принимает каждый раз. Вводимая доза, например, для перорального введения, описанного выше, может быть введена один раз в сутки (QD), два раза в сутки (BID), три раза в сутки, четыре раза в сутки или более четырех раз в сутки. В некоторых вариантах реализации дозу формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 вводят один раз в сутки. В некоторых вариантах реализации дозу формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 вводят два раза в сутки.

В некоторых вариантах реализации иллюстративные дозы формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 для субъекта, представляющего собой человека, могут составлять от примерно 1 мг до примерно 5000 мг, от примерно 1 мг до примерно 4000 мг, от примерно 1 мг до примерно 3000 мг, от примерно 1 мг до примерно 2000 мг, от примерно 2 мг до примерно 2000 мг, от примерно 5 мг до примерно 2000 мг, от примерно 10 мг до примерно 2000 мг, от примерно 1 мг до примерно 1000 мг, от примерно 2 мг до примерно 1000 мг, от примерно 5 мг до примерно 1000 мг, от примерно 10 мг до примерно 1000 мг, от примерно 25 мг до примерно 1000 мг, от примерно 50 мг до примерно 1000 мг, от примерно 75 мг до примерно 1000 мг, от примерно 100 мг до примерно 1000 мг, от примерно 125 мг до примерно 1000 мг, от примерно 150 мг до примерно 1000 мг, от примерно 175 мг до примерно 1000 мг, от примерно 200 мг до примерно 1000 мг, от примерно 225 мг до примерно 1000 мг, от примерно 250 мг до примерно 1000 мг, от примерно 300 мг до примерно 1000 мг, от примерно 350 мг до примерно 1000 мг, от примерно 400 мг до примерно 1000 мг, от примерно 450 мг до примерно 1000 мг, от примерно 500 мг до примерно 1000 мг, от примерно 550 мг до примерно 1000 мг, от примерно 600 мг до примерно 1000 мг, от примерно 650 мг до примерно 1000 мг, от примерно 700 мг до примерно 1000 мг, от примерно 750 мг до примерно 1000 мг, от примерно 800 мг до примерно 1000 мг, от примерно 850 мг до примерно 1000 мг, от примерно 900 мг до примерно 1000 мг, от примерно 950 мг до примерно 1000 мг, от примерно 1 мг до примерно 750 мг, от примерно 2 мг до примерно 750 мг, от примерно 5 мг до примерно 750 мг, от примерно 10 мг до примерно 750 мг, от примерно 25 мг до примерно 750 мг, от примерно 50 мг до примерно 750 мг, от примерно 75 мг до примерно 750 мг, от примерно 100 мг до примерно 750 мг, от примерно 125 мг до примерно 750 мг, от примерно 150 мг до примерно 750 мг, от примерно 175 мг до примерно 750 мг, от примерно 200 мг до примерно 750 мг, от примерно 225 мг до примерно 750 мг, от примерно 250 мг до примерно 750 мг, от примерно 300 мг до примерно 750 мг, от примерно 350 мг до примерно 750 мг, от примерно 400 мг до примерно

В некоторых вариантах реализации иллюстративные дозы формы I или II моноэзилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 для субъекта, представляющего собой человека, могут составлять примерно 1 мг, примерно 2 мг, примерно 5 мг, примерно 10 мг, примерно 15 мг, примерно 20 мг, примерно 25 мг, примерно 30 мг, примерно 35 мг, примерно 40 мг, примерно 45 мг, примерно 50 мг, примерно 75 мг, примерно 100 мг, примерно 125 мг, примерно 150 мг, примерно 175 мг, примерно 200 мг, примерно 225 мг, примерно 250 мг, примерно 300 мг, примерно 350 мг, примерно 400 мг, примерно 450 мг, примерно 500 мг, примерно 550 мг, примерно 600 мг, примерно 650 мг, примерно 700 мг, примерно 750 мг, примерно 800 мг, примерно 850 мг, примерно 900 мг, примерно 950 мг, примерно 1000 мг, примерно 1200 мг, примерно 1400 мг, примерно 1600 мг, примерно 1800 мг, примерно 2000 мг, примерно 2200 мг, примерно 2400 мг, примерно 2600 мг, примерно 2800 мг, примерно 3000 мг, примерно 3200 мг, примерно 3400 мг, примерно 3600 мг, примерно 3800 мг, примерно 4000 мг, примерно 4200 мг, примерно 4400 мг, примерно 4600 мг, примерно 4800 мг или примерно 5000 мг.

- 22 -

примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2, при которых достигается клиническая эффективность, или ступенчатого уменьшения доз до уровня, при котором может поддерживаться эффективность. В некоторых вариантах реализации предложенные способы включают введение субъекту (например, человеку) исходной суточной дозы формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 от 100 до 1000 мг и введение последующих суточных доз формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 в течение по меньшей мере шести суток, причем каждую последующую дозу увеличивают на 50-400 мг. Таким образом, следует понимать, что доза формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 может быть увеличена путем ступенчатого повышения до достижения клинической эффективности. Для повышения дозы могут использоваться прибавки, составляющие примерно 25 мг, примерно 50 мг, примерно 100 мг, или примерно 125 мг, или примерно 150 мг, или примерно 200 мг, или примерно 250 мг, или примерно 300 мг. Дозу можно повышать ежедневно, раз в двое суток, два, три, четыре, пять или шесть раз в неделю или один раз в неделю.

Частота дозирования будет зависеть от фармакокинетических параметров вводимого соединения, способа введения и конкретного заболевания, подлежащего лечению. Доза и частота дозирования также могут зависеть от данных по фармакокинетике и фармакодинамике, а также от данных по токсичности и терапевтической эффективности. Например, информация по фармакокинетике и фармакодинамике формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 может быть собрана в ходе доклинических исследований *in vitro* и *in vivo*, а после этого подтверждена на людях в ходе курса клинических исследований. Таким образом, для формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2, применяемых в способах, предложенных в настоящем описании, терапевтически эффективная доза может быть исходно оценена по результатам биохимических исследований и/или исследований на клетках. Далее доза может быть определена на животных моделях для достижения необходимого диапазона концентраций в кровотоке, при которых модулируется экспрессия или активность Syk. При проведении исследований на людях будет получена следующая информация относительно подходящих уровней доз и продолжительности лечения различных заболеваний и состояний.

Токсичность и терапевтическая эффективность формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 могут быть определены посредством стандартных фармацевтических процедур на культурах клеток или экспериментальных животных, например, для определения LD₅₀ (дозы, летальной для 50% популяции) и ED₅₀ (дозы, терапевтически эффективной для 50% популяции). Отношение доз, обеспечивающих токсический и терапевтический эффекты, называется терапевтическим индексом, который, как правило, выражают в виде отношения LD₅₀/ED₅₀. Соединения с высокими терапевтическими индексами, т.е. где токсическая доза значительно выше эффективной, являются предпочтительными. Данные, полученные из таких исследований на культурах клеток и дополнительных исследований в моделях на животных, могут быть использованы для определения диапазона доз для применения у человека. Дозы таких соединений предпочтительно находятся в пределах диапазона концентраций в кровотоке, включая ED₅₀ с небольшой токсичностью или отсутствием токсичности.

Введение формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 можно производить после еды. Термин "после еды" или его варианты относятся к потреблению или приему пищи в твердой или жидкой формах или калорий в подходящей форме до или во время введения соединений или содержащих их фармацевтических композиций. Например, форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2 могут быть введены субъекту (например, человеку) в течение минут или часов после приема калорий (например, пищи). В некоторых вариантах реализации форма I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форма I или II сукцината соединения согласно примеру 2 могут быть введены субъекту (например, человеку) в течение 5-10 мин, примерно 30 мин или примерно 60 мин после потребления калорий.

Изделия и наборы.

Композиции (включая, например, составы и единичные дозы), содержащие форму I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форму I или II сукцината соединения согласно примеру 2, могут быть получены, помещены в соответствующую емкость и промаркированы для лечения указанного состояния. Соответственно также предложено изделие, такое как емкость, содержащее единичную лекарственную форму формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 и этикетку, содержащую инструкции по применению соединений. В некоторых вариантах реализации указанное изделие представляет собой емкость, содержащую единичную лекарственную форму формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель. Указанное изделие может представлять собой бутылку, флакон, ампулу, аппликатор однократного применения или т.п., содержащие фармацевтическую компо-

зицию, предложенную в настоящем описании. Указанная емкость может быть изготовлена из множества материалов, таких как стекло или пластик, и в одном аспекте также содержит этикетку на емкости или ассоциированную с емкостью, на которой указаны направления для применения для лечения рака или воспалительных состояний. Следует понимать, что активный ингредиент может быть упакован в любой материал, способный улучшать химическую и физическую стабильность, такой как пакет из алюминиевой фольги. В некоторых вариантах реализации заболевания или состояния, указанные на этикетке, могут включать, например, лечение рака.

Любая фармацевтическая композиция, предложенная в настоящем описании, может быть применена в изделиях, как если бы для каждой и любой композиции было конкретно и индивидуально указано ее назначение для применения в изделии.

Также предложены наборы, содержащие фармацевтическую композицию, содержащую форму I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или форму I или II сукцината соединения согласно примеру 2. Например, набор может содержать единичные лекарственные формы формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 и листок-вкладыш, содержащий инструкции по применению композиции для лечения медицинского состояния. В некоторых вариантах реализации набор содержит единичную лекарственную форму формы I или II мономезилатной соли соединения согласно примеру 2 или формы I или II сукцината соединения согласно примеру 2 и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель. Инструкции для применения набора могут быть предназначены для лечения рака, включая, например, гематологическое злокачественное новообразование. В некоторых вариантах реализации инструкции предназначены для применения фармацевтической композиции для лечения рака, такого как лейкоз или лимфома, включая рецидив и рефрактерный лейкоз или лимфому. В некоторых вариантах реализации инструкции для применения набора могут быть предназначены для лечения гематологического рака, выбранного из группы, состоящей из мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, неходжкинской лимфомы, индолентной неходжкинской лимфомы, рефрактерной индолентной неходжкинской лимфомы, лимфомы из клеток мантийной зоны, фолликулярной лимфомы, лимфоплазмоцитарной лимфомы, лимфомы из клеток маргинальной зоны, иммунобластной крупноклеточной лимфомы, лимфобластной лимфомы, В-клеточной лимфомы из клеток маргинальной зоны селезенки (+/-ворсинчатые лимфоциты), узловой лимфомы из клеток маргинальной зоны (+/-моноцитоподобные В-клетки), экстранодальной лимфомы из В-клеток маргинальной зоны типа лимфоидной ткани, связанного со слизистой оболочкой, кожной Т-клеточной лимфомы, экстранодальной Т-клеточной лимфомы, анапластической крупноклеточной лимфомы, ангиоиммунобластной Т-клеточной лимфомы, грибовидного микоза, В-клеточной лимфомы, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, крупноклеточной В-клеточной лимфомы средостения, внутрисосудистой крупноклеточной В-клеточной лимфомы, первичной выпотной лимфомы, мелкоклеточной лимфомы с нерасщепленными ядрами, лимфомы Беркитта, множественной миеломы, плазмацитомы, острого лимфоцитарного лейкоза, Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза, В-клеточного острого лимфобластного лейкоза, В-клеточного пролимфоцитарного лейкоза, острого миелоидного лейкоза, хронического лимфоцитарного лейкоза, ювенильного миеломоноцитарного лейкоза, минимальной остаточной болезни, волосатоклеточного лейкоза, первичного миелофиброза, вторичного миелофиброза, хронического миелоидного лейкоза, миелодиспластического синдрома, миелопролиферативного заболевания и макроглобулинемии Вальденстрема. В одном из вариантов реализации инструкции для применения набора могут быть предназначены для лечения хронического лимфоцитарного лейкоза или неходжкинской лимфомы. В одном из вариантов реализации NHL представляет собой диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому, лимфому из клеток мантийной зоны, фолликулярную лимфому, мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому, лимфоплазмоцитарную лимфому и лимфому из клеток маргинальной зоны. В одном из вариантов реализации гематологическое злокачественное новообразование представляет собой индолентную неходжкинскую лимфому. В некоторых вариантах реализации заболевания или состояния, указанные на этикетке, могут включать, например, лечение рака.

В некоторых случаях инструкции предназначены для применения фармацевтической композиции для лечения солидной опухоли, где указанная солидная опухоль имеет происхождение из рака, выбранного из группы, состоящей из рака поджелудочной железы, рака мочеполовой системы, рака мочевого пузыря, колоректального рака, рака толстой кишки, рака груди, рака предстательной железы, рака почки, гепатоцеллюлярного рака, рака щитовидной железы, рака желчного пузыря, рака легкого (например, мелкоклеточного рака легкого, мелкоклеточного рака легкого), рака яичника, рака шейки матки, рака желудочно-кишечного тракта, рака эндометрия, рака пищевода, рака головы и шеи, меланомы, нейроэндокринного рака, рака ЦНС, опухоли головного мозга (например, глиомы, анапластической олигодендроглиомы, мультиформной глиобластомы взрослых и анапластической астроцитомы взрослых), рака кости, саркомы мягких тканей, ретинобластом, нейробластом, перитонеальных выпотов, злокачественных плевральных выпотов, мезотелиом, опухолей Вильмса, трофобластных новообразований, гемангиоперицитом, сарком Капоши, миксоидной карциномы, круглоклеточной карциномы, плоскоклеточных карцином, плоскоклеточных карцином пищевода, карцином полости рта, рака коры надпочечников, опухолей, продуцирующих адренокортикотропный гормон.

В некоторых случаях инструкции направлены на применение фармацевтической композиции для лечения аллергического расстройства, и/или аутоиммунного и/или воспалительного заболевания, и/или острой воспалительной реакции. В некоторых вариантах реализации инструкции направлены на применение фармацевтической композиции для лечения аутоиммунного заболевания. В некоторых вариантах реализации инструкции направлены на применение фармацевтической композиции для лечения аутоиммунного заболевания, выбранного из группы, состоящей из системной красной волчанки, миастении гравис, ревматоидного артрита, острого рассеянного энцефаломиелита, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, рассеянного склероза, синдрома Шегрена, псориаза, аутоиммунной гемолитической анемии, астмы, язвенного колита, болезни Крона, синдрома раздраженного кишечника и хронической обструктивной болезни легких. В некоторых вариантах реализации аутоиммунное заболевание выбрано из группы, состоящей из астмы, ревматоидного артрита, рассеянного склероза, хронической обструктивной болезни легких и системной красной волчанки.

Любая фармацевтическая композиция, предложенная в настоящем описании, может быть использована в наборах, как если бы для каждой и любой композиции было конкретно и индивидуально указано ее назначение для применения в наборе.

Синтез.

Соединения согласно настоящему описанию могут быть получены с применением способов, раскрытых в настоящем описании и их рутинных модификаций, которые будут очевидны с учетом данного описания, и способов, хорошо известных в данной области техники. Обычные и хорошо известные способы синтеза могут быть использованы в дополнение к тому, что предложено в настоящем описании. Синтез типичных вышеописанных соединений может быть осуществлен как описано в следующих примерах. При наличии реактивы могут быть приобретены, например, в Sigma Aldrich или у других поставщиков химических реактивов.

Общие методики синтеза.

Типичные варианты реализации соединений в соответствии с настоящим описанием могут быть синтезированы с использованием общих схем реакций, описанных ниже. Будет очевидно, с учетом описания, приведенного в настоящем документе, что указанные общие схемы могут быть изменены путем замены исходных материалов другими материалами, имеющими сходные структуры, для получения продуктов, которые, соответственно, будут отличаться. Описания синтеза приведены для предоставления многочисленных примеров того, как могут изменяться исходные материалы для обеспечения соответствующих продуктов. Для необходимого продукта, для которого определены замещающие группы, необходимые исходные материалы, как правило, могут быть определены путем подбора. Исходные материалы, как правило, получают из коммерческих источников или синтезируют с использованием опубликованных способов. Для синтеза соединений, которые являются вариантами реализации настоящего описания, подбор структуры соединения, которую необходимо синтезировать, обеспечит вид каждой замещающей группы. Исходя из вида конечного продукта, как правило, в результате простого подбора с учетом приведенных в настоящем описании примеров будет очевиден вид необходимых исходных материалов.

Параметры реакций синтеза.

Соединения согласно настоящему изобретению могут быть получены из легко доступных исходных материалов с использованием, например, следующих общих способов и методик. Следует понимать, что когда приведены типичные или предпочтительные условия проведения процесса (т.е. температуры реакции, время, мольные соотношения реагентов, растворители, давления и т.д.), могут также быть использованы и другие условия проведения процесса, если не указано иное. Оптимальные условия реакции могут изменяться в зависимости от конкретных используемых реагентов или растворителей, но такие условия могут быть определены специалистом в данной области техники с помощью стандартных процедур оптимизации.

Кроме того, как будет очевидно специалистам в данной области, для предотвращения нежелательных реакций для некоторых функциональных групп могут быть необходимы обычно используемые защитные группы. Подходящие защитные группы для различных функциональных групп, а также подходящие условия обеспечения защиты и снятия защиты с конкретных функциональных групп хорошо известны в данной области техники. Например, многочисленные защитные группы описаны в источнике Greene, T.W., Wuts, G.M. (1999), *Protecting Groups in Organic Synthesis*, 3rd edition, Wiley, New York; и ссылках, приведенных в указанном источнике.

Кроме того, соединения согласно настоящему описанию могут содержать хиральный центр. Соответственно при необходимости такие соединения могут быть получены или выделены в виде чистых стереоизомеров, т.е. отдельных энантиомеров, или в виде стереоизомерно обогащенных смесей. Все такие стереоизомеры (и обогащенные смеси) включены в объем настоящего описания, если не указано иное. Чистые стереоизомеры (или обогащенные смеси) могут быть получены с использованием, например, оптически активных исходных материалов или стереоселективных реагентов, хорошо известных в данной области техники. В качестве альтернативы рацемические смеси таких соединений могут быть разделены с применением, например, хиральной колоночной хроматографии, хиральных разделяющих аген-

тов и т.п.

Исходные материалы для следующих реакций, как правило, представляют собой известные соединения, или они могут быть получены посредством известных методик или их очевидных модификаций. Например, многие исходные материалы доступны у коммерческих поставщиков, таких как Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin, США). Другие материалы могут быть получены посредством методик или их очевидных модификаций, описанных в стандартных источниках, таких как Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, vol. 1-15 (John Wiley and Sons, 1991); Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, vol. 1-5; и дополнения к ним (Elsevier Science Publishers, 1989) Organic Reactions, vol. 1-40 (John Wiley and Sons, 1991); March's Advanced Organic Chemistry (John Wiley and Sons, 5th edition, 2001); и Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989).

Термины "растворитель", "инертный органический растворитель" или "инертный растворитель" относятся к растворителю, инертному в условиях проведения реакции, описанных в связи с ней (включая, например, бензол, толуол, ацетонитрил, тетрагидрофуран (ТГФ), диметилформамид (ДМФА), хлороформ, метилхлорид (или дихлорметан), диэтиловый эфир, метанол, пиридин и т.п.). Если не указано иное, растворители, применяемые в реакциях согласно настоящему описанию, представляют собой инертные органические растворители, и указанные реакции проводят в атмосфере инертного газа, предпочтительно азота.

Термин "достаточное количество" означает добавление количества, достаточного для достижения заявленной функции, например для доведения объема раствора до необходимого значения (т.е. 100%).

Следующие примеры приведены для демонстрации предпочтительных вариантов реализации настоящего описания. Специалистам в данной области техники очевидно, что методики, описанные в следующих примерах, отображают методики, раскрытые автором настоящего изобретения, для надлежащего осуществления настоящего изобретения на практике и, таким образом, их можно считать составляющими предпочтительные варианты осуществления изобретения на практике. Однако специалистам в данной области техники в свете настоящего описания очевидно, что без отклонения от объема и сущности настоящего описания может быть сделано большое количество изменений конкретных раскрытых вариантов реализации и все равно будут получены подобные или аналогичные результаты.

Список сокращений и аббревиатур.

Сокращение	Значение
°C	Градусы Цельсия
анал.	Аналитический
АТФ	Аденозин-5'-трифосфат
АТХ II	Токсин Anemania sulcata
AcOH	Уксусная кислота
ACN	Ацетонитрил
CAN	Церия-аммония нитрат
CDI	1,1'-карбонилдимидазол
CHO	Яичник китайского хомячка
конц.	Концентрированный
d	Дублет
DABCO	1,4-Диазабицикло[2,2,2]октан
DAST	(диэтиламино)сера трифторид
dd	Дублет дублетов
DCE	1,2-дихлорэтан
ДХМ	Дихлорметан
DEAD	Диэтилазодикарбоксилат
DIPEA	N,N-диизопропилэтиламин
DMAP	4-диметиламинопиридин

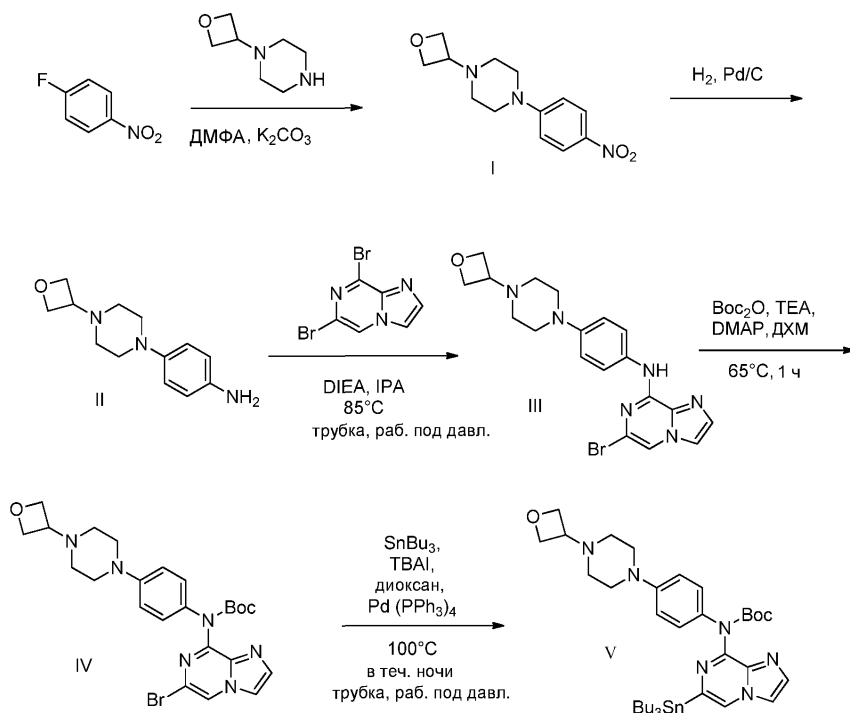
ДМЭ	1,2-диметоксиэтан
ДМФА	Диметилформамид
ДМСО	Диметилсульфоксид
dppf	1,1'-Бис(дифенилфосфино)ферроцен
EA	Этиловый спирт
ECF	Внеклеточная жидкость
ЭДТА	Этилендиаминтетрауксусная кислота
EGTA	Этиленгликольтетрауксусная кислота
эквив./экв.	Эквиваленты
ИЭР	Ионизация электрораспылением
Ac	Ацетат
Et	Этил
EtOAc	Этилацетат
Г	Граммы
HEPES	(4-(2-Гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота)
HATU	2-(7-Аза-1Н-бензотриазол-1-ил)-1,1,3,3-тетраметилуридия гексафторфосфат
hERG	Ген человека human ether-à-go-go Related Gene
HMDS	Гексаметилдисилазан (азид)
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
Ч	Часы
Гц	Герцы
IPA	Изопропиловый спирт
IC ₅₀	Половинная максимальная ингибирующая концентрация
IMR-32	Линия клеток нейробластомы человека
J	Константа взаимодействия
Kг	Килограмм
кГц	Килогерц
ЛАН	Литий аммоний гидрид
ЖХМС/ЖХ-МС	Жидкостная хроматография–масс-спектрометрия

M	Молярный
M	Мультиплет
m/z	отношение массы к заряду
M+	Пик по массе
M+H	Пик по массе плюс водород
mCPBA	3-хлорпероксибензойная кислота
Me	Метил
MeOH	Метанол
Mг	Миллиграмм
МГц	Мегагерц
мин/м	Минута
Мл	Миллилитр
мМ	Миллимолярный
Ммоль	Миллимоль
Нмоль	Наномоль
мОсмоль	Миллиосмоль
MPM	Магнитная резонансная микроскопия
МС	Масс-спектро스코пия
мс	Миллисекунда
мВ	Милливольт
микроволн.	Микроволны
н.	Нормальный
Моль	Моль
NMP	<i>N</i> -метилпирролидинон
ЯМР	Ядерный магнитный резонанс
пА	Пикоамперы
Ph	Фенил
Ppm	Частей на миллион
преп.	Препаративный
q. s.	Количество, достаточное для достижения установленной функции
Rf	Фактор удерживания
RP	Обращенная фаза
RT/rt	Комнатная температура
С	Секунда
S	Синглет
SEM	2-(Триметилсилил)этоксиметил
T	Триплет
TB	Блок тоничности (tonic block)
TEA	Триэтиламин
ТФУ	Трифторуксусная кислота
ТГФ	Тетрагидрофуран
TLC	Тонкослойная хроматография
TMS	Триметилсилил
TTX	Тетродотоксин
UDB	Блок в зависимости от применения
WT	Дикий тип
Δ	Химический сдвиг
Мкг	Микрограмм
Мкл	Микролитр
мкМ	Микромолярный
Мкм	Микрометр
Моль	Микромоль

Примеры

Получение общих промежуточных соединений.

Промежуточное соединение 1.01. Получение трет-бутил-(6-бромимидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамата IV и трет-бутил-4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил(6-(трибутилстаннил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)карбамата V.



1-(4-Нитрофенил)-4-(оксетан-3-ил)пиперазин I.

В круглодонной колбе вместимостью 500 мл 1-(оксетан-3-ил)пиперазин (3,02 г, 21,26 ммоль) карбонат калия (5,87 г, 42,52 ммоль) и 1-фтор-4-нитробензол (3,00 г, 21,26 ммоль) объединяли с ацетонитрилом (33 мл) и перемешивали в атмосфере азота в течение ночи при 100°C. Полученную смесь разбавляли водой (100 мл) и подвергали экстракции посредством ДХМ (100 мл×3), сушили над безводным карбонатом натрия, фильтровали и концентрировали фильтрат. Полученный остаток растворяли в минимальном количестве ДХМ с использованием ультразвукового аппарата и извлекали с помощью гексана. Полученный осадок фильтровали, промывали гексаном и сушили с получением указанного в заголовке соединения I.

4-(4-(Оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)анилин II.

В сосуде для гидрогенизации 1-(4-нитрофенил)-4-(оксетан-3-ил)пиперазин I (4,70 г, 17,85 ммоль) растворяли в MeOH (26 мл) и ДХМ (5 мл) в максимально возможном количестве. Добавляли Pd/C (10%) (2,85 г, 2,68 ммоль) и полученную реакционную смесь выдерживали в атмосфере азота. Реакционную смесь перемешивали в гидрогенизаторе Парра при 45 psi (примерно 310 кПа). Через 15 мин реакционную смесь полностью повторно помещали под давление 45 psi (примерно 310 кПа) и перемешивали в течение еще 1 ч. Полученный материал фильтровали через целит, промывали 25% MeOH/ДХМ и концентрировали с получением указанного в заголовке соединения II.

6-Бром-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин III.

К 4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)анилин II (2,00 г, 8,57 ммоль) добавляли основание Хунига (3,29 мл) и 6,8-дибромимидазо[1,2-а]пиразин (2,37 г, 8,57 ммоль) в ДМФА (43 мл). Реакционную смесь перемешивали при 85°C в трубке, работающей под давлением, в течение ночи. Полученное вещество гасили насыщенным раствором бикарбоната натрия, подвергали экстракции посредством ДХМ (120 мл×3), органические слои объединяли и промывали водой (120 мл×3), сушили над безводным карбонатом натрия и концентрировали. Неочищенный материал очищали на колонке Isco 120 г и элюировали с применением ступенчатого градиента 0-60% (10% MeOH/ДХМ). Необходимые фракции объединяли и концентрировали с получением указанного в заголовке соединения III.

трет-Бутил-(6-бромимидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамат IV.

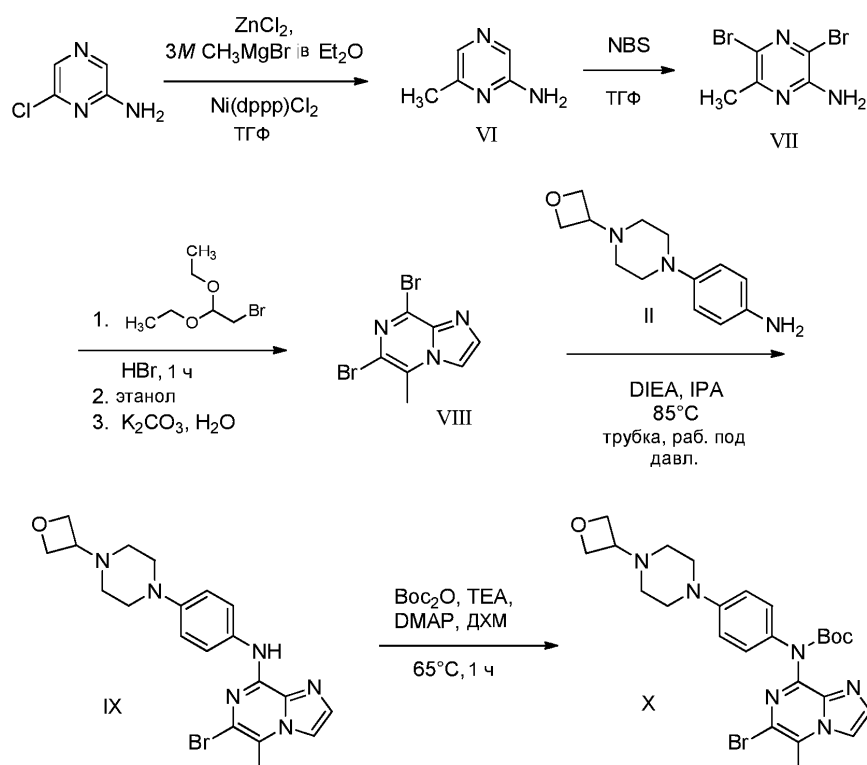
6-Бром-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин III (1000 мг, 2,33 ммоль), ди-трет-бутилдикарбонат (1016,72 мг, 4,66 ммоль) и N,N-диметилпиридин-4-амин (21,34 мг, 0,17 ммоль) перемешивали в ДХМ (1,01 мл) и нагревали с обратным холодильником при 65°C в течение 3 ч. Полученную реакционную смесь разбавляли 100 мл ДХМ, промывали H₂O (×3), сушили, фильтровали и концентрировали. Полученный неочищенный материал растворяли в минимальном количестве

ДХМ, загружали на предварительно заполненную загрузку из диоксида кремния и элюировали на колонке 40 г с использованием 0-30% MeOH/ДХМ, 20 объемов колонки. Желаемые фракции объединяли и концентрировали с получением указанного в заголовке соединения. Данное соединение использовали в примере 2.

трет-Бутил-4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил(6-(трибутилстаннил)имидазо[1,2-а]пирозин-8-ил)карбамат V.

В трубке, работающей под давлением, вместимостью 350 мл трет-бутил-6-бромимидазо[1,2-а]пирозин-8-ил(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамат IV (8150 мг, 15,39 ммоль), 1,1,1,2,2,2-гексабутилдистаннан (11,67 мл, 23,09 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладий (889,43 мг, 0,77 ммоль) и тетрабутиламмония йодид (5686,03 мг, 15,39 ммоль) объединяли в диоксане (62 мл) и нагревали до 110°C в течение ночи. По данным ЖХМС исходного вещества не оставалось. Реакционную смесь подвергали абсорбции на целите и элюировали на 160 г колонке с оксидом алюминия с использованием градиента 0-10-20-30-100% (50% EtOAc/Hex-Hex), задерживаясь при 50% на 10-15 объемов колонки, всего 50-60 объемов колонки, с получением указанного в заголовке соединения V. Данное соединение использовали в примерах 1 и 2.

Промежуточное соединение 1,02. Получение трет-бутил-(6-бром-5-метилимидазо[1,2-а]пирозин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамата X.



6-Метилпирозин-2-амин VI.

К раствору безводного хлорида цинка (II) хлорид (26,3 г, 193 ммоль) в ТГФ (150 мл) при 0°C по каплям добавляли 3 М бромид метилмагния в диэтиловом эфире (129 мл) в течение периода времени, составляющего 1 ч. Далее добавляли [1,3-бис(дифенилфосфино)пропан]никеля (II) хлорид (2,08 г, 3,85 ммоль) и полученной смеси давали нагреться до комнатной температуры. К полученной выше смеси добавляли раствор 6-хлор-2-аминопирозина (5,00 г, 38,6 ммоль) в безводном ТГФ (25 мл) и перемешивали реакционную смесь в атмосфере азота при нагревании с обратным холодильником в течение 6 ч. После этого смесь охлаждали до комнатной температуры, затем до 0°C и тщательно гасили насыщенным водным раствором хлорида аммония (50 мл). Органический слой отделяли и сушили над сульфатом натрия. Высушивающий агент отфильтровывали, а фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного 6-метилпирозин-2-амин VI, который использовали на следующей стадии без очистки.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,63 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 4,96 (bs, 2H), 2,16 (s, 3H).

3,5-Дибром-6-метилпирозин-2-амин VII.

К раствору 6-метилпирозин-2-амин VI (2,00 г, 18,3 ммоль) в ТГФ (40 мл) при 10°C по частям добавляли N-бромсукцинимид (6,70 г, 37,6 ммоль) в течение 15 мин и смеси при ее перемешивании давали нагреться до комнатной температуры. Через 2 ч реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении и полученный остаток очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, градиент, гексаны-EtOAc) с получением 3,5-дибром-6-метилпирозин-2-амин VII.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 4,93 (bs, 2H), 2,38 (s, 3H).

6,8-Дибром-5-метилимидазо[1,2-а]пирозин VIII.

Смесь 2-бром-1,1-диэтоксэтана (3,21 мл, 20,7 ммоль) и 48% водной бромистоводородной кислоты (1,0 мл) перемешивали при нагревании с обратным холодильником в течение 2 ч. Далее полученную реакцию смесь охлаждали до комнатной температуры и обрабатывали бикарбонатом натрия до прекращения выделения газа. Полученную смесь фильтровали и фильтрат разбавляли этанолом (15 мл). К данной смеси добавляли 3,5-дибром-6-метилпирозин-2-амин VII (3,00 г, 11,2 ммоль) добавляли и полученную реакцию смесь перемешивали при нагревании с обратным холодильником в течение 16 ч. После этого реакцию смесь охлаждали до комнатной температуры и концентрировали при пониженном давлении до объема, составляющего приблизительно 10 мл. Полученную суспензию фильтровали и остаток на фильтре промывали холодным этанолом (5 мл). Далее остаток на фильтре помещали в воду (50 мл) и доводили pH до ~8 карбонатом калия. Полученную суспензию фильтровали и остаток на фильтре сушили под вакуумом до постоянного веса с получением 6,8-дибром-5-метилимидазо[1,2-а]пирозина VIII.

^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3) δ 7,90 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 2,74 (s, 3H).

6-Бром-5-метил-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пирозин-8-амин IX.

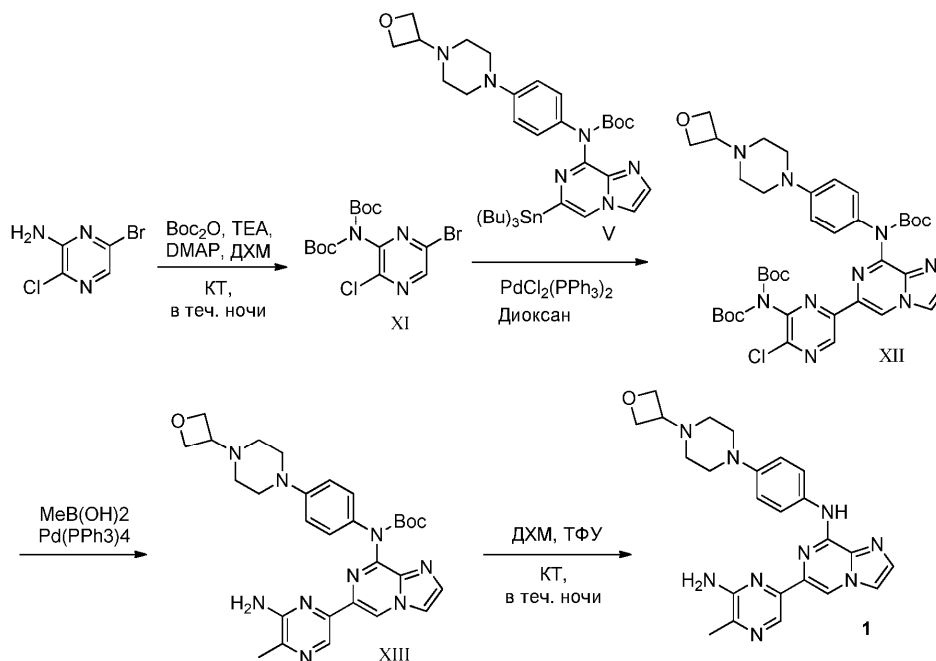
Соединение IX получали из 6,8-дибром-5-метилимидазо[1,2-а]пирозина VIII с использованием способа, описанного для получения 6-бром-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пирозин-8-амин III в примере с промежуточным соединением 1.01.

трет-Бутил-(6-бром-5-метилимидазо[1,2-а]пирозин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамат X.

Соединение X получали из 6-бром-5-метил-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пирозин-8-амин IX с использованием способа, описанного для получения трет-бутил-(6-бромимидазо[1,2-а]пирозин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамата IV в примере с промежуточным соединением 1.01. Данное соединение использовали в примере 4.

Синтез согласно примерам 1-7.

Пример 1. Получение 6-(6-амино-5-метилпирозин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пирозин-8-амин (1).



2-Бис(трет-бутоксикарбонил)амино-6-бром-3-хлорпирозин XI.

6-Бром-3-хлорпирозин-2-амин (2000 мг, 9,59 ммоль) растворяли в ДХМ (48 мл), а потом добавляли триэтиламин (3,99 мл, 28,78 ммоль), ди-трет-бутилдикрбонат (4188,12 мг, 19,19 ммоль) и N,N-диметилпирозин-4-амин (87,91 мг, 0,72 ммоль). Полученную реакцию смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение ночи. Полученный неочищенный материал промывали водой, сушили, фильтровали и концентрировали. Полученный неочищенный материал растворяли в минимальном количестве ДХМ и помещали на предварительно заполненный наполнитель из диоксида кремния (25 г) и элюировали на колонке 40 г с использованием 0-30% $\text{MeOH}/\text{ДХМ}$. Указанное в заголовке соединение XI выделяли и идентифицировали посредством ЖХМС и ЯМР. Продукт представлял собой смесь моно- и бис-бос-защищенных веществ, в основном посредством ЯМР наблюдалось бис-бос-защищенное вещество.

трет-Бутил-трет-бутоксикарбонил(6-(8-((трет-бутоксикарбонил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)амино)имидазо[1,2-а]пиазин-6-ил)-3-хлорпиазин-2-ил)карбамат XII.

трет-Бутил-4-(4-(Оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил(6-(трибутилстаннил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-ил)карбамат V (1000 мг, 1,4 ммоль), 2-бис(трет-бутоксикарбонил)амино-6-бром-3-хлорпиазин XI (552 мг, 1,35 ммоль) и $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$ (142,77 мг, 0,20 ммоль) в 1,4-диоксане (11,27 мл) подвергали микроволновому облучению в течение 20 мин при 140°C. Реакционную смесь подвергали абсорбции на целите и элюировали на колонке Gold Isco 40 г с использованием 0-10-100% (30% MeOH/ДХМ), 20 объемов колонки. Фракции 34-39 собирали и концентрировали. На основании результатов ЯМР было идентифицировано и выделено указанное в заголовке соединение XII.

трет-Бутил-(6-(6-амино-5-метилпиазин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамат XIII.

Во флаконе для обработки микроволновым излучением трет-бутил-трет-бутоксикарбонил(6-(8-((трет-бутоксикарбонил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)амино)имидазо[1,2-а]пиазин-6-ил)-3-хлорпиазин-2-ил)карбамат XII (300 мг, 0,44 ммоль), метилбороновую кислоту (794,39 мг, 13,27 ммоль), тетраakis(трифенилфосфин)палладий (51,12 мг, 0,04 ммоль) и 2 M Na_2CO_3 (0,44 мл) объединяли в ДМЭ (1,77 мл) и подвергали действию микроволнового излучения в течение 20 мин при 150°C. Полученную реакционную смесь обрабатывали с использованием 25% MeOH/ДХМ и воды. Органические слои объединяли, сушили, фильтровали и концентрировали. Полученный неочищенный материал помещали на диоксид кремния и элюировали на колонке Gold 40 г с использованием 0-5-15-25-50% (30% MeOH/ДХМ), 45 объемов колонки. Концентрировали необходимые фракции и получали трет-бутил-(6-(6-амино-5-метилпиазин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамат XIII в качестве неосновного продукта и необходимое конечное соединение 1 в виде неразделяемой смеси (всего 208 мг), которое вводили в реакцию с ТФУ.

6-(6-Амино-5-метилпиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин (1).

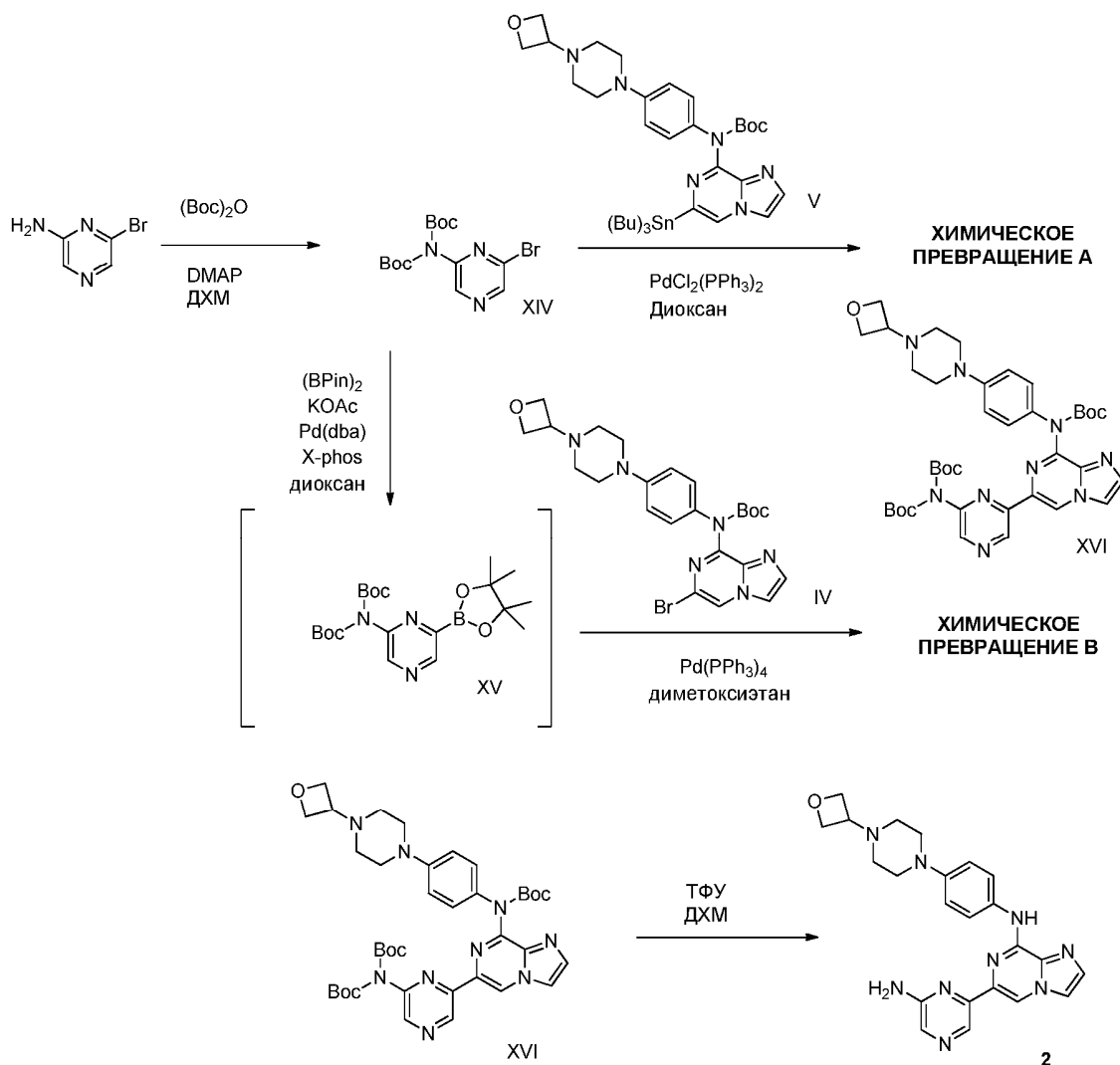
К раствору трет-бутил-6-(6-амино-5-метилпиазин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-ил(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамата XIII (48 мг, 0,09 ммоль) и 6-(6-амино-5-метилпиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин (1, 160 мг, 0,35 ммоль) в ДХМ (2,5 мл) добавляли ТФУ (0,16 мл, 2,15 ммоль). К полученной реакционной смеси добавляли дополнительное количество ТФУ (0,48 мл, 6,5 ммоль), чтобы убедиться, что реакция завершилась. Далее реакционную смесь охлаждали до 0°C и гасили насыщенным раствором NaHCO_3 , затем проводили экстракцию посредством ДХМ (5 мл×3) и объединенные органические слои промывали водой (5 мл×2), солевым раствором (5 мл×1), сушили (Na_2SO_4) с получением неочищенного продукта. Указанный неочищенный продукт подвергали абсорбции на диоксиде кремния и элюировали на колонке Gold Isco 24 г с использованием 0-15-25-40-100% (30% MeOH/ДХМ). Необходимые фракции объединяли и концентрировали с получением необходимого соединения.

ЖХМС-ИЭР+ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$: 458,22.

^1H ЯМР (300 МГц, d_6 -ДМСО) δ 9,48 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,41 (s, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,95 (d, 2H), 7,6 (s, 1H), 6,98 (d, 2H), 6,2 (s, 2H), 4,58-4,45 (dt, 4H), 3,3 (m, 1H), 3,14 (t, 4H), 2,50-2,4 (dt, 4H), 2,33 (s, 1H).

В качестве альтернативы соединение XII может быть непосредственно взято для данной стадии и с него аналогичным образом может быть снята защита с получением 5-хлорпиазинзамещенного аналога.

Пример 2. Получение 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин (2).



2-Бис(трет-бутоксикарбонил)амино-6-бромпиразин XIV.

К смеси 6-бромпиразин-2-амин (5 г, 28,7 ммоль) и ди-трет-бутилдихлоридкарбоната (25,09 г, 114,94 ммоль) добавляли ДХМ (10 мл), а после него DMAP (0,351 г, 29 ммоль). Полученную реакционную смесь нагревали до 55°C в течение 1 ч, охлаждали до КТ, полученную реакционную смесь распределяли между водой и ДХМ, очищали на диоксиде кремния и концентрировали с получением 2-бис(трет-бутоксикарбонил)амино-6-бромпиразина XIV.

ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$: 374,14.

¹H ЯМР (ДМСО) δ 8,84 (d, 2H), 1,39 (s, 18H).

трет-Бутил-(6-(6-(бис(трет-бутоксикарбонил)амино)пиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамат XVI - путь с химическим превращением А.

трет-Бутил-4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил(6-(трибутилстаннил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)карбамат V (215 мг, 0,291 ммоль) объединяли с 2-бис(трет-бутоксикарбонил)амино-6-бромпиразином XIV (217,58 мг, 0,581 ммоль), бис(трифенилфосфин)палладия(II) дихлоридом (30,61 мг, 0,044 ммоль) и 1,4-диоксаном (5 мл). Полученную реакционную смесь перемешивали в микроволновом реакторе при 120°C в течение 30 мин. Реакционную смесь гасили насыщенным раствором KF, подвергали экстракции посредством EtOAc, очищали на силикагеле и элюировали посредством EtOAc. Необходимые фракции объединяли и концентрировали с получением 100 мг (выход 46%) трет-бутил-(6-(6-(бис(трет-бутоксикарбонил)амино)пиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамата XVI.

ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^+$: 744,4.

¹H ЯМР (300 МГц d₆-ДМСО) δ 9,37 (s, 1H), 9,18 (s, 1H), 8,77 (s, 1H), 8,33 (d, 1H), 7,87 (d, 1H), 7,28-7,25 (d, 2H), 6,92-6,89 (d, 2H), 4,55-4,41 (m, 4H), 3,4 (m, 1H), 3,14-3,11 (m, 4H), 2,37-2,34 (m, 4H), 1,37 (s, 18H), 1,3 (s, 9H).

трет-Бутил-(6-(6-(бис(трет-бутоксикарбонил)амино)пиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамат XVI - путь с химическим превращением В.

Стадия 1. В сухую круглодонную колбу вместимостью 250 мл вносили 2-бис(трет-бутоксикарбонил)амино-6-бромпиразин XIV (1,0 г, 1,0 экв., 2,67 ммоль), KOAc (790 мг, 8,02 ммоль, 3,0 экв.), 4,4,4',4',5,5,5',5'-октаметил-2,2'-би(1,3,2-диоксаборолан) (750 мг, 2,94 ммоль, 1,1 экв.), Pd(dba) (171 мг, 0,187 ммоль, 0,07 экв.) и X-phos (128 мг, 0,267 ммоль, 0,1 экв.), а после этого 1,4-диоксан (25 мл), полученный раствор подвергали действию ультразвука в течение 5 мин и затем продували газообразным N₂ в течение 5 мин. Далее колбу с ее содержимым помещали в атмосферу N₂ и нагревали при 110°C в течение 90 мин. После того как произошло полное превращение в пинаколборонат, по данным ЖХМС реакционную смесь удаляли от источника тепла и давали ей остыть до КТ. После охлаждения реакционную смесь фильтровали через целит и остаток на фильтре промывали 3×20 мл EtOAc. Далее полученный раствор концентрировали до получения темно-красного-оранжевого сиропа, содержащего N,N-бисВос-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиразин-2-амин XV, который использовали непосредственно на следующей стадии.

Стадия 2. Свежеполученный N,N-бисВос-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиразин-2-амин XV (2,67 ммоль в расчете на превращение 100%, 2,0 экв. в расчете на бромид) растворяли в 20 мл 1,2-диметоксиэтана, к этому раствору добавляли трет-бутил-(6-бромимидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамат IV (707 мг, 1,34 ммоль, 1,0 экв.), Na₂CO₃ (283 мг, 2,67 ммоль, 2,0 экв.), Pd(PPh₃)₄ (155 мг, 0,134 ммоль, 0,1 экв.) и воду (10 мл) и полученный раствор дегазировали в течение 5 мин с использованием газообразного N₂. Далее полученную реакционную смесь помещали в атмосферу N₂ и нагревали при 110°C в течение 90 мин. ЖХМС продемонстрировала полное исчезновение бромидного исходного материала, реакционную смесь удаляли от источника тепла и давали ей остыть до КТ. Полученную реакционную смесь разбавляли 100 мл воды и 100 мл 20% MeOH/ДХМ и органический слой выделяли, подвергали экстракции 1× нас. NaHCO₃, 1× насыщенным соевым раствором и затем сушили над Na₂SO₄. Далее полученный раствор фильтровали и концентрировали до получения оранжево-красного твердого вещества. Далее полученный образец суспендировали в теплом MeOH, подвергали действию ультразвука, а затем фильтровали, промывая 2×20 мл холодного MeOH, после чего полученное твердое вещество кремового цвета сушили под глубоким вакуумом в течение ночи с получением 905 мг трет-бутил-(6-(6-(бис(трет-бутоксикарбонил)амино)пиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамата XVI.

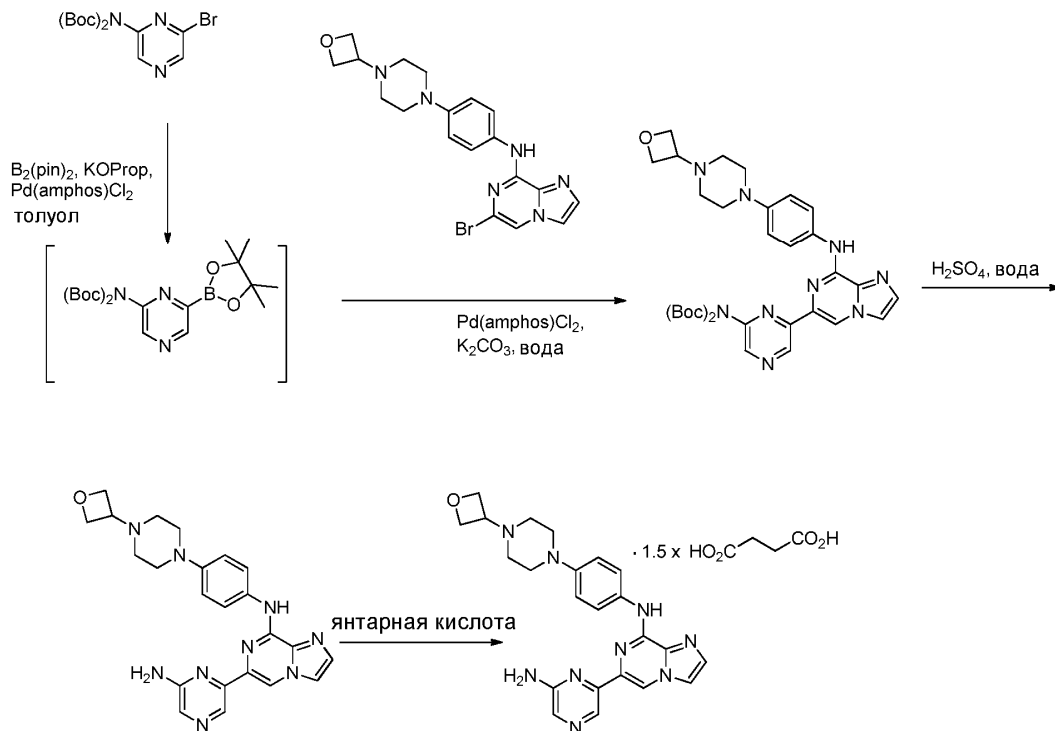
6-(6-Аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин (2).

К раствору трет-бутил-(6-(6-(бис(трет-бутоксикарбонил)амино)пиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамата XVI (200 мг, 0,269 ммоль) в ДХМ (2 мл) добавляли ТФУ (0,5 мл, 6,578 ммоль). Полученную реакционную смесь перемешивали при КТ в течение 16 ч, добавляли насыщенный раствор бикарбоната натрия, проводили экстракцию посредством EtOAc и очистку на силикагеле при элюировании 5%MeOH/EtOAc, 20%MeOH/EtOAc. Необходимые фракции объединяли и концентрировали с получением указанного в заголовке соединения 2.

ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺: 444,2.

¹H ЯМР (300 МГц d₆-DMCO) δ 9,5 (s, 1H), 8,588 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,12 (d, 1H), 7,95-7,92 (d, 2H), 7,88 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 6,99-6,96 (d, 2H), 6,46 (s, 2H), 4,57-4,53 (m, 2H), 4,48-4,44 (m, 2H), 3,43 (m, 1H), 3,15-3,12 (m, 4H), 2,41-2,38 (m, 4H).

Пример 2.1. Альтернативный способ синтеза.



Ди-трет-бутил-{6-[8-({4-[4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил]фенил}амино)имидазо[1,2-а]пиразин-6-ил]пиразин-2-ил}имидодикарбонат.

В реактор вместимостью 720 л вносили ди-трет-бутил-(6-бромпиразин-2-ил)имидодикарбонат (18,5 кг, 1,41 экв., 49 молей), бис(пинаколато)дистор (13,8 кг, 1,56 экв., 54 моля), пропионат калия (11,9 кг, 3,02 экв., 106 молей) и бис(ди-трет-бутил(4-диметиламинофенил)фосфин)дихлорпалладий (1,07 кг, 0,0043 экв., 1,5 моля), а после этого дегазированный толуол (173 л). Полученную смесь дегазировали, затем нагревали при 65°C до тех пор, пока реакция не считалась завершённой (0% трет-бутил-2-((6-бромпиразин-2-ил)(трет-бутоксикарбонил)амино)-2-оксоацетата) по данным ультраэффективной жидкостной хроматографии (УЭЖХ). После завершения реакции полученную смесь охлаждали до 23°C. После охлаждения добавляли 6-бром-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин (15,0 кг, 1,00 экв., 35 молей) и дегазировали смесь. Далее к реакционной смеси добавляли дегазированный водный раствор карбоната калия, полученный с использованием воды (54 л) и карбоната калия (20,6 г, 4,26 экв., 149 молей), и содержимое реактора дегазировали. Содержимое реактора нагревали при 65°C, пока реакция не считалась завершённой (1% 6-бром-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин) по данным УЭЖХ. После завершения реакции полученную смесь охлаждали до 24°C.

Охлажденную смесь концентрировали и затем разбавляли дихлорметаном (300 л), переносили в реактор вместимостью 1900 л и ополаскивали дихлорметаном (57 л). Вносили N-ацетил-L-цистеин (3,8 кг) и полученную смесь встряхивали в течение 15 ч. Далее добавляли воду (135 л) и полученную смесь фильтровали и ополаскивали дихлорметаном (68 л). Полученный органический слой выделяли и промывали соевым раствором, полученным с использованием воды (68 л) и хлорида натрия (7,5 кг).

Полученный органический слой фильтровали на полировочном фильтре, затем концентрировали и медленно добавляли трет-бутил-метиловый эфир (89,9 кг), поддерживая температуру на уровне 31°C. Полученное вещество охлаждали до 0°C и выдерживали, затем фильтровали, ополаскивали трет-бутил-метиловым эфиром (32,7 кг) и сушили при 40°C с получением 17,2 кг ди-трет-бутил-{6-[8-({4-[4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил]фенил}амино)имидазо[1,2-а]пиразин-6-ил]пиразин-2-ил}имидодикарбоната.

ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺: 644,3.

¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃) δ 9,43 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,84 (m, 2H), 7,63 (d, 1H), 7,61 (d, 1H), 7,04 (m, 2H), 4,71 (m, 4H), 3,59 (m, 1H), 3,27 (m, 4H), 2,55 (m, 4H), 1,46 (s, 18H).

6-(6-Аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сукцинат (пример 2).

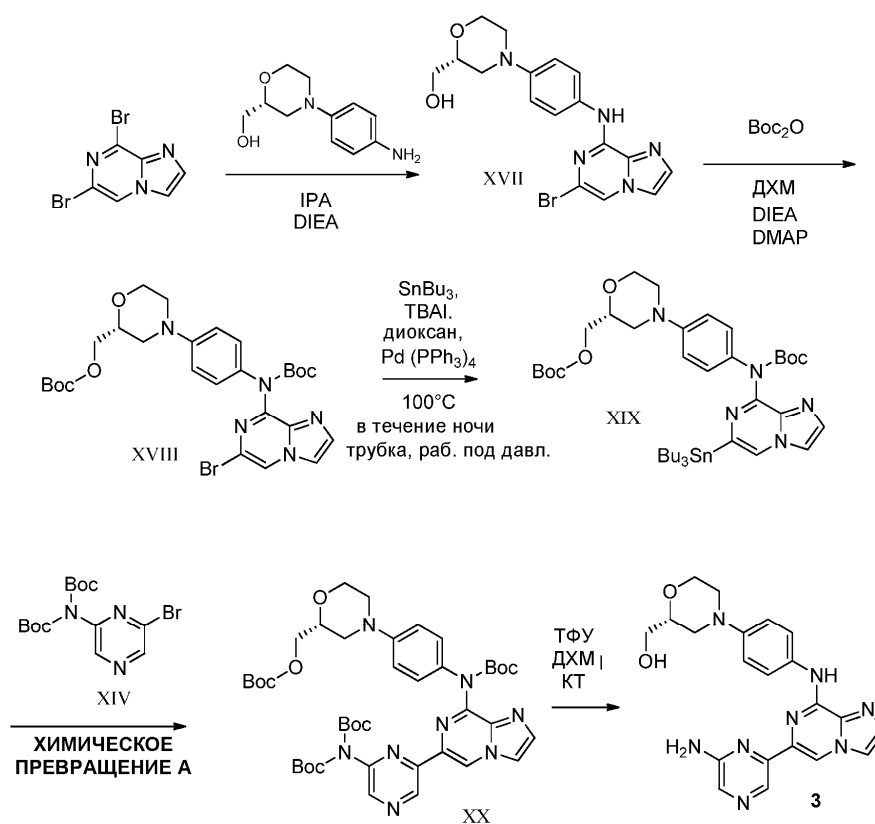
К суспензии ди-трет-бутил-{6-[8-({4-[4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил]фенил}амино)имидазо[1,2-а]пиразин-6-ил]пиразин-2-ил}имидодикарбоната (225 г, 0,35 моля, 1 моль-экв.) в воде (12 частей) добавляли раствор серной кислоты (3,1 части, 6,99 моля, 20 моль-экв.) в воде (5 частей). Полученную реакционную смесь нагревали приблизительно до 40°C и перемешивали при данной температуре в течение приблизительно 4 ч, за которые, как считалось, реакция была завершена. Полученную реакционную

смесь охлаждали приблизительно до 22°C, вносили ацетон (3 части) и добавляли раствор карбоната натрия (4,1 части, 8,75 моля, 25,0 моль-экв.) в воде (15 частей). Полученную суспензию фильтровали и полученный влажный остаток на фильтре по частям промывали водой (4×1 часть), а затем трет-бутилметилэфиром (4 части). Влажный остаток на фильтре (свободное основание согласно примеру 2) сушили приблизительно при 60°C. К суспензии сухого свободного основания согласно примеру 2 в 2-пропанол (2,3 части) добавляли раствор янтарной кислоты (в расчете на выделенное свободное основание согласно примеру 2: 0,43 части, 1,6 моль-экв.) в 2-пропанол (15 частей). Полученную суспензию нагревали приблизительно до 40°C, перемешивали при данной температуре в течение приблизительно 2 ч и затем охлаждали приблизительно до 22°C, после чего перемешивали в течение приблизительно 16 ч. Полученную суспензию фильтровали приблизительно при 22°C, влажный остаток на фильтре промывали 2-пропанолом (5 частей) и сушили приблизительно при 60°C с получением продукта.

ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺: 620,65.

¹H ЯМР (400 МГц d₆-ДМСО) δ 12,2 (ушир. s, 1,5H), 9,58 (s, 1H), 8,63 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 7,95 (d, 2H), 7,90 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,00 (d, 2H), 6,50 (s, 2H), 4,52 (dd, 4H), 3,45 (m, 1H), 3,19 (m, 4H), 2,40 (m, 10H).

Пример 3. Получение (R)-(4-(4-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-ил)амино)фенил)морфолин-2-ил)метанола (3).



(R)-(4-(4-((6-Бромимидазо[1,2-a]пиразин-8-ил)амино)фенил)морфолин-2-ил)метанол XVII.

В круглодонную колбу вместимостью 250 мл, снабженную конденсатором, вносили 6,8-дибромимидазо[1,2-a]пиразин (2000 мг, 7,22 ммоль) и добавляли 30 мл изопропанола, а после него N,N-диизопропилэтиламин (2,52 мл, 14,44 ммоль) и (R)-(4-(4-аминофенил)морфолин-2-ил)метанол (1504,12 мг, 7,22 ммоль). Полученную реакционную смесь нагревали до кипения с обратным холодильником (масляная баня 95°C) в течение ночи. Реакционную смесь охлаждали, осадок собирали путем фильтрования и промывали в изопропанол, а после этого в гексане с получением необходимого соединения XVII.

(R)-трет-Бутил-(6-бромимидазо[1,2-a]пиразин-8-ил)(4-(2-(((трет-бутоксикарбонил)окси)метил)морфолино)фенил)карбамат XVIII.

В круглодонную колбу вместимостью 250 мл помещали (R)-(4-(4-((6-бромимидазо[1,2-a]пиразин-8-ил)амино)фенил)морфолин-2-ил)метанол XVII (2,80 г, 6,9 ммоль) и добавляли ДХМ, а после него триэтиламин (2,9 мл, 2,1 г, 20,8 ммоль), DMAP (63 г, 0,52 ммоль) и ди-трет-бутилдикарбонат (3,8 г, 17,3 ммоль). Полученную реакционную смесь перемешивали в течение ночи, затем разбавляли ДХМ и водой, разделяли, промывали солевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Неочищенный материал очищали посредством хроматографии: ISCO 40 г диоксида кремния с 25 г загрузки диоксида кремния, элюирование 0-100% EtOAc/гексаном с получением соедине-

ния XVIII.

(R)-трет-Бутил-(4-(2-(((трет-бутоксикарбонил)окси)метил)морфолино)фенил)(6-(трибутилстаннил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)карбамат XIX.

(R)-трет-Бутил-(6-бромимидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(2-(((трет-бутоксикарбонил)окси)метил)морфолино)фенил)карбамат XVIII подвергали реакции согласно способу, аналогичному способу для примера с промежуточным соединением 1,01, с получением (R)-трет-бутил-(4-(2-(((трет-бутоксикарбонил)окси)метил)морфолино)фенил)(6-(трибутилстаннил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)карбамата XIX.

(R)-трет-Бутил-(6-(6-(бис(трет-бутоксикарбонил)амино)пиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(2-(((трет-бутоксикарбонил)окси)метил)морфолино)фенил)карбамат XX.

(R)-трет-бутил-(4-(2-(((трет-бутоксикарбонил)окси)метил)морфолино)фенил)(6-(трибутилстаннил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)карбамат XIX подвергали реакции с 2-бис(трет-бутоксикарбонил)амино-6-бромпиразином XIV согласно способу, аналогичному способу, обозначенному как "химическое превращение реакция А", описанному в примере 2, с получением необходимого соединения (R)-трет-бутил-(6-(6-(бис(трет-бутоксикарбонил)амино)пиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(2-(((трет-бутоксикарбонил)окси)метил)морфолино)фенил)карбамата XX.

(R)-4-(4-((6-(6-Амино-5-метилпиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)фенил)морфолин-2-ил)метанол (3).

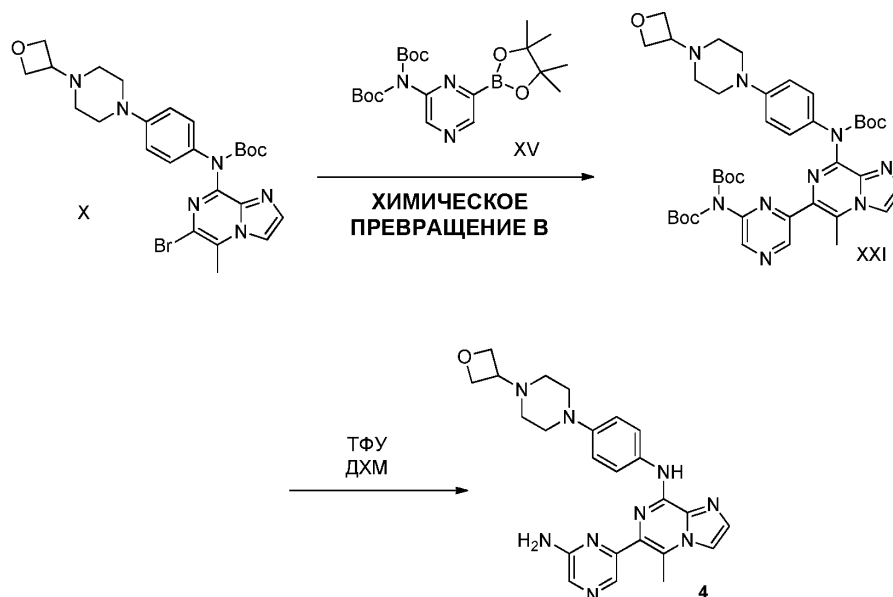
В круглодонную колбу вносили (R)-трет-бутил-(6-(6-(бис(трет-бутоксикарбонил)амино)пиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(2-(((трет-бутоксикарбонил)окси)метил)морфолино)фенил)карбамат XX (460 мг, 0,56 ммоль) в ДХМ и добавляли ТФУ (1,29 мл, 16,85 ммоль). После перемешивания в течение ~5 ч реакция была частично завершена. Добавляли дополнительные 10 экв. ТФУ и проводили перемешивание в течение ночи, а затем концентрирование при пониженном давлении. Добавляли 10% MeOH/ДХМ (~100 мл) и насыщенный водный раствор бикарбоната натрия и проводили перемешивание в течение 15 мин, разделение, экстракцию посредством ~100 мл 10%MeOH/ДХМ. Органические слои объединяли, промывали солевым раствором, сушили над Na₂SO₄, фильтровали, концентрировали при пониженном давлении и сушили под вакуумом. Полученное твердое вещество истирали с ДХМ, твердые вещества собирали посредством фильтрования и сушили под вакуумом с получением соединения 3.

ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺: 419,2.

¹H ЯМР (300 МГц d₆-DMCO) δ 9,57 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,13 (d, J=1,2 Гц, 1H), 8,06-7,90 (m, 2H), 7,87 (s, 1H), 7,62 (d, J= 1,1 Гц, 1H), 7,05-6,93 (m, 2H), 6,49 (s, 2H), 4,78 (t, J=5,8 Гц, 1H), 3,98-3,87 (m, 1H), 3,71-3,36 (m, 7H), 2,63 (td, J= 11,7, 3,4 Гц, 1H), 2,37 (dd, J=12,1, 10,5 Гц, 1H).

Соответствующий (S)-изомер или рацемическую смесь соединений получают аналогичным образом с использованием (S)-(4-(4-аминофенил)морфолин-2-ил)метанола или рацемической смеси (4-(4-аминофенил)морфолин-2-ил)метанола, соответственно, на первой стадии.

Пример 4. Получение 6-(6-аминопиразин-2-ил)-5-метил-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин (4).



Трет-бутил-(6-(6-(бис(трет-бутоксикарбонил)амино)пиразин-2-ил)-5-метилимидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамат XXI.

трет-Бутил-(6-бром-5-метилимидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамат X подвергали реакции с XV согласно способам химического превращения В, описан-

ного в примере 2, с получением необходимого соединения XXI.

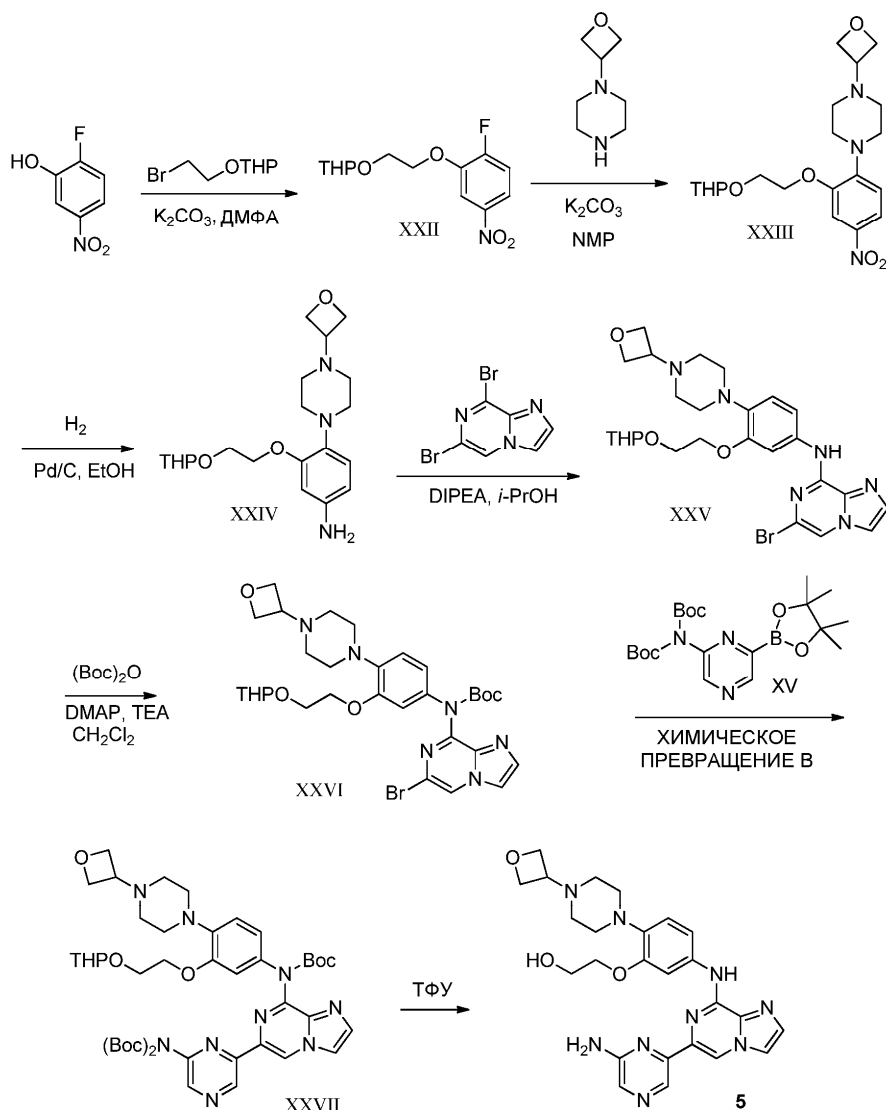
6-(6-Аминопипразин-2-ил)-5-метил-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пипразин-8-амин (4).

С соединения трет-бутил-(6-(6-(бис(трет-бутоксикарбонил)амино)пипразин-2-ил)-5-метилимидазо[1,2-а]пипразин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамат XXI снимали защиту способом, аналогичным описанному в примере 2, с получением необходимого соединения 4.

ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺: 458,32.

¹H ЯМР (300 МГц, d₆-ДМСО) δ 9,28 (s, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,89 (d, 2H), 7,83 (s, 1H), 7,7 (s, 1H), 6,91 (d, 2H), 6,46 (s, 2H), 4,6-4,4 (dt, 4H), 3,43 (m, 1H), 3,1 (t, 4H), 2,49 (s, 3H), 2,4 (t, 4H).

Пример 5. Получение 2-(5-((6-(6-аминопипразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пипразин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанола (5).



2-(2-(2-Фтор-5-нитрофенокси)этокси)тетрагидро-2H-пиран XXII.

Смесь 2-фтор-5-нитрофенола (4 г, 25 ммоль), 2-(2-бромэтокси)тетрагидро-2H-пиран (4,4 мл, 28 ммоль) и карбоната калия (4,2 г, 30 ммоль) в ДМФА (50 мл) перемешивали при 50°C в течение 16 ч. Полученную реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли EtOAc и H₂O. Водный слой отделяли и подвергали экстракции посредством EtOAc. Объединенные органические экстракты промывали H₂O (5× для удаления ДМФА) и солевым раствором и сушили над сульфатом натрия. Полученный остаток очищали посредством колоночной хроматографии на колонке ISCO Rf (колонка 40 г) при элюировании градиентом 100% гексан - 1:1 гексан:EtOAc с получением 2-(2-(2-фтор-5-нитрофенокси)этокси)тетрагидро-2H-пирана XXII.

1-(4-Нитро-2-((тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)-4-(оксетан-3-ил)пиперазин XXIII.

Смесь 2-(2-(2-фтор-5-нитрофенокси)этокси)тетрагидро-2H-пиран XXII (1550 мг, 5,43 ммоль), 1-(оксетан-3-ил)пиперазин (772 мг, 5,43 ммоль) и карбонат калия (1126,41 мг, 8,15 ммоль) в NMP (6 мл) перемешивали при 100°C в течение 8 ч. Водный слой отделяли и подвергали экстракции посредством

EtOAc. Объединенные органические экстракты промывали H₂O (5× для удаления NMP) и солевым раствором и сушили над сульфатом натрия. Полученный остаток очищали посредством колоночной хроматографии на колонке ISCO Rf (колонка 24 г) при элюировании градиентом 100% ДХМ - 60:35:5 ДХМ:Et₂O:MeOH с получением 1-(4-нитро-2-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)-4-(оксетан-3-ил)пиперазина XXIII.

4-(4-(Оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)анилин XXIV.

К суспензии 1-(4-нитро-2-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)-4-(оксетан-3-ил)пиперазина XXIII (2100 мг, 5,1 ммоль) в этаноле (50 мл) добавляли 10% Pd/C (влажность 50%, сухой вес 390 мг) в бутылки Парра для гидрогенизации вместимостью 500 мл. Из бутылки откачивали воздух, в нее нагнетали газ водорода до давления 50 psi (примерно 345 кПа) и встряхивали при КТ в течение 2 ч в аппарате Парра для гидрогенизации. Полученную реакционную смесь фильтровали и промывали этанолом. Фильтрат концентрировали под вакуумом с получением 4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)анилина XXIV.

6-Бром-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)имидазо[1,2-а]пиперазин-8-амин XXV.

К раствору 4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)анилина XXIV (619 мг, 2,17 ммоль) и 6,8-дибромимидазо[1,2-а]пиперазина (601 мг, 2,2 ммоль) в IPA (15 мл) добавляли N,N-диизопропилэтиламин (0,95 мл, 5,43 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 110°C в течение 16 ч. После этого добавляли ДХМ (10 мл) и насыщенный водный раствор NaHCO₃ (15 мл). Полученный водный слой разделяли и подвергали экстракции посредством ДХМ (2×10 мл). Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором (10 мл) и сушили над сульфатом натрия. Полученный остаток очищали посредством колоночной хроматографии на колонке ISCO Rf (колонка 24 г) при элюировании градиентом 100% ДХМ - 60:35:5 ДХМ:Et₂O:MeOH с получением 6-бром-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)имидазо[1,2-а]пиперазин-8-амин XXV.

трет-Бутил-(6-бромимидазо[1,2-а]пиперазин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)карбамат XXVI.

6-Бром-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)имидазо[1,2-а]пиперазин-8-амин XXV (1,2 г, 2,4 ммоль) подвергали реакции согласно способу, аналогичному способу, приведенному под заголовком, описанном в примере с промежуточным соединением 1.01 (превращение III в IV) с получением трет-бутил-(6-бромимидазо[1,2-а]пиперазин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)карбамата XXVI.

трет-Бутил-(6-(6-(бис(трет-бутоксикарбонил)амино)пиперазин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиперазин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)карбамат XXVII.

трет-Бутил-(6-бромимидазо[1,2-а]пиперазин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)карбамат XXVI подвергали реакции с XV согласно способам с химическим превращением В, описанным в примере 2, с получением необходимого соединения - трет-бутил-(6-(6-(бис(трет-бутоксикарбонил)амино)пиперазин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиперазин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)карбамата XXVII.

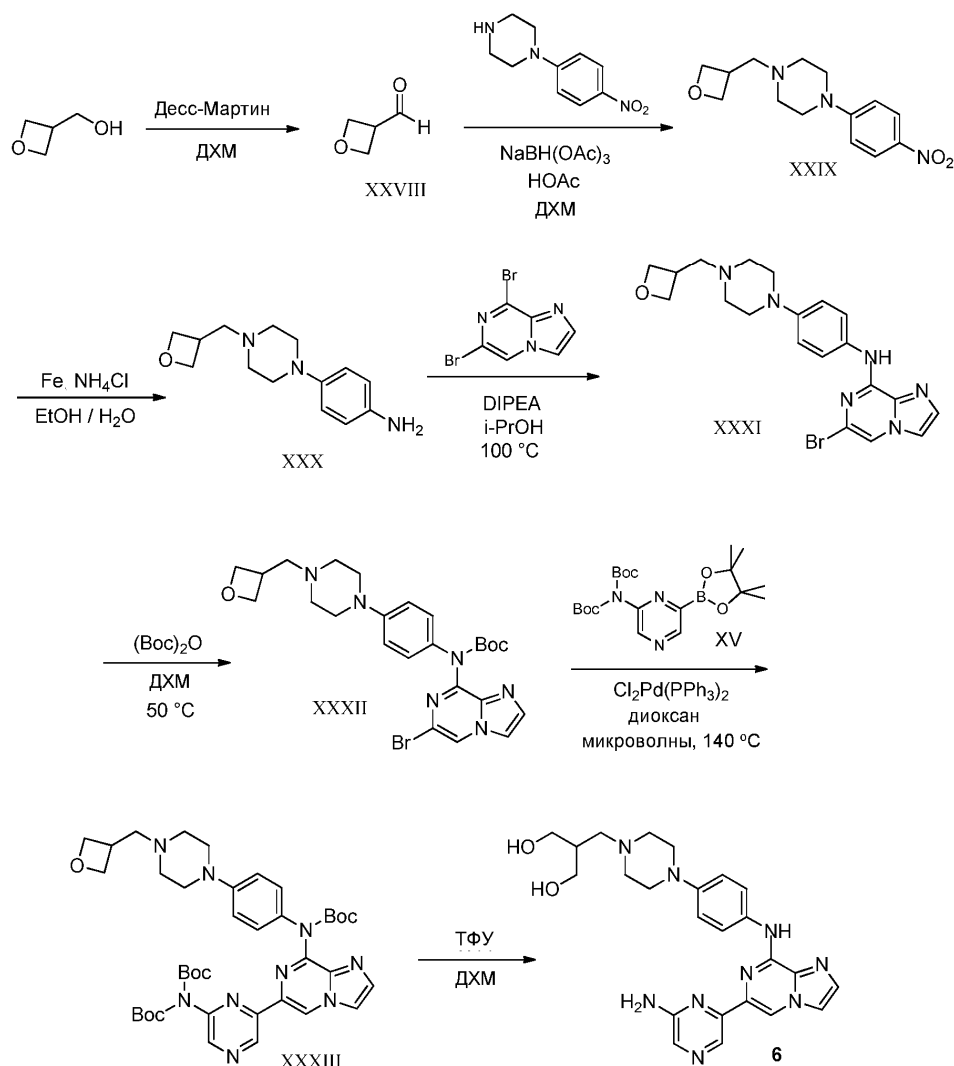
2-(5-((6-(6-Аминопиперазин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиперазин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанол (5).

С соединения трет-бутил-(6-(6-(бис(трет-бутоксикарбонил)амино)пиперазин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиперазин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)карбамат XXVII (313 мг, 0,35 ммоль) снимали защиту посредством способа, аналогичного способу, описанному в примере 2, с получением 2-(5-((6-(6-аминопиперазин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиперазин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанола (5).

ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺: 504,3.

¹H ЯМР (300 МГц, d₆-DMSO) δ 9,52 (s, 1H), 8,61 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,14 (d, J=1,1 Гц, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,81 (d, J=2,3 Гц, 1H), 7,74-7,60 (m, 2H), 6,90 (d, J=8,6 Гц, 1H), 6,47 (s, 2H), 5,74 (s, 1H), 4,86-4,76 (m, 1H), 4,50 (dt, J=25,6, 6,3 Гц, 4H), 4,04 (t, J=5,1 Гц, 2H), 3,73 (q, J=5,1 Гц, 2H), 3,51-3,42 (m, 1H), 3,02 (s, 4H), 2,40 (s, 4H).

Пример 6. Получение 2-((4-(((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)фенил)пиперазин-1-ил)метил)пропан-1,3-диола (6).



Оксетан-3-карбальдегид XXVIII.

В круглодонной колбе, снабженной якорем мешалки, оксетан-3-илметанол (2,00 г, 22,7 ммоль) растворяли в ДХМ (50 мл) и добавляли периодинан Десса-Мартина (10,67 г, 28,38 ммоль) одной порцией. Реакционную смесь перемешивали при КТ в течение ночи. Полученные твердые вещества профильтровывали через целит и промывали посредством ДХМ (3 мл×5).

Фильтрат удаляли и концентрировали под вакуумом, а полученный неочищенный оксетан-3-карбальдегид XXVIII непосредственно использовали на следующей стадии.

1-(4-Нитрофенил)-4-(оксетан-3-илметил)пиперазин XXIX.

В круглодонную колбу, снабженную якорем мешалки, вносили оксетан-3-карбальдегид XXVIII (0,977 г, 11,35 ммоль), 1-(4-нитрофенил)пиперазин (1,18 г, 5,68 ммоль) в ДХМ (100 мл) и HOAc (1,70 г, 28,38 ммоль) в ДХМ (2 мл). Через 5 мин добавляли NaBH(OAc)₃ (24,06 г, 113,05 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Большую часть летучих веществ удаляли в вакууме. Добавляли ДХМ (200 мл), а затем насыщенный водный раствор NaHCO₃ (20 мл) и полученную смесь перемешивали в течение 20 мин. Органическую фазу отделяли и промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃ (20 мл×3), соевым раствором (20 мл×1), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и удаляли растворители под вакуумом. Полученный остаток пропускали через колонку с силикагелем (MeOH:ДХМ=0:100 до 5:95 до 25:75) с получением необходимого соединения XXIX.

4-(4-(Оксетан-3-илметил)пиперазин-1-ил)анилин XXX.

В круглодонную колбу, снабженную якорем мешалки, вносили 1-(4-нитрофенил)-4-(оксетан-3-илметил)пиперазин XXIX (3,20 г, 11,54 ммоль), этанол (60 мл) и воду (60 мл). Добавляли железо (4,51 г, 80,77 ммоль) и хлорид аммония (4,32 г, 80,77 ммоль), после чего реакционную смесь нагревали при 80°C в течение 1 ч, а затем фильтровали через целит и промывали ДХМ (5 мл×5). Полученный фильтрат подвергали экстракции посредством ДХМ (20 мл×3). Объединенные органические экстракты промывали водой (20 мл×2), соевым раствором (20 мл×1), сушили над Na₂SO₄ и концентрировали под вакуумом.

Получали необходимый 4-(4-(оксетан-3-илметил)пиперазин-1-ил)анилин XXX.

6-Бром-N-(4-(4-(оксетан-3-илметил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин XXXI.

В запаиваемую трубку, снабженную якорем мешалки, вносили 4-(4-(оксетан-3-илметил)пиперазин-1-ил)анилин XXX (1,19 г, 4,81 ммоль), 6,8-дибромимидазо[1,2-а]пиразин (1,33 г, 4,81 ммоль), изопропанол (24,1 мл) и диизопропилэтиламин (1,37 г, 10,58 ммоль), и полученную реакционную смесь нагревали при 100°C в течение ночи. Большую часть растворителей удаляли под вакуумом и к полученной смеси добавляли ДХМ (200 мл). Полученный раствор промывали H₂O (20 мл×2), солевым раствором (20 мл×1), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и удаляли растворители под вакуумом. Полученный остаток пропускали через колонку с силикагелем (MeOH:ДХМ=5:95) и получали необходимое вещество XXXI, 0,692 г в виде твердого вещества светло-красного цвета.

трет-Бутил-(6-бромимидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(1-(оксетан-3-илметил)пиперидин-4-ил)фенил)карбамат XXXII.

В круглодонную колбу, снабженную якорем мешалки, вносили 6-бром-N-(4-(4-(оксетан-3-илметил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин XXXI (560 мг, 1,27 ммоль), ДХМ (11 мл), ди-трет-бутилдикарбонат (414,4 мг, 1,90 ммоль) и триэтиламин (640,5 мг, 6,33 ммоль). Реакционную смесь нагревали при 50°C в течение ночи. Добавляли ДХМ (200 мл) и полученный раствор промывали водой (20 мл×2), солевым раствором (20 мл×1), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и удаляли растворители под вакуумом. Посредством колоночной хроматографии получали необходимое соединение XXXII в виде твердого вещества желтого цвета.

трет-Бутил-(6-(6-(бис(трет-бутоксикарбонил)амино)пиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-илметил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамат XXXIII.

В круглодонную колбу, снабженную якорем мешалки, вносили трет-бутил-(6-бромимидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-илметил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамат XXXII (150 мг, 0,276 ммоль), N,N-бисВос-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пиразин-2-амин XV (255,8 мг, 0,607 ммоль) в ДМЭ (2,3 мл), Pd(PPh₃)₄ (16,0 мг, 0,14 ммоль), водный раствор Na₂CO₃ (1,0 н., 0,91 мл, 0,91 ммоль) и ДМЭ (2 мл). Полученную смесь нагревали при 75°C в течение 2 ч, затем добавляли ДХМ (200 мл), полученную смесь промывали водой (30 мл×3), солевым раствором (30 мл×1), сушили над MgSO₄, фильтровали и удаляли растворители под вакуумом. Очистка на колонке с силикагелем (MeOH:ДХМ=5:95) позволила получить необходимое соединение XXXIII.

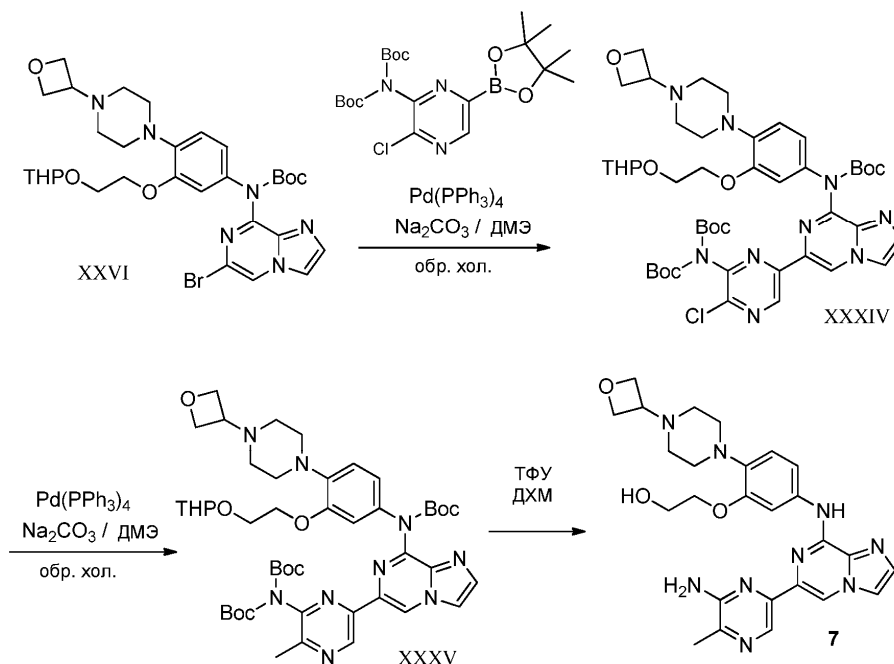
2-((4-(4-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)фенил)пиперазин-1-ил)метил)пропан-1,3-диол (6).

К раствору трет-бутил-(6-(6-(бис(трет-бутоксикарбонил)амино)пиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-илметил)пиперазин-1-ил)фенил)карбамата XXXIII (250 мг, 0,33 ммоль) в ДХМ (30 мл) добавляли ТФУ (940,3 мг, 8,25 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли дополнительное количество ТФУ (752,2 мг, 6,60 ммоль) и проводили перемешивание при комнатной температуре в течение ночи. Большую часть растворителей удаляли под вакуумом, добавляли ДХМ (200 мл) и насыщенный водный раствор NaHCO₃ (30 мл) и полученную смесь перемешивали в течение 30 мин. Органическую фазу отделяли, промывали насыщенным водным раствором NaHCO₃ (20 мл×4), солевым раствором (20 мл×1). Водную фазу подвергали экстракции посредством ДХМ (30 мл×2). Объединенные органические фазы промывали солевым раствором (20 мл×1), сушили над Na₂SO₄, фильтровали и удаляли растворители под вакуумом. Полученный неочищенный материал очищали на колонке ISCO с использованием MeOH:ДХМ=0:100 до 5:95 до 7,5:92,5 до 25:75 для элюирования необходимых соединений. Получали два соединения: первое - соединение оксетана, а второе - необходимое соединение 6.

ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺: 476.

¹H ЯМР (300 МГц, d₆-DMCO) δ 9,51 (s, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 8,14 (d, J=1,5 Гц, 1H), 7,95 (d, J=9 Гц, 2H), 7,90 (s, 1H), 7,64 (s, 1H), 6,99 (d, J=9 Гц, 2H), 6,48 (s, 2H), 4,51 (ушир. S, 2H), 3,43 (d, J=6 Гц, 4H), 3,12 (ушир. m, 4H), 2,54 (ушир. m, 4H), 2,34 (d, J=7,2 Гц, 2H), 1,83 (m, 1H).

Пример 7. Получение 2-(5-((6-(6-амино-5-метилпипразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пипразин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанола (7).



трет-Бутил-трет-бутоксикарбонил(6-(8-((трет-бутоксикарбонил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)амино)имидазо[1,2-а]пипразин-6-ил)-3-хлорпипразин-2-ил)карбамат XXXIV.

В колбу, снабженную обратным холодильником (reflux condenser), вносили трет-бутил-(6-бромимидазо[1,2-а]пипразин-8-ил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)карбамат XXVI (полученный, как описано в примере 5) (352 мг, 0,52 ммоль), 2-(бис-вос-амино)-3-хлор-6-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)пипразин (полученный способом, аналогичным способу, используемому в примере 2, для получения соединения XV) (500 мг, 1,1 ммоль), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (30 мг, 0,03 ммоль) в карбонате натрия (1,6 мл, 1 М в H_2O) и ДМЭ (4,8 мл). Полученную смесь нагревали до кипения с обратным холодильником в течение 1 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли ДХМ и H_2O . Полученный водный слой отделяли и подвергали экстракции посредством ДХМ. Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством колоночной хроматографии на колонке ISCO Rf (колонка 4 г) при элюировании градиентом 100% ДХМ-100% 60/35/5 ДХМ/ Et_2O /MeOH, соответствующие фракции объединяли и концентрировали с получением необходимого соединения - трет-бутил-трет-бутоксикарбонил(6-(8-((трет-бутоксикарбонил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)амино)имидазо[1,2-а]пипразин-6-ил)-3-хлорпипразин-2-ил)карбамата XXXIV.

трет-Бутил-трет-бутоксикарбонил(6-(8-((трет-бутоксикарбонил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)амино)имидазо[1,2-а]пипразин-6-ил)-3-метилпипразин-2-ил)карбамат XXXV.

Во флакон для обработки микроволновым излучением вносили трет-бутил-трет-бутоксикарбонил(6-(8-((трет-бутоксикарбонил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)амино)имидазо[1,2-а]пипразин-6-ил)-3-хлорпипразин-2-ил)карбамат XXXIV (258 мг, 0,28 ммоль), метилбороновую кислоту (503 мг, 8,4 ммоль), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (32 мг, 0,03 ммоль) в карбонате натрия (0,8 мл, 1 М в H_2O) и ДМЭ (2,5 мл). Полученную смесь нагревали при 150°C в течение 20 мин. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, разбавляли ДХМ и H_2O . Полученный водный слой отделяли и подвергали экстракции посредством ДХМ. Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством колоночной хроматографии на колонке ISCO Rf (колонка 4 г) при элюировании градиентом 100% ДХМ-100% 75/18/7 ДХМ/ Et_2O /MeOH с получением необходимого соединения - трет-бутил-трет-бутоксикарбонил(6-(8-((трет-бутоксикарбонил)(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этокси)фенил)амино)имидазо[1,2-а]пипразин-6-ил)-3-метилпипразин-2-ил)карбамата XXXV.

2-(5-((6-(6-Амино-5-метилпипразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пипразин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанол (7).

К раствору трет-бутил-трет-бутоксикарбонил(6-(8-((трет-бутоксикарбонил)(4-(4-(оксетан-3-

ил)пиперазин-1-ил)-3-(2-((тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)окси)этоксифенил)амино)имидазо[1,2-а]пиазин-6-ил)-3-метилпиазин-2-ил)карбамата XXXV (165 мг, 0,18 ммоль) в ДХМ (2,2 мл) добавляли ТФУ (1,1 мл, 0,11 ммоль). Полученную смесь перемешивали при КТ в течение 16 ч. Реакционную смесь разбавляли 9:1 ДХМ:МеОН и Н₂О. Полученный водный слой отделяли и подвергали экстракции посредством 9:1 ДХМ:МеОН. Объединенные органические экстракты промывали солевым раствором, сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством колоночной хроматографии при элюировании градиентом 100% 75/18/7 ДХМ/Еt₂О/МеОН-100% 70/20/10 ДХМ/Еt₂О/МеОН с получением необходимого соединения - 2-(5-((6-(6-амино-5-метилпиазин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанол (7, 56 мг, 59%).

ЖХМС-ИЭР⁺ (m/z): [M+H]⁺: 518,2.

¹H ЯМР (300 МГц, d₆-ДМСО) δ 9,49 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,13 (d, J=1,1 Гц, 1H), 7,85-7,66 (m, 2H), 7,62 (d, J=1,1 Гц, 1H), 6,90 (d, J=8,6 Гц, 1H), 6,25 (s, 2H), 4,87-4,77 (m, 1H), 4,50 (dt, J=25,2, 6,3 Гц, 4H), 4,04 (t, J=5,1 Гц, 2H), 3,74 (q, J=5,2 Гц, 2H), 3,51-3,39 (m, 1H), 3,10-2,95 (m, 4H), 2,45-2,35 (m, 4H), 2,34 (s, 3H).

В качестве альтернативы соединение XXXIV может быть взято на данной стадии непосредственно, и с него аналогичным образом может быть снята защита с получением 5-хлорпиазинзамещенного аналога.

Формы мономезилата и сукцината.

Анализ мономезилатных (МСК) и сукцинатных форм соединения согласно примеру 2, приведенных в настоящем описании, методом рентгеновской порошковой дифракции (XRPD) проводили на дифрактометре (PANalytical XPERT-PRO, PANalytical B.V., Almelo, Нидерланды) с использованием излучения меди (Cu Kα, λ=1,5418 Å). Образцы для анализа готовили путем помещения измельченного в порошок образца в центр алюминиевого держателя, снабженного пластинкой для нулевого фона. Генератор работал при напряжении 45 кВ и силе тока 40 мА.

Использовали щели Соллера 0,02 рад, антирассеивающую щель 1,0° и щель расходимости. Скорость вращения образца составляла 2 с. Сканирование проводили от 2 до 40° 2-тета. Анализ данных проводили посредством X'Pert Highscore, версия 2.2c (PANalytical B.V., Almelo, Нидерланды) и программного обеспечения для просмотра данных X'Pert data viewer, версия 1.2d (PANalytical B.V., Almelo, Нидерланды). Кривые XRPD для форм I и II мономезилата получали с использованием следующих установок прибора: 45 кВ, 40 мА, Cu Kα, λ=1,5418 Å, диапазон сканирования 2, -40°, размер шага 0,0167°, время подсчета 15,875 с. Кривые XRPD для форм I и II сукцината получали с использованием следующих установок прибора: 45 кВ, 40 мА, Cu Kα, λ=1,5418 Å, диапазон сканирования 2, -40°, размер шага 0,0084°, время подсчета 95,250 с.

Спектры ¹H ЯМР мономезилатных (МСК) и сукцинатных форм соединения согласно примеру 2 получали на приборе Varian 400-MR 400 МГц с устройством для смены проб 7620AS. Исходные параметры по протонам были следующие: спектральная ширина от 14 до -2 ppm (6397,4 Гц); релаксационная задержка 1 с; время экспозиции 2,5559 с; число сканирований или повторов 8; температура 25°C. Образцы готовили в диметилсульфоксиде-d₆, если не указано иное. Офлайн анализ проводили с использованием программного обеспечения MNova.

Пример 8. Форма 16-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин мономезилата.

Форму I соли метансульфоновой кислоты (МСК) получали путем растворения 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин (пример 2) в 11 объемах смеси ацетон/Н₂О (36:64 об.%) с 1 моль-эквивалентом метансульфоновой кислоты (МСК) при комнатной температуре. В полученный раствор вносили 19 объемов ацетона в течение 1 ч и перемешивали содержимое реактора при комнатной температуре в течение ночи.

Анализ методом XRPD для формы I 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин мономезилата проводили, как описано выше, и получали дифракционную кривую, представленную на фиг. 1, с пиками, приведенными в ниже в таблице.

№	Полож. [°2-тета]	Отн. инт. [%]
1	19,6606	100
2	17,2746	93,07
3	17,8971	69,96
4	21,6306	65,74
5	25,7805	59,16
6	18,7593	51,5
7	13,7252	48,77
8	15,7206	41,91
9	24,7364	38,09
10	18,4345	36,84

В одном из вариантов реализации форма I 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-

ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин мономезилата может характеризоваться пиками XRPD 19,7 (19,6606), 17,3 (17,2746), 17,9 (17,8971), 21,6 (21,6306) и 25,8 (25,7805). В другом варианте реализации форма I 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин мономезилата может характеризоваться пиками XRPD 19,7 (19,6606), 17,3 (17,2746), 17,9 (17,8971) и 21,6 (21,6306). В другом варианте реализации форма I 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин мономезилата может характеризоваться пиками XRPD 6,0, 6,2, 8,6 и 9,6.

Анализ методом ЯМР для формы I мономезилатной соли 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин I проводили как описано выше и в результате получали спектр ЯМР, представленный на фиг. 2.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 10,57 (s, 1H), 9,60 (s, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,17 (d, J=1,2 Гц, 1H), 8,03-7,96 (m, 2H), 7,90 (s, 1H), 7,69 (d, J=1,2 Гц, 1H), 7,09 (d, J=9,0 Гц, 2H), 4,78 (p, J=8,0 Гц, 4H), 4,49 (m, 1H), 4,00-2,8 (m, 10H), 2,32 (s, 3H).

Дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК).

Анализ методом ДСК осуществляли для каждого из соединений согласно примерам, приведенным в настоящем описании, с использованием прибора TA Instruments Q2000 для ДСК. Образец помещали в алюминиевый тигель для ДСК и записывали точный вес. Тигель накрывали крышкой и затем либо обжимали, либо герметично запаивали. Ту же ячейку нагревали при продувке азотом со скоростью 10°C/мин до конечной температуры 300°C. В качестве калибровочного стандарта использовали индий.

Результаты анализа методом ДСК для формы I мономезилатной соли 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин, проведенного как описано выше, представлены на фиг. 3.

Термогравиметрический анализ (ТГА).

ТГА проводили для каждого из соединений согласно примерам, приведенным в настоящем описании, с использованием прибора TA Instruments Q5000 TGA. Каждый образец помещали в алюминиевый тигель для образцов и помещали в печь для термогравиметрического анализа. Печь нагревали в атмосфере азота со скоростью 10°C/мин до конечной температуры 300°C. Печь для ТГА калибровали с применением метода по точкам Кюри с использованием магнитов.

Результаты анализа методом ТГА для формы I мономезилатной соли 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин, проведенного как описано выше, представлены на фиг. 4.

Пример 9. Форма II 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин мономезилата.

Форму II мономезилатной соли 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин получали путем сушки формы I мономезилатной соли 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин (пример 8) в вакуумной печи при ~40°C с продувкой N₂.

Анализ методом XRPD для формы II 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин мономезилата проводили, как описано выше, и в результате получали дифракционную кривую, представленную на фиг. 5, с пиками, приведенными ниже в таблице.

№	Полож. [°2 тета]	Отн. инт. [%]
1	17,2698	100
2	25,1384	67,84
3	20,4423	63,66
4	19,5732	62,11
5	18,5264	50,36
6	17,7884	50,07
7	21,6273	45,52
8	15,2397	44
9	6,855	35,01
10	13,65	26

В одном из вариантов реализации форма II 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин мономезилата может характеризоваться пиками XRPD 17,3 (17,2698), 25,1 (25,1384), 20,4 (20,4423), 19,6 (19,5732) и 18,5 (18,5264). В дополнительном варианте реализации форма II 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин мономезилата может характеризоваться пиками XRPD 17,3 (17,2698), 25,1 (25,1384), 20,4 (20,4423) и 19,6 (19,5732). В другом варианте реализации форма II 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин мономезилата может характеризоваться пиками XRPD 6,1, 6,9, 11,0 и 13,6.

В результате анализа методом ЯМР для формы II мономезилатной соли 6-(6-аминопиазин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиазин-8-амин, проведенного, как описано выше, был получен ЯМР-спектр, представленный на фиг. 6.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 9,61 (s, 1H), 8,63 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,19 (d, J=1,2 Гц, 1H), 8,02-7,95 (m, 2H), 7,91 (s, 1H), 7,72 (d, J=1,2 Гц, 1H), 7,13-7,06 (m, 2H), 4,85-4,72 (m, 4H), 4,53-4,45 (m, 1H), 4,30-2,75 (m, 10H), 2,34 (s, 3H).

Результаты анализа методом ДСК для формы II мономезилатной соли 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин, проведенного, как описано выше, представлены на фиг. 7.

Результаты анализа методом ТГА для формы II мономезилатной соли 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин, проведенного, как описано выше, представлены на фиг. 8.

Пример 10. Форма I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин сукцината.

Форму I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин сукцината получали путем растворения 1,6 моль-экв. янтарной кислоты в ТГФ и последующего добавления полученного кислого раствора 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин. Далее полученное вещество перемешивали при комнатной температуре с магнитной мешалкой в течение ночи.

Анализ методом XRPD для формы I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин сукцината проводили, как описано выше, и в результате получали дифракционную кривую, представленную на фиг. 9, с пиками, приведенными ниже в таблице.

№	Полож. [°2-тета]	Отн. инт. [%]
1	16,5	100
2	24,5	38,64
3	17,7	9,27
4	28,4	8,68
5	21,8	7,57
6	8,0	6,53
7	23,1	4,59
8	12,1	4,38
9	8,3	3,78
10	27,1	3,65

В одном из вариантов реализации форма I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин сукцината может характеризоваться пиками XRPD 16,5, 24,5, 17,7, 28,4 и 21,8. В другом варианте реализации форма I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин сукцината может характеризоваться пиками XRPD 16,5, 24,5, 8,0 и 8,3.

В результате анализа методом ЯМР формы I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин сукцината, проведенного, как описано выше, был получен спектр ЯМР, представленный на фиг. 10.

¹H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d₆) δ 12,12 (s, 2H), 9,48 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,12 (d, J=1,1 Гц, 1H), 7,97-7,86 (m, 3H), 7,62 (d, J=1,1 Гц, 1H), 7,01-6,94 (m, 2H), 6,45 (s, 2H), 4,55 (t, J=6,5 Гц, 2H), 4,46 (t, J=6,1 Гц, 2H), 3,49-3,38 (m, 1H), 3,13 (t, J=4,9 Гц, 4H), 2,40 (s, 10H).

Результаты анализа методом ДСК для формы I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин сукцината, проведенного, как описано выше, представлены на фиг. 11.

Результаты анализа методом ТГА для формы I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин сукцината, проведенного, как описано выше, представлены на фиг. 12.

Процесс получения формы I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин сукцината также повторяли с использованием IPA, ацетона и 2-МеТНФ в качестве растворителей.

Пример 11. Форма II 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин сукцината.

К свободному основанию 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-a]пиразин-8-амин добавляли 10,0 части 2-пропанола, после чего осуществляли интенсивное встряхивание с образованием суспензии. Получали отдельный раствор янтарной кислоты (0,43 части, 1,6 моль-экв.) в 2-пропаноле (15 частей) при температуре окружающей среды и добавляли его к указанной суспензии. Далее полученную суспензию встряхивали при комнатной температуре в течение примерно 1 дня. К указанной суспензии добавляли другой раствор янтарной кислоты (0,09 части, 0,3 моль-экв.) в 2-пропаноле (3 части) и полученную суспензию встряхивали при комнатной температуре в течение примерно двух дней. Получали дополнительный раствор янтарной кислоты (0,27 части, 1,0 моль-экв.) в 2-пропаноле (8 частей) при комнатной температуре, добавляли его к указанной суспен-

зии и полученную суспензию встряхивали в течение примерно 2 дней. Далее температуру содержимого доводили до 40°C и полученную суспензию встряхивали в течение примерно двух часов. Далее температуру содержимого обратно доводили до комнатной и осуществляли встряхивание в течение примерно 16 ч. Далее полученную суспензию фильтровали, опрыскивали 2-пропанолом (7,0 части) и сушили при 60°C.

Анализ методом XRPD для формы II 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сукцината проводили, как описано выше, и в результате получили дифракционную кривую, представленную на фиг. 13, с пиками, приведенными ниже в таблице.

№	Полож. [°2 тета]	Отн. инт. [%]
1	24,9821	100
2	16,3186	38,39
3	21,952	18,44
4	7,8958	17,62
5	7,5828	6,9
6	28,5998	6,52
7	11,3329	5,73
8	30,8568	5,48
9	28,0273	5,21
10	21,5026	4,73

В одном из вариантов реализации форма II 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сукцината может характеризоваться пиками XRPD 25,0 (24,9821), 16,3 (16,3186), 22,0 (21,952), 7,9 (7,8958) и 7,6 (7,5828). В другом варианте реализации форма II 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сукцината может характеризоваться пиками XRPD 25,0 (24,9821), 16,3 (16,3186), 7,9 (7,8958) и 7,6 (7,5828).

В результате анализа методом ЯМР для формы II 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сукцината, проведенного, как описано выше, был получен ЯМР-спектр, представленный на фиг. 14.

¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ 12,13 (s, 2H), 9,48 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,47z (s, 1H), 8,12 (d, J=1,1 Гц, 1H), 7,97-7,86 (m, 3H), 7,62 (d, J=1,1 Гц, 1H), 7,02-6,94 (m, 2H), 6,45 (s, 2H), 4,55 (t, J=6,5 Гц, 2H), 4,46 (t, J=6,0 Гц, 2H), 3,44 (p, J=6,3 Гц, 1H), 3,17-3,10 (m, 4H), 2,40 (s, 10H), 1,02 (d, J=6,1 Гц, 2H).

Результаты анализа методом ДСК для формы II 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сукцината, проведенного как описано выше, представлены на фиг. 15.

Результаты анализа методом ТГА для Формы II 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сукцината, проведенного, как описано выше, представлены на фиг. 16.

Биологические примеры.

Пример 12. Биохимическое исследование Syk с высокой скоростью обработки.

Активность Syk определяли с использованием KinEASE (Cisbio), иммуноанализа с разрешенным по времени флуоресцентным резонансным переносом энергии (англ.: time-resolved fluorescence resonance energy transfer, TR-FRET). В данном исследовании Syk катализирует фосфорилирование XL665-меченного пептидного субстрата. С полученным фосфорилированным пептидом связывается конъюгированное с европием фосфотирозинспецифичное антитело. Образование фосфорилированного пептида количественно оценивали посредством TR-FRET с использованием европия в качестве донора и XL665 в качестве акцептора в 2-этапном исследовании по конечным точкам. Вкратце тестируемые соединения серийно разводили в DMSO и помещали в белые несвязывающие 384-луночные планшеты малого объема Corning с использованием акустического распределителя жидкости Echo 550 (Labcyte®). Фермент Syk и субстраты распределяли в планшеты для анализа с использованием Multi-Flo (Bio-Tek Instruments). Стандартные 5 мкл реакционной смеси содержали 20 мкМ АТФ, 1 мкМ биотинилированный пептид, 0,015 нМ Syk в реакционном буфере (50 мМ Hepes, pH 7,0, 0,02% NaN₃, 0,1% бычий сывороточный альбумин, 0,1 мМ ортованадат, 5 мМ MgCl₂, 1 мМ DTT, 0,025% NP-40). После инкубирования в течение 30 мин при комнатной температуре добавляли 5 мкл раствора для окончания и определения (1:200 раствора, меченного криптатом европия пептидного антитела для прекращения фосфорилирования и 125 нМ индикатора стрептавидин-XL665 в 50 мМ буфера Hepes с pH 7,0 для детектирования, содержащего достаточное количество ЭДТА). Далее планшет дополнительно инкубировали в течение 120 мин при комнатной температуре и проводили его считывание с использованием многофункционального ридера Envision 2103 (PerkinElmer) с возбуждением/эмиссией/эмиссией FRET при 340/615/665 нм соответственно. Интенсивность флуоресценции при длинах волн эмиссии 615 и 665 нм выражали в виде отношения (665/615 нм). Процент ингибирования рассчитывали следующим образом:

$$\% \text{ Ингибирования} = 100 \times (\text{Отношение образец} - \text{Отношение } 0\% \text{ ингибирования}) / (\text{Отношение } 100\% \text{ ингибирования} - \text{Отношение } 0\% \text{ ингибирования}),$$

где 0,1% ДМСО (0% ингибирования) служил в качестве отрицательного контроля, а 1 мкМ К252а (100% ингибирования) использовали в качестве положительного контроля.

Активность соединений согласно примерам 1-7 представлена в следующей таблице, из которой видно, что указанные соединения являются ингибиторами Syk с IC_{50} менее 50 нМ.

№ примера: название соединения	IC_{50} в отн. Syk (нМ)
Пр.-1: 6-(6-амино-5-метилпиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	6,2
Пр.-2: 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	13,5
Пр.-3: (R)-4-(4-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)фенил)морфолин-2-ил)метанол	13,3
Пр.-4: 6-(6-аминопиразин-2-ил)-5-метил-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	44
Пр.-5: 2-(5-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанол	12,2
Пр.-6: 2-((4-(4-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)фенил)пиперазин-1-ил)метил)пропан-1,3-диол	14,5
Пр.-7: 2-(5-((6-(6-амино-5-метилпиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанол	8,7

Пример 13. Исследование базофилов CD63 цельной крови в скрининговом биологическом исследовании с высокой скоростью обработки (англ.: high-throughput biological screen, HTBS) в 384 лунках.

Оценивали активность Syk в соотношении с пониженной активацией базофилов, измеренной по экспрессии CD63 в исследовании базофилов цельной крови человека (25% крови). Активацию базофилов определяли в цельной крови человека с использованием набора Flow CASTt (Buhlmann Laboratories AG, Baselstrasse, Швейцария) согласно протоколу, предоставленному производителем, с небольшими модификациями. Свежую цельную кровь в гепарине собирали и доставляли в тот же день (AllCells, Emeryville, Калифорния). Образцы цельной крови инкубировали либо с ДМСО (конечная концентрация 1%), либо с серийно разведенными в ДМСО соединениями в течение 60 мин при 37°C. Базофилы активировали с использованием моноклональных антител анти-FcεRI и окрашивали анти-CD63-FITC и анти-CCR3-PE в течение 20 мин при 37°C (на лунку: 50 мкл цельной крови смешивали с 113 мкл стимулирующего буфера, 8,5 мкл моноклональных антител анти-FcεRI, 8,5 мкл красителя для антител CCR3-PE/CD63-FITC). Клетки центрифугировали при 1000×g в течение 18 мин и удаляли 150 мкл/лунку надосадочной жидкости. Эритроциты лизировали и клетки фиксировали в 2 этапа лизиса: пеллеты клеток повторно суспендировали в 150 мкл/лунку 1X буфера для лизиса, проводили инкубирование при комнатной температуре в течение 10 мин и собирали пеллеты клеток путем центрифугирования при 1200 об/мин в течение 5 мин. Клетки дважды промывали промывочным буфером 150 мкл/лунку и повторно суспендировали в конечном объеме промывочного буфера 75 мкл/лунку либо для проведения сразу же анализа методом потоочной цитометрии, либо для инкубирования в течение ночи при 4°C с последующим анализом методом потоочной цитометрии. Дегрануляцию (активацию базофилов) определяли по экспрессии CD63 на поверхности CCR3-положительных клеток. Определяли процент CD63-положительных клеток в популяции выбранных (gated) базофилов и нормализовали его по отношению к ДМСО (отрицательный контроль) и контрольному соединению (положительный контроль). Активность соединений согласно примерам 1-7 представлена в следующей таблице, из которой видно, что указанные соединения являются эффективными для уменьшения активации базофилов с EC_{50} менее 200 нМ.

№ примера: название соединения	EC_{50} в отн. CD63 (нМ)
Пр.-1: 6-(6-амино-5-метилпиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	51
Пр.-2: 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	80
Пр.-3: (R)-4-(4-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)фенил)морфолин-2-ил)метанол	63
Пр.-4: 6-(6-аминопиразин-2-ил)-5-метил-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	157
Пр.-5: 2-(5-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанол	120
Пр.-6: 2-((4-(4-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)фенил)пиперазин-1-ил)метил)пропан-1,3-диол	128
Пр.-7: 2-(5-((6-(6-амино-5-метилпиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанол	167

Пример 14. Кинетическая растворимость.

Оценивали кинетическую растворимость соединений в фосфатном буфере с pH 7,4. Подлежащие

тестированию соединения растворяли в диметилсульфоксиде в концентрации 10 мМ. Исходные образцы разбавляли: 3 мкл в 297 мкл фосфатного буфера с pH 7,4 (фосфатно-солевой буфер Дульбекко (Sigma-Aldrich D8662), общая молярность составила 0,149 М, а pH 7,43). Далее образцы инкубировали в течение 24 ч при 37°C с перемешиванием, центрифугировали, отбирали аликвоту и определяли в ней количество соединения относительно известной стандартной концентрации 0,1 мМ. Кинетическая растворимость соединения согласно примерам 1-7 представлена в следующей таблице, откуда видно, что соединения имеют кинетическую растворимость при pH 7,4, превышающую 90 мкМ.

№ примера: название соединения	Растворимость при pH 7,4 (мкМ)
Пр.-1: 6-(6-амино-5-метилпиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	95
Пр.-2: 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	95
Пр.-3: (R)-(4-(4-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)фенил)морфолин-2-ил)метанол	91
Пр.-4: 6-(6-аминопиразин-2-ил)-5-метил-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	100
Пр.-5: 2-(5-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанол	97
Пр.-6: 2-((4-(4-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)фенил)пиперазин-1-ил)метил)пропан-1,3-диол	99

Пример 15. Исследование стабильности в гепатоцитах человека.

Оценивали стабильность соединений в гепатоцитах человека в виде предполагаемого клиренса в гепатоцитах в л/ч/кг. Подлежащие тестированию соединения разбавляли до концентрации 200 мкМ (4 мкл исходного 10 мМ ДМСО в 196 мкл ACN:H₂O (50:50)). Пропранолол использовали в качестве положительного контроля, а только буфер без гепатоцитов в качестве контроля 0%. Их дополнительно разбавляли: 4 мкл посредством 891 мкл буфера KHB (№ по каталогу InVitroGRO Z99074) с получением дозируемого раствора 2X. В каждую лунку 24-луночного планшета добавляли 250 мкл дозируемого раствора 2X с 250 мкл клеток гепатоцитов (1×10⁶ жизнеспособных клеток/мл на лунку) или KHB для контрольных образцов с получением конечной концентрации соединений 1 мкМ в процессе инкубирования. Конечная концентрация растворителя составляла 0,01% ДМСО и 0,25% ACN. Культуральный планшет помещали на качалку и инкубировали при 37°C, 5% CO₂. Образцы отбирали в моменты времени 0, 1, 3 и 6 ч. Потерю основного соединения определяли с использованием методов ЖХ-МС по стандартной кривой. Активность соединений согласно примерам 1-7 представлена в следующей таблице, откуда видно, что клиренс в гепатоцитах был примерно 0,12 л/ч/кг или менее.

№ примера: название соединения	Клиренс в гепатоцитах (л/ч/кг)
Пр.-1: 6-(6-амино-5-метилпиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	0,12
Пр.-2: 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	0,055
Пр.-3: (R)-(4-(4-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)фенил)морфолин-2-ил)метанол	0,09
Пр.-4: 6-(6-аминопиразин-2-ил)-5-метил-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	0,08
Пр.-5: 2-(5-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанол	0,07
Пр.-6: 2-((4-(4-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)фенил)пиперазин-1-ил)метил)пропан-1,3-диол	0,08
Пр.-7: 2-(5-((6-(6-амино-5-метилпиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанол	0,05

Пример 16. Сравнение с известными ингибиторами Syk.

Исследованиях согласно примерам 8-11 использовали для сравнения соединений, описанных в настоящем документе, с соединениями, известными в данной области техники. Данные по сравнению соединений согласно примерам 1-7 с ранее описанными соединениями приведены в следующей таблице. Из указанных результатов очевидно, что соединения, описанные в настоящем документе, являются желаемыми ингибиторами Syk с усиленной активностью в отношении Syk и CD63 по сравнению с известными соединениями, улучшенной кинетической растворимостью (по меньшей мере примерно в 9 раз более растворимы) и клиренсом в гепатоцитах (по меньшей мере примерно в 2 раза меньший клиренс). Таким образом, комбинация усиленной ингибирующей активности по отношению к Syk и CD63 с улучшенными кинетической растворимостью и клиренсом обеспечивает соединения, которые, как ожидается, являются эффективными для лечения заболеваний, описанных в настоящем документе, с улучшенными фармакокинетическими свойствами.

Название соединения	IC ₅₀ в отн. Syk (нМ)	IC ₅₀ в отн. CD63 (нМ)	Растворимость при pH 7,4 (мкМ)	Клиренс в гепатоцитах (единицы)
Пр.-1: 6-(6-амино-5-метилпиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	6,2	51	95	0,12
Пр.-2: 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	13,5	80	95	0,055
Пр.-3: (R)-(4-(4-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)фенил)морфолин-2-ил)метанол	13,3	63	91	0,09
Пр.-4: 6-(6-аминопиразин-2-ил)-5-метил-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	44	157	100	0,08
Пр.-5: 2-(5-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанол	12,2	120	97	0,07
Пр.-6: 2-((4-(4-((6-(6-аминопиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)фенил)пиперазин-1-ил)метил)пропан-1,3-диол	14,5	128	99	0,08
Пр.-7: 2-(5-((6-(6-амино-5-метилпиразин-2-ил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-ил)амино)-2-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенокси)этанол	8,7	167	н/о	0,05
Известные соединения:				
6-(5-аминопиридин-3-ил)-N-(4-морфолинофенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	31	101	5	0,68
6-(3-аминофенил)-N-(3,4-диметоксифенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	188	809	3	0,24
6-(5-амино-6-метилпиридин-3-ил)-N-(4-морфолинофенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	16	250	5	0,80
6-(6-аминопиридин-3-ил)-N-(3,4-диметоксифенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин	53	734	10	0,90

В настоящем описании приводятся ссылки на различные патенты, патентные публикации и другие типы публикации (например, журнальные статьи). Содержание всех патентов, патентных заявок и публикаций, упомянутых в настоящем описании, тем самым полностью включено посредством ссылки для всех целей.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Кристаллическая форма I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амина мономезилата, характеризующаяся пиками рентгеновской порошковой дифрактограммы при углах 2θ, равных 19,7±0,2°, 17,3±0,2°, 17,9±0,2°, 21,6±0,2° и 25,8±0,2°.

2. Кристаллическая форма по п.1, отличающаяся тем, что указанная дифрактограмма содержит пики при углах 2θ, равных 6,0±0,2°, 6,2±0,2°, 8,6±0,2° и 9,6±0,2°.

3. Кристаллическая форма II 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амина мономезилата, характеризующаяся пиками рентгеновской порошковой дифрактограммы при углах 2θ, равных 17,3±0,2°, 25,1±0,2°, 20,4±0,2°, 19,6±0,2° и 18,5±0,2°.

4. Кристаллическая форма по п.3, отличающаяся тем, что указанная дифрактограмма содержит пики при углах 2θ, равных 6,1±0,2°, 6,9±0,2°, 11,0±0,2° и 13,6±0,2°.

5. Кристаллическая форма I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-

ил)фенил)имидазо[1,2-а]пирозин-8-амин сульфата, характеризующаяся пиками рентгеновской порошковой дифрактограммы при углах 2θ , равных $16,5\pm 0,2^\circ$, $24,5\pm 0,2^\circ$, $17,7\pm 0,2^\circ$, $28,4\pm 0,2^\circ$ и $21,8\pm 0,2^\circ$.

6. Кристаллическая форма по п.5, отличающаяся тем, что указанная дифрактограмма содержит пики при углах 2θ , равных $8,0\pm 0,2^\circ$ и $8,3\pm 0,2^\circ$.

7. Кристаллическая форма II 6-(6-аминопирозин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пирозин-8-амин сульфата, характеризующаяся пиками рентгеновской порошковой дифрактограммы при углах 2θ , равных $25,0\pm 0,2^\circ$, $16,3\pm 0,2^\circ$, $22,0\pm 0,2^\circ$, $7,9\pm 0,2^\circ$ и $7,6\pm 0,2^\circ$.

8. Фармацевтическая композиция, содержащая кристаллическую форму по любому из пп.1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

9. Применение кристаллической формы по любому из пп.1-7 или фармацевтической композиции по п.8 для лечения лейкоза у субъекта.

10. Применение кристаллической формы или фармацевтической композиции по п.9, где указанное заболевание или состояние представляет собой острый миелоидный лейкоз.

11. Применение кристаллической формы или фармацевтической композиции по любому из пп.9, 10, где указанный субъект представляет собой человека.

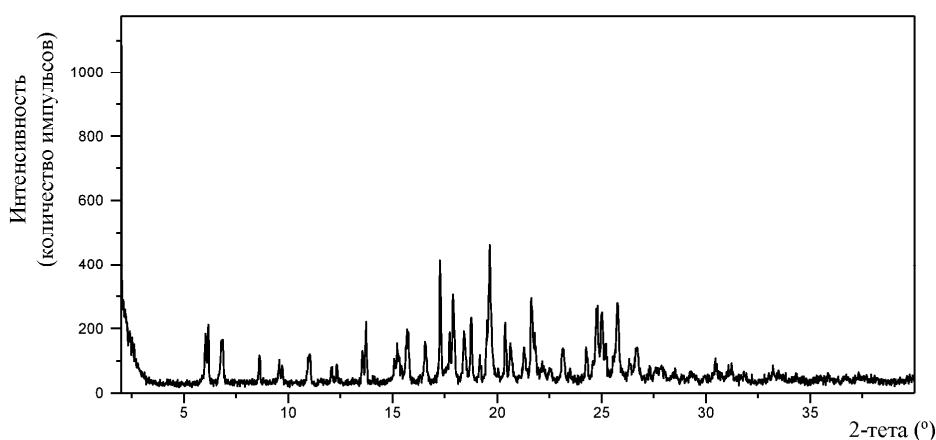
12. Применение кристаллической формы или фармацевтической композиции по любому из пп.9, 10, где указанную кристаллическую форму или фармацевтическую композицию вводят внутривенно, внутримышечно, парентерально, назально или перорально.

13. Применение кристаллической формы или фармацевтической композиции по п.12, где указанную кристаллическую форму или фармацевтическую композицию вводят один раз в сутки перорально.

14. Применение кристаллической формы или фармацевтической композиции по п.12, где указанную кристаллическую форму или фармацевтическую композицию вводят два раза в сутки перорально.

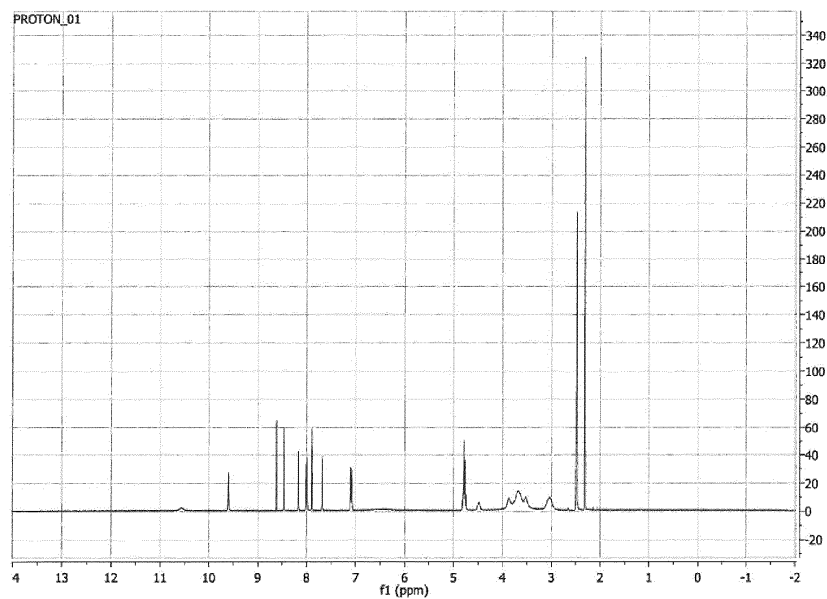
15. Применение кристаллической формы по любому из пп.1-7 для получения лекарственного средства для лечения заболевания или состояния согласно любому из пп.9, 10.

Анализ Формы I монометилатной соли 6-(6-аминопирозин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пирозин-8-амин методом XRPD



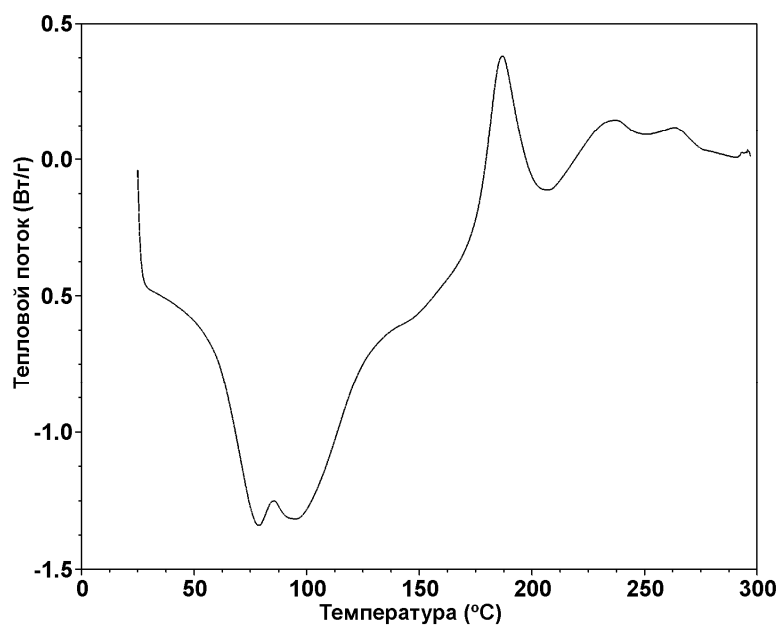
Фиг. 1

Анализ Формы II мономезилатной соли 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амина методом ЯМР



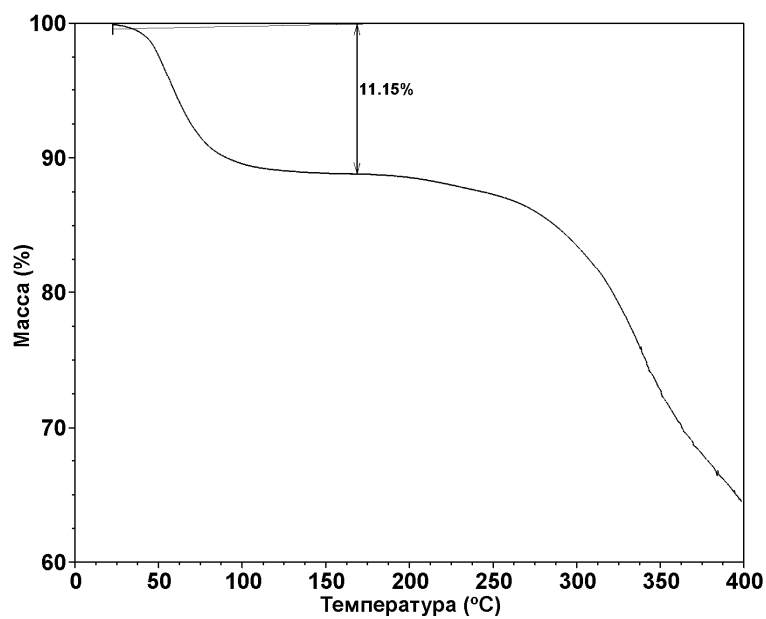
Фиг. 2

Анализ Формы I мономезилатной соли 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амина методом ДСК



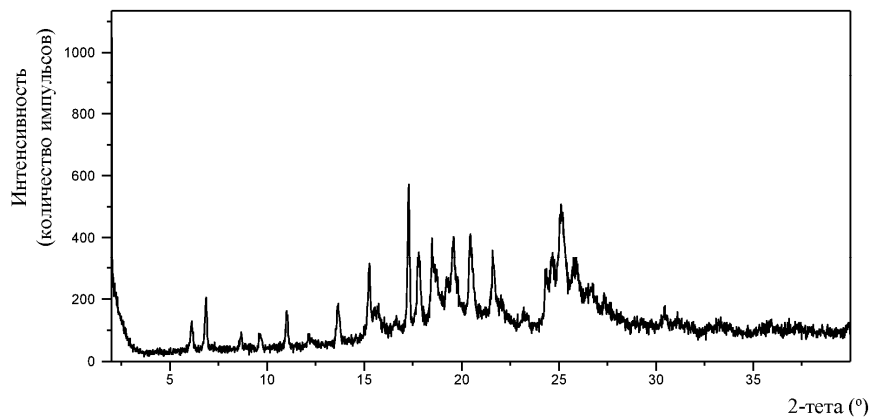
Фиг. 3

Анализ Формы I мономезилатной соли 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин методом ТГА



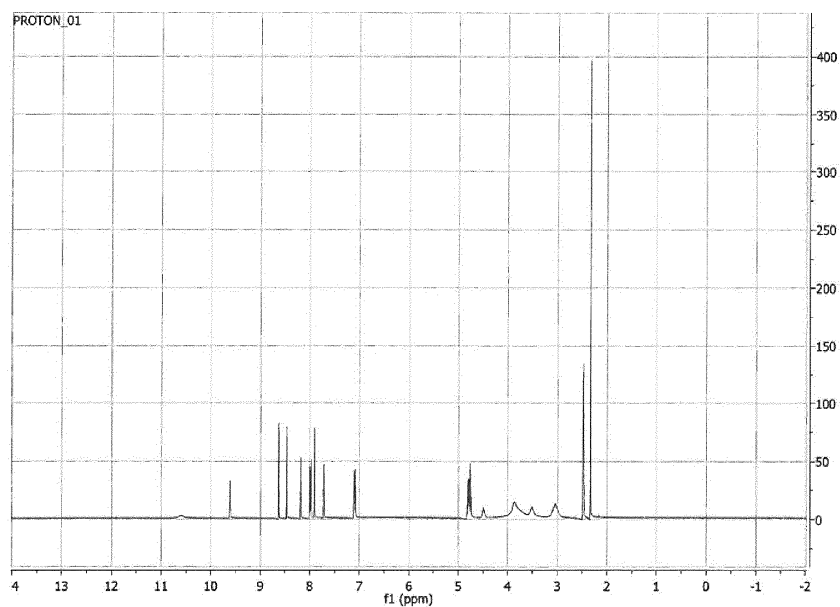
Фиг. 4

Анализ Формы II мономезилатной соли 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин методом XRPD



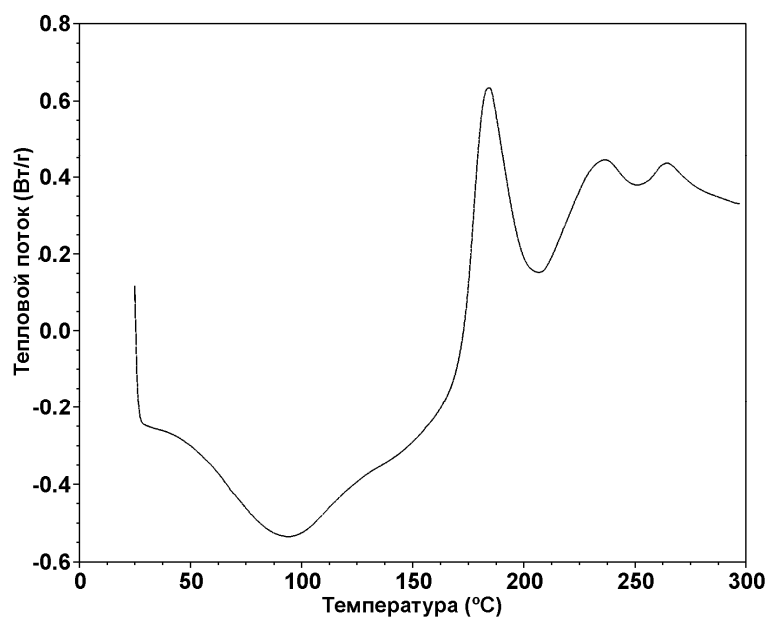
Фиг. 5

Анализ Формы II мономезилатной соли 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидazo[1,2-a]пиразин-8-аминa методом ЯМР



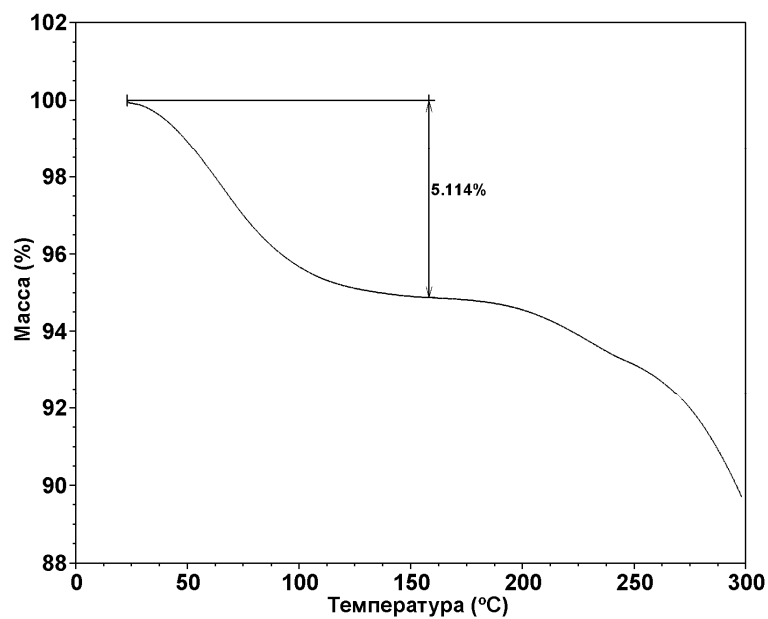
Фиг. 6

Анализ Формы II мономезилатной соли 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидazo[1,2-a]пиразин-8-аминa методом ДСК



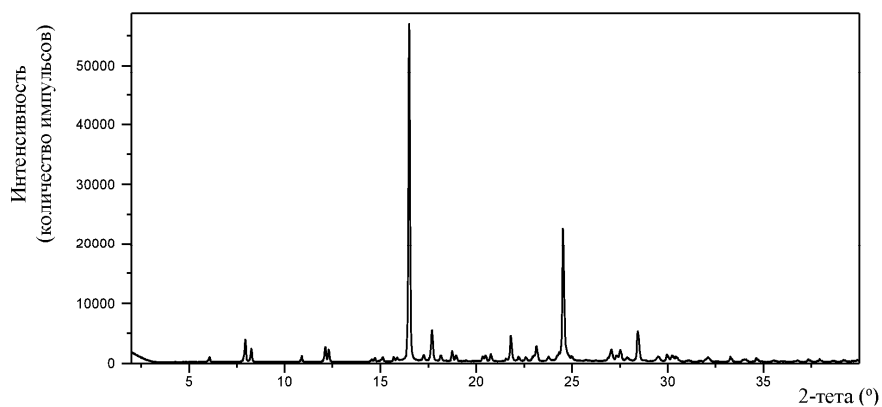
Фиг. 7

Анализ Формы II мономезилатной соли 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин методом ТГА



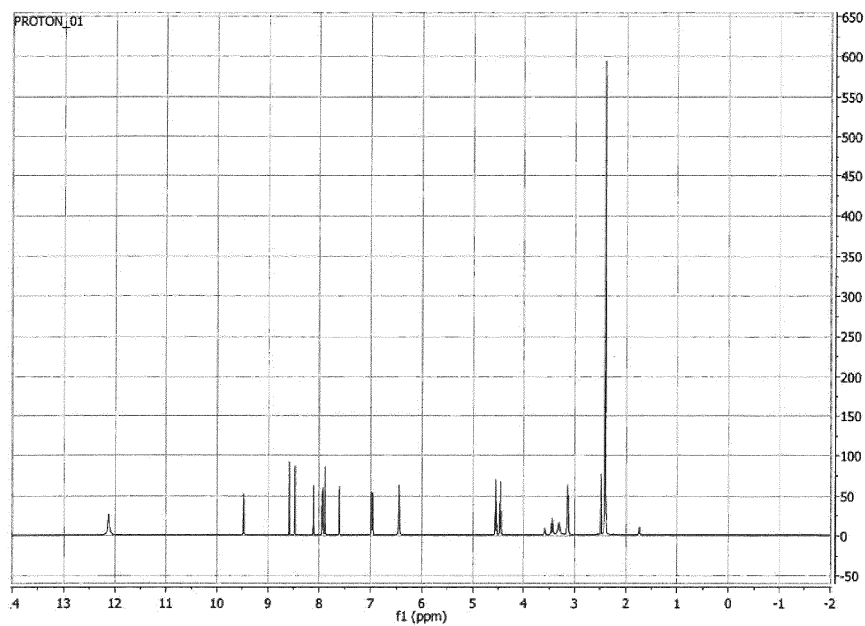
Фиг. 8

Анализ 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сукцината методом XRPD



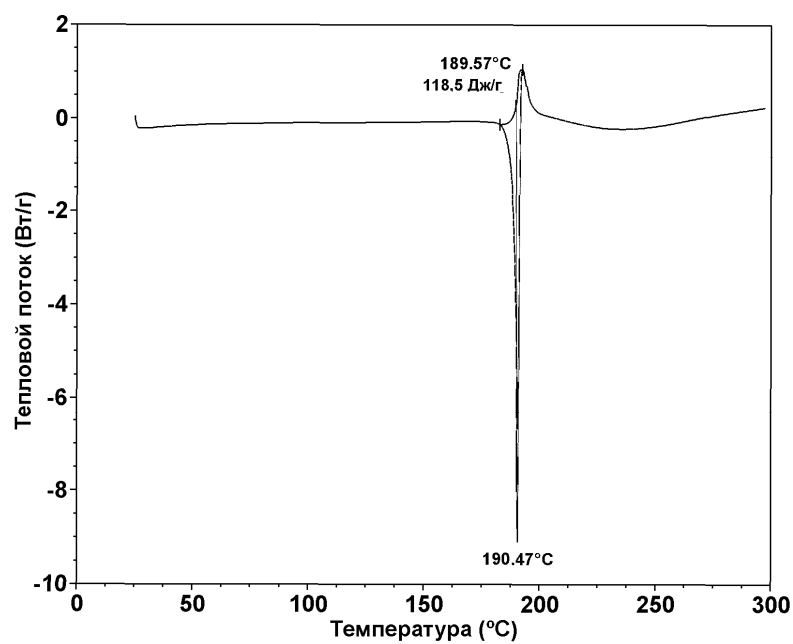
Фиг. 9

Анализ Формы I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сулцината методом ЯМР



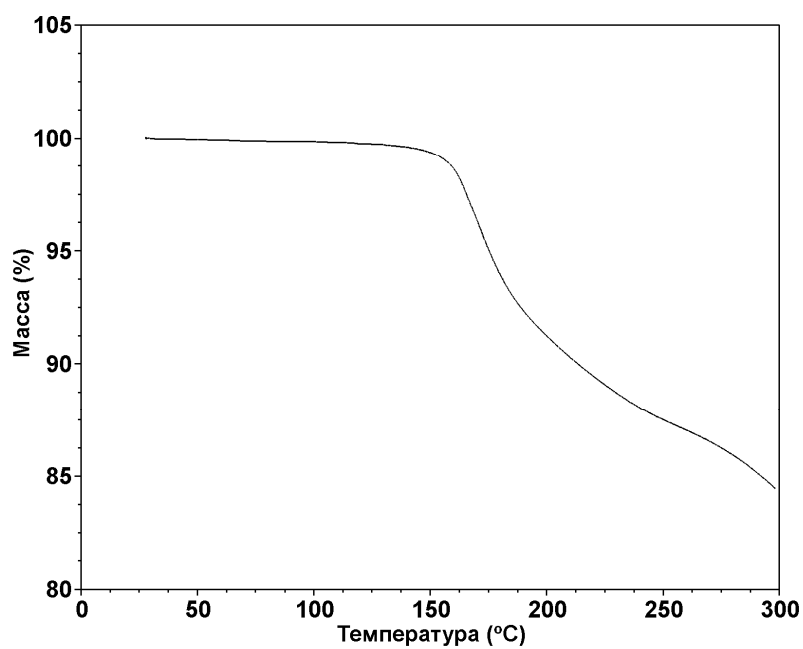
Фиг. 10

Анализ Формы I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сулцината методом ДСК



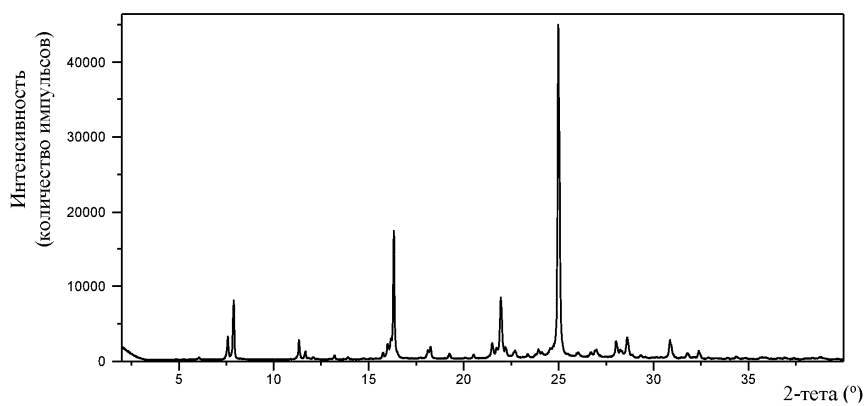
Фиг. 11

Анализ Формы I 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сулфоната методом ТГА



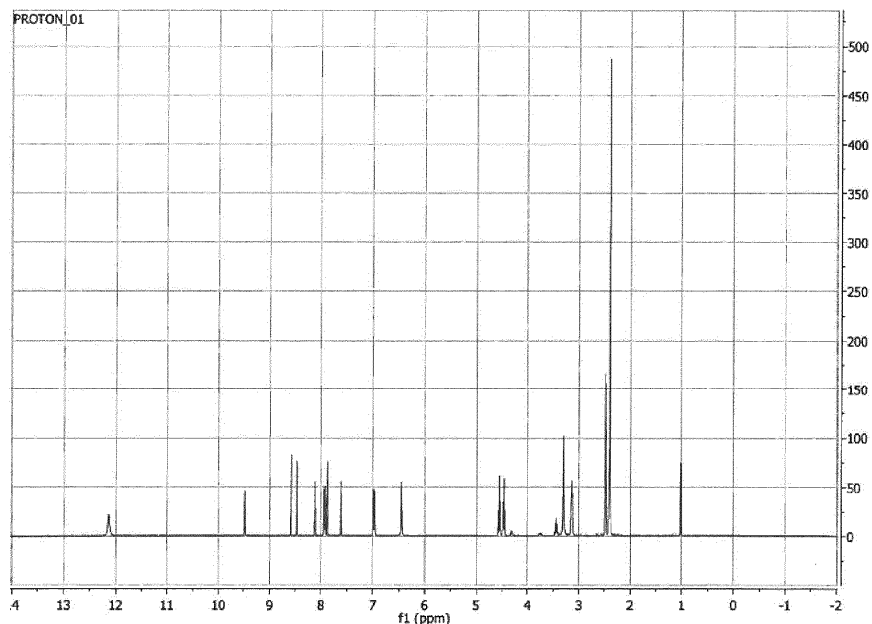
Фиг. 12

Анализ Формы II 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сулфоната методом XRPD



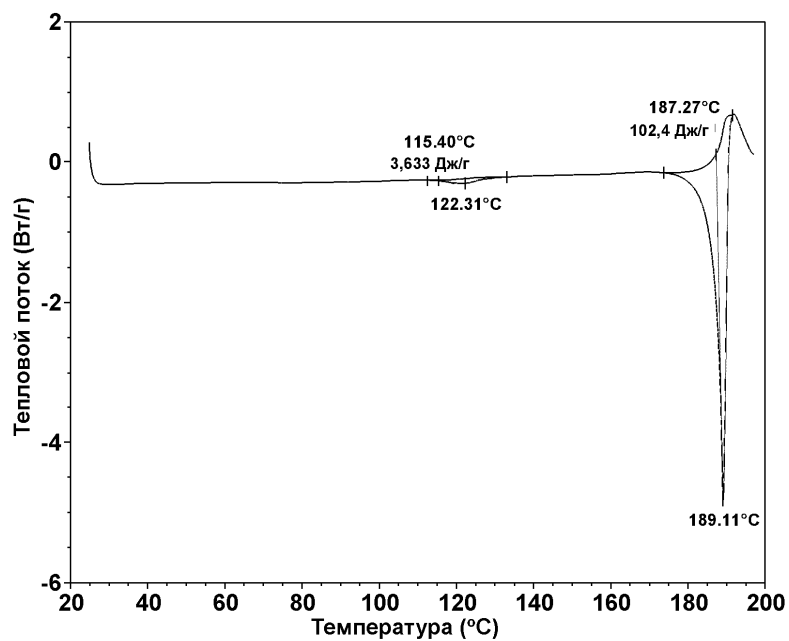
Фиг. 13

Анализ Формы II 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амина сукцината методом ЯМР



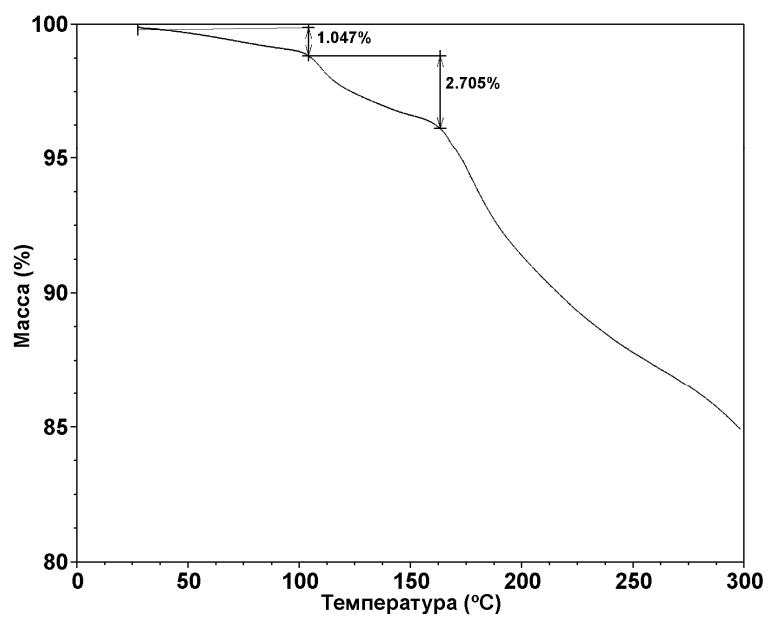
Фиг. 14

Анализ Формы II 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амина сукцината методом ДСК



Фиг. 15

Анализ Формы II для 6-(6-аминопиразин-2-ил)-N-(4-(4-(оксетан-3-ил)пиперазин-1-ил)фенил)имидазо[1,2-а]пиразин-8-амин сульфата методом ТГА



Фиг. 16



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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