

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040337**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.05.23

(21) Номер заявки
201691745

(22) Дата подачи заявки
2015.02.27

(51) Int. Cl. *A61K 31/00* (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

(54) ИНГИБИТОРЫ JAK1 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИХ СИНДРОМОВ

(31) 61/946,124

(32) 2014.02.28

(33) US

(43) 2016.12.30

(86) PCT/US2015/017963

(87) WO 2015/131031 2015.09.03

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

(72) Изобретатель:
Вадди Кришна (US)

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

(56) WO-A1-2014186706

WO-A1-2014071031

WO-A1-2012071612

US-A1-2014004516

EGHTEDAR A. ET AL.: "Phase 2 study of the JAK kinase inhibitor ruxolitinib in patients with refractory leukemias, including postmyeloproliferative neoplasm acute myeloid leukemia", BLOOD, vol. 119, no. 20, 17 May 2012 (2012-05-17), pages 4614-4618, XP002695253, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/BLOOD-2011-12-400051, [retrieved on 2012-03-15], the whole document

Anonymous: "Ruxolitinib for Patients With Low or Intermediate-1 Risk Myelodysplastic Syndrome (MDS)", ClinicalTrials.gov archive, 19 August 2013 (2013-08-19), XP002739581, Retrieved from the Internet: URL:clinicaltrials.gov/archive/NCT01895842/20130819 [retrieved on 2015-04-30], the whole document

US-A1-2012149681

US-A1-2014005166

(57) Изобретение относится к селективным ингибиторам JAK1, в частности к производным пирроло[2,3-d]пиримидина и пирроло[2,3-b]пиридина, и к их применению в лечении миелодиспластических синдромов (МДС).

B1

040337

040337

B1

Данная заявка испрашивает преимущество приоритета по предварительной заявке США № 61/946124, поданной 28 февраля 2014 г., которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

Область технического применения

Изобретение относится к селективным ингибиторам JAK1 и их применению в лечении миелодиспластических синдромов (МДС).

Предпосылки создания изобретения

Миелодиспластические синдромы (МДС), ранее называемые дисмиелопоэтическими синдромами или предлейкозом, представляют собой гетерогенные и клональные гемопоэтические расстройства, характеризующиеся неэффективным гемопоэзом в одной или более главных миелоидных клеточных линиях. Миелодиспластические синдромы связаны с нарушением работы костного мозга, цитопениями периферической крови и склонностью к прогрессированию в острый миелоидный лейкоз (ОМЛ). Более того, в приблизительно 50% случаев МДС обнаруживаются клональные цитогенетические аномалии. В общей совокупности населения МДС развиваются у 5 из 100000 человек, и частота увеличивается с возрастом, достигая приблизительно 22-45 из 100000 человек среди субъектов старше 70 лет (Greenberg, "The myelodysplastic syndromes" in Hoffman et al., eds. Hematology: Basic Principles and Practice (3rd ed.), Churchill Livingstone; 2000:1106-1129); Liesveld and Lichtman, Chapter 88. "Myelodysplastic Syndromes (Clonal Cytopenias and Oligoblastic Myelogenous Leukemia)", in Prchal et al., eds. Williams Hematology. 8th ed., New York: McGraw-Hill; 2010). Несмотря на развитие научных знаний о патофизиологии МДС, доступно лишь небольшое число вариантов терапии, главным образом паллиативных, в особенности если пациенты с патологией не являются кандидатами на проведение трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (HSCT).

Стандарт оказания медицинской помощи при МДС включает поддерживающее лечение, которое предполагает наблюдение и клинический контроль, психосоциальную поддержку и действия, направленные на повышение качества жизни (Cheson et al., Blood 2000;96:3671-3674); Venugopal et al. Cancer Treat Res 2001; 108:257-265); Greenberg, Int. J. Ped. Hem.-Onc. 1997;4:231-238). Кроме того, требуются трансфузии эритроцитов при симптоматической анемии и трансфузии тромбоцитов в случае кровотечений, обусловленных тромбоцитопенией. У пациентов с миелодиспластическим синдромом, нуждающихся в трансфузиях эритроцитов, могут развиваться осложнения, включающие образование аллоантител, что требует увеличения частоты трансфузий, и перенасыщение железом с ишемическим поражением печени, сердца и эндокринных органов, что требует хелатирования железа для поддержания сывороточного ферритина на уровне < 1000 мкг/л (Venugopal et al 2001 (выше), Greenberg 1997 (выше)). В случаях рефрактерной симптоматической цитопении необходимо поддерживающее введение гемопоэтических цитокинов, например применение рекомбинантного человеческого гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF) или гранулоцитарно-моноцитарного колониестимулирующего фактора (GM-CSF) при нейтропенических МДС с инфекционными осложнениями, а также средств стимуляции эритропоэза (ESA) при симптоматической анемии (Cheson et al., 2000 (выше), Jadersten et al., Blood 2005; 106:803-811); Schiffer, Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program. 2006:205-210). На ранних стадиях МДС, т. е. на стадиях Low и Intermediate-1 по международной прогностической балльной шкале (IPSS), симптоматическая анемия является наиболее распространенным основанием для терапевтического вмешательства. Введение ESA дает эффект лишь у части таких пациентов, а наибольшая реакция наблюдается у пациентов, независимых от трансфузии эритроцитов, или у пациентов с низким эндогенным уровнем эритропоэтина (EPO) (<500 ME) (Cheson et al., 2000 (выше), Jadersten et al., 2005 (выше), Schiffer 2006 (выше), Fenaux et al., Lancet Oncol. 2009; 10:223-232). В итоге пациенты прекращают реагировать на терапию ESA и нуждаются в поддерживающей трансфузии эритроцитов, хотя введение ESA обычно продолжают даже при потребности в трансфузии эритроцитов и низком числе ретикулоцитов. Потребность в трансфузии может быть разной и может зависеть от сопутствующих медицинских проблем, требующих более высокого уровня гемоглобина (Hgb), таких как стенокардия, образование аллоантител к эритроцитам, спленомегалия и скрытые желудочно-кишечные кровотечения, обусловленные тромбоцитопенией или тромбоцитарной дисфункцией (Venugopal et al. 2001 (выше), Greenberg 1997 (выше), Fenaux et al. 2009 (выше)).

Низкоинтенсивная терапия включает применение низкоинтенсивной химиотерапии или модификаторов биологического ответа (BRM). Было показано, что гипометилирующие средства, такие как ингибиторы ДНК-метилтрансферазы 5-азациитидин и децитабин (5-аза-2'-дезоксцитидин) снижают риск лейкозной трансформации в рандомизированных исследованиях фазы 3 и повышают общую выживаемость у части пациентов (Fenaux et al. 2009 (выше), Silverman J. Clin. Oncol. 2002;20:2429-2440); Silverman, J. Clin. Oncol. 2006;24:3895-3903). Аналогичным образом, была продемонстрирована более высокая частота ответа заболеваний на децитабин, увеличение времени ремиссии, времени до прогрессирования в острый миелоидный лейкоз (ОМЛ), а также положительный эффект в виде выживаемости среди пациентов с МДС с заболеванием со средним и высоким риском. Кроме того, децитабин продемонстрировал существенное повышение качества жизни, по мнению пациентов (на основании данных Европейской организации по исследованию и лечению рака [EORTC QLQ C30]), с точки зрения усталости и физических функций (Kantarjian et al., Cancer 2006;106:1794-1803); Lubbert et al., Br. J. Haematol. 2001;114:349-357); Lubbert et al., J. Clin. Oncol. 2011;29:1987-1996). Как 5-азациитидин, так и децитабин одобрены для лечения

МДС и, в частности, обеспечивают клинический эффект и рекомендованы советом по МДС Национальной онкологической сети (NCCN) для пациентов с МДС в стадии Intermediate 2 по IPSS и МДС высокого риска (National Comprehensive Cancer Network (NCCN). Myelodysplastic Syndromes Guidelines Version 1. 2012. www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp).

Предполагается, что воспалительные молекулы служат регуляторными сигналами, направляющими пролиферацию и гибель гемопоэтических предшественников по механизму апоптоза при МДС. Хроническая стимуляция иммунной системы в сочетании со связанными со старением изменениями в гемопоэтических стволовых клетках/клетках-предшественниках (HSPC) и микроокружении костного мозга считаются очень важными факторами патогенеза заболевания. Все больше данных связывают активацию сигнализации системы врожденного иммунитета как с гемопоэтическим старением, так и с патофизиологией МДС (Chen et al., 2014). По этой причине в качестве низкоинтенсивных средств при МДС используются модификаторы иммунного ответа, которые включают ингибиторы Т-клеток, такие как антитимоцитарный глобулин (ATG), циклоспорин и талидомид, а также его аналог леналидомид (Molldrem et al., Br. J. Haematol. 1997;99:699-705); Sloan et al., J. Clin. Oncol. 2008;26:2505-2511); Raza et al., Blood 2008;111:86-93); Fenaux et al., Blood 2011;118:3765-3776); List et al., N. Engl. J. Med. 2005;352:549-557). Высокоинтенсивная терапия МДС включает интенсивную индукционную химиотерапию, используемую при лечении ОМЛ и HSCT. Были протестированы различные схемы интенсивной химиотерапии, поскольку они обладают потенциалом изменения естественного течения заболевания, а сравнительные исследования не выявили положительного эффекта. Данный подход еще необходимо изучить, но он может быть возможным вариантом для пациентов с МДС высокого риска. Предпочтительным вариантом для пациентов с МДС высокого риска (единственная возможность радикального лечения МДС) является аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (HSCT), предпочтительно от родного брата/сестры, однако отсутствие приемлемого донора и сопутствующие заболевания, связанные с преклонным возрастом, зачастую не позволяют провести такую процедуру пациентам (NCCN 2012 (выше); Larson, Best Pract Res Clin Hematol 2006; 19:293-300); Schiffer, Best Pract. Res. Clin. Hematol. 2007;20:49-55).

Соответственно, существует потребность в разработке новых видов терапии для лечения миелодиспластических синдромов. В настоящей заявке предложено решение для этой и других потребностей.

Краткое описание

В настоящей заявке предложены способы лечения миелодиспластического синдрома (МДС) у нуждающегося в этом пациента, включающие введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества селективного ингибитора JAK1 или его фармацевтически приемлемой соли.

В настоящей заявке дополнительно предложен селективный ингибитор JAK1 для лечения миелодиспластического синдрома у нуждающегося в этом пациента.

В настоящей заявке также предложено использование селективного ингибитора JAK1 для производства лекарственного средства, применяемого в лечении миелодиспластического синдрома у нуждающегося в этом пациента.

Подробное описание

В способах, описанных в настоящем документе, используются селективные ингибиторы JAK1. Селективный ингибитор JAK1 представляет собой соединение, ингибирующее активность JAK1 более предпочтительно, чем других Janus-киназ. JAK1 играет центральную роль в сигнальных путях ряда цитокинов и ростовых факторов, нарушение регуляции которых может вызывать или вносить свой вклад в патологические состояния. Например, уровни IL-6 повышаются при ревматоидном артрите - заболевании, при котором этот цитокин, как предполагается, оказывает негативное воздействие (Fonesca et al., Autoimmunity Reviews, 8:538-42, 2009). Поскольку IL-6 генерирует сигнал, по меньшей мере частично проходящий через JAK1, ожидается, что антагонистический эффект в отношении IL-6, прямо или косвенно обусловленный ингибированием JAK1, даст положительный клинический эффект (Guschin et al. Embo J. 14:1421, 1995; Smolen et al. Lancet 371:987, 2008). Более того, при некоторых видах рака JAK1 мутирует, что приводит к нерегулируемому нежелательному росту и выживанию опухолевых клеток (Mullighan, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 106:9414-8, 2009; Flex J. Exp. Med. 205:751-8, 2008). При других аутоиммунных и раковых заболеваниях повышенные системные уровни воспалительных цитокинов, активирующих JAK1, также могут влиять на заболевание и/или связанные с ним симптомы. Следовательно, пациенты с такими заболеваниями могут получать положительный эффект от ингибирования JAK1. Селективные ингибиторы JAK1 могут быть эффективны и при этом могут не иметь ненужных и потенциально нежелательных эффектов, связанных с ингибированием других JAK-киназ.

Селективные в отношении других JAK-киназ ингибиторы JAK1 могут иметь множество терапевтических преимуществ по сравнению с менее селективными ингибиторами. В отношении селективности к JAK2 можно сказать, что через JAK2 проходят сигналы ряда важных цитокинов и ростовых факторов, например эритропоэтина (Еро) и тромбопоэтина (Тро) (Parganas et al. Cell. 93:385-95, 1998). Еро является ключевым ростовым фактором для продукции эритроцитов; следовательно, недостаточность в Еро-зависимой сигнализации может приводить к снижению числа эритроцитов и анемии (Kaushansky, NEJM 354:2034-45, 2006). Другой пример JAK2-зависимого ростового фактора, Тро, играет центральную роль в контроле пролиферации и созревания мегакариоцитов - клеток, из которых образуются тромбоциты

(Kaushansky, NEJM 354:2034-45, 2006). Таким образом, сниженная сигнализация Тро приводит к уменьшению числа мегакариоцитов (мегакариоцитопении) и уменьшению числа циркулирующих тромбоцитов (тромбоцитопении). Эта особенность может приводить к нежелательному и/или неконтролируемому кровотечению. Также может быть желательным снизить ингибирование других JAK-киназ, таких как JAK3 и Tyk2, поскольку показано, что люди, у которых отсутствуют функциональные варианты этих киназ, страдают от многочисленных заболеваний, таких как тяжелый комбинированный иммунодефицит или синдром гиперглобулинемии Е (Minegishi et al. *Immunity* 25:745-55, 2006; Macchi et al. *Nature*, 377:65-8, 1995). Следовательно, ингибитор JAK1 со сниженной аффинностью к другим JAK имел бы существенные преимущества перед менее селективным ингибитором в том, что касается уменьшения побочных эффектов, связанных с иммуносупрессией, анемией и тромбоцитопенией.

Воспалительные цитокины играют важную роль в патогенезе МДС, который приводит к цитопениям и диспластическому гемопоэзу. Выдвинута гипотеза, что снижение активности этих воспалительных цитокинов способствует нормальному гемопоэзу и предотвращает преждевременный апоптоз костномозговых предшественников. Воспалительные цитокины опосредуют дальнейшие эффекты путем активации JAK, которая включает соприкосновение JAK в результате опосредованной лигандом димеризации рецептора и транс/автофосфорилирование. Полученные гетеродимеры JAK, состоящие из JAK1 и JAK2 или JAK1 и JAK3, передают сигналы и опосредуют клеточные реакции на эти цитокины. Более того, гомодимеры JAK, состоящие только из JAK2, передают сигналы от ростовых факторов костного мозга, таких как EPO, отвечающий за стимуляцию эритропоэза, и TPO, отвечающий за стимуляцию тромбопоэза. Следовательно, селективный ингибитор JAK1 может приводить к прекращению сигнализации от воспалительных цитокинов, но без ингибирования опосредованного JAK2 эритропоэза и тромбопоэза, что приводит к нормализации гемопоэза и ослаблению миелоидных цитопений.

Несмотря на развитие научных знаний о патофизиологии МДС существует лишь небольшое число вариантов терапии, главным образом паллиативных, в особенности если пациенты с патологией не являются кандидатами на проведение HSCT. В ряде исследований было показано, что МДС представляет собой клональное заболевание и что размножившийся клон является результатом избыточной пролиферации гемопоэтических предшественников в костном мозге. Был исследован парадокс гиперпролиферативного состояния в костном мозге, приводящего к периферической цитопении, и показана избыточная запрограммированная клеточная гибель, или апоптоз, гемопоэтических клеток внутри костного мозга. Такой апоптоз наблюдался у пациентов со всеми категориями ФАБ, но был снижен у пациентов с растущим числом бластов. По-видимому, клональная популяция постепенно стала устойчивой к апоптозу и получила пролиферативное преимущество перед нормальными гемопоэтическими предшественниками, что привело к увеличению числа бластов и переходу заболевания в ОМЛ. Также стало очевидно, что избыточный апоптоз был главным образом опосредован рядом провоспалительных цитокинов, избыточно экспрессированных в костном мозге пациентов с МДС. Цитокины с предполагаемой ролью в патофизиологии МДС включают фактор некроза опухолей альфа (TNF- α), интерферон-гамма (IFN γ) и IL 1 β . В периферической крови и костном мозге пациентов с МДС наблюдалась высокая концентрация TNF- α , классического проапоптозного цитокина, в плазме, а в мононуклеарных клетках костного мозга, полученных от пациентов с МДС, наблюдалась более высокая экспрессия рецепторов TNF и матричной РНК (мРНК). Аналогичным образом, в мононуклеарных клетках костного мозга при МДС был обнаружен повышенный уровень IFN γ и IL-1 β , и предполагается, что IL-1 β участвует в переходе МДС в ОМЛ. IL-1 β оказывает различные регуляторные эффекты на гемопоэтические клетки, поскольку он стимулирует GM-CSF и IL-3, тогда как в более высоких концентрациях, наблюдающихся при воспалительных состояниях, он приводит к подавлению гемопоэза путем индукции TNF- α и простагландина E2, причем последний является мощным ингибитором пролиферации миелоидных стволовых клеток.

Кроме того, в миелоидных клетках пациентов с МДС наблюдались высокие уровни IL-6, фактора роста фибробластов, фактора роста гепатоцитов и трансформирующего фактора роста β . Более того, те самые цитокины, которые подавляют нормальную пролиферацию гемопоэтических клеток, не могут оказать такой проапоптозный эффект на развивающийся аномальный клон, что приводит к избирательной пролиферации этих аномальных клеток. Имеются данные, что источником провоспалительных цитокинов является измененное микроокружение костного мозга, которое обычно способствует пролиферации и дифференцировке нормальных гемопоэтических клеток, и также оно может быть причиной инфильтрации иммунных регуляторных клеток и ангиогенеза, которые играют свою роль в патофизиологии МДС (Raza et al., *Blood* 1995;86:268-276); Raza et al., *Int. J. Hematol.* 1996a;63:265-278); Raza et al., *Leuk Res* 1996b;20:881-890); Mundle et al. *Am. J. Hematol.* 1999;60:36-47); Claessens et al., *Blood* 2002;99:1594-1601).

Представление о том, что опосредованное цитокинами провоспалительное состояние отвечает за этиологию МДС, привело к разработке нового подхода - антицитокиновой терапии для лечения цитопений при МДС посредством защиты дифференцирующихся гемопоэтических клеток от преждевременного апоптоза. Было продемонстрировано, что средства против TNF- α , такие как талидомид и его аналог леналидомид, инфликсимаб и этанерцепт являются эффективными в лечении цитопений у пациентов с МДС (NCCN 2012 (выше), Larson 2006 (выше), Schiffer 2007(выше)). В исследовании, проведенном с

участием 14 пациентов с МДС, этанерцепт продемонстрировал улучшение эритроидных гематологических параметров у 25% пациентов, а также улучшение по числу тромбоцитов и абсолютному числу нейтрофилов (АЧН) у 12,5% оцениваемых пациентов. Кроме того, периодическое комбинирование этанерцепта с антиtimoцитарным глобулином (ATG) приводило к более сильному улучшению эритроидных гематологических параметров, и 5 из 14 пациентов с МДС, нуждавшихся в трансфузии, перестали зависеть от трансфузии эритроцитов и тромбоцитов, причем этот эффект длился более 2 лет. В исследовании, в котором изучали применение талидомида при МДС, из 83 привлеченных пациентов 51 прошел 12-недельный курс терапии, причем у 16 пациентов наблюдалось улучшение гематологических параметров, при этом 10 ранее нуждавшихся в трансфузии пациентов стали независимыми от трансфузии, и большинство пациентов с реакцией на лечение относились к категории риска Low-risk или Intermediate 1 по шкале IPSS (NCCN 2012 (выше)). Более того, пациенты из категории более высокого риска, особенно с высокой процентной долей бластов, как правило, прерывали лечение на ранней стадии. Другим подходом к подавлению эффектов провоспалительных цитокинов является ингибирование клеточных ответов на них. Значительное число рецепторов цитокинов и ростовых факторов использует нерецепторные тирозинкиназы (ТЮК) семейства JAK для перевода сигнала о связывании с лигандом в клеточный ответ посредством сигнализации через транскрипционный фактор STAT.

В семейство JAK входят 4 члена: JAK1, JAK2, JAK3 и ТЮК2. JAK конститутивно связаны с рецепторами цитокинов и факторов роста, и их активация является прямым следствием индуцированной лигандом димеризации рецептора. Активация JAK происходит при последующем соприкосновении киназ JAK и транс/автофосфорилировании консервативных тирозиновых остатков, находящихся в активационной петле каталитического домена JAK. После фосфорилирования этих тирозиновых остатков JAK входят в высокоактивное состояние и впоследствии приобретают способность фосфорилировать специфические тирозиновые остатки на цитокиновых рецепторах, которые служат местом присоединения множества белков, в том числе белков STAT. JAK представляют собой главное семейство киназ, связанных с активацией STAT. Активированные белки STAT перемещаются в ядро, где они играют роль транскрипционных факторов и инициируют экспрессию множества генов, важных для активации, локализации, выживания и пролиферации клеток.

Руксолитиниб, ингибитор JAK1 и JAK2, продемонстрировал выраженное снижение размера селезенки у пациентов с миелофиброзом и уменьшение симптомов. Эти улучшения были очевидны у субъектов с наличием мутации V617F в JAK2 и без нее и, вероятно, связаны с ингибированием провоспалительных цитокинов. Основными неблагоприятными явлениями (НЯ), наблюдавшимися при приеме руксолитиниба, являются тромбоцитопения и анемия; оба явления были нечастыми причинами прекращения исследования в двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании фазы 3, и оба были по меньшей мере частично обусловлены миелосупрессией, опосредованной JAK2. Таким образом, выдвинута гипотеза о том, что селективное ингибирование JAK1 может вызывать благоприятных эффект ингибирования провоспалительных цитокинов у пациентов с МДС и приводить к облегчению течения цитопений, обусловленных преждевременным апоптозом гемопоэтических предшественников. Более того, сохранение активности JAK2 может обеспечивать физиологическую активность гемопоэтических цитокинов, а именно ЕРО и ТРО, и физиологическую пролиферацию и дифференцировку нормальных гемопоэтических клеток.

Более того, у пациентов с МДС часто развивается перенасыщение железом, и последние данные свидетельствуют о его влиянии как на общую выживаемость, так и на выживаемость пациентов без лейкоза. Было выдвинуто предположение, что измененная продукция гепцидина, недавно открытого ключевого гормона, регулирующего гомеостаз железа, может играть в этом свою роль и регулироваться воспалительными цитокинами, подобными IL-6. Недавно было показано, что у пациентов с МДС наблюдается повышенный уровень как гепцидина, так и с-реактивного белка (CRP), маркера общего воспаления. Santini et al., PLoS One, 6(8), e23109, pages 1-8 (2011). Эти данные предполагают, что ингибирование JAK, которое может снижать уровни CRP и гепцидина, может приводить к обратному развитию воспаления и перенасыщения железом, возникающего при МДС.

Соответственно, в настоящей заявке предложен, помимо прочего, способ лечения миелодиспластического синдрома у нуждающегося в этом пациента, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества селективного ингибитора JAK1 или его фармацевтически приемлемой соли. В настоящем документе понятие "миелодиспластический синдром" опирается на классификацию МДС, предложенную Всемирной организацией здравоохранения в 2008 г. (см., например, таблицу 1). В частности, в 1997 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) совместно с Гематопатологическим обществом (SH) и Европейской гематопатологической ассоциацией (ЕАНР) предложили новые классификации гемопоэтических новообразований (Harris et al., J. Clin. Oncol. 1999; 17:3835-3849); Varadhan et al., Blood 2002;100:2292-2302). В случае с МДС ВОЗ использовала не только морфологические критерии из Французско-американско-британской классификации (ФАБ), но и включила имеющиеся генетические, биологические и клинические характеристики для определения подтипов МДС (Bennett et al., Br. J. Haematol. 1982;51:189-199). В 2008 г. предложенная ВОЗ классификация МДС (табл. 1) была дополнительно уточнена, чтобы обеспечить точную и прогностически значимую подклассификацию од-

нолинейной дисплазии, и в нее были включены новые клинические и научные данные (Vardiman et al., Blood 2009;114:937-951); Swerdlow et al., WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th Edition. Lyon France: IARC Press; 2008:88-103); Bunning and Germing, "Myelodysplastic syndromes/neoplasms" in Chapter 5, Swerdlow et al, eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, (ed. 4th edition): Lyon, France: IARC Press; 2008:88-103).

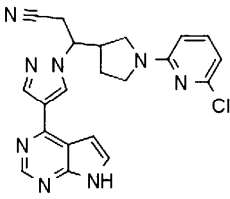
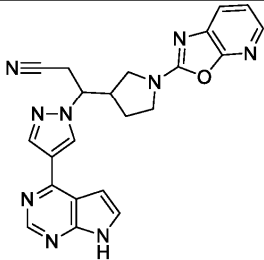
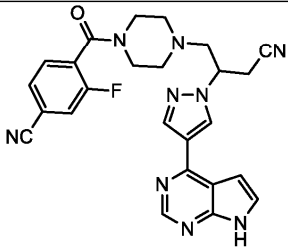
Таблица 1. Классификация миелодиспластического синдрома de novo, предложенная ВОЗ в 2008 г.

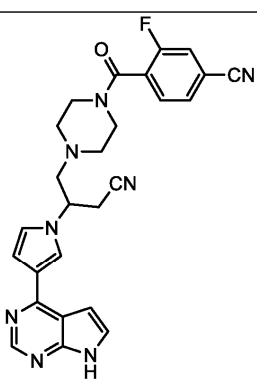
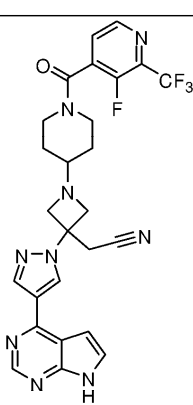
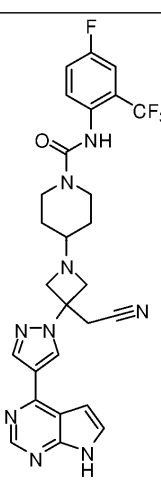
Подтип	Кровь	Костный мозг
Рефрактерная цитопения с однолинейной дисплазией (РЦОД)	Одиночная или двойная цитопения	Дисплазия в $\geq 10\%$ 1 клеточной линии, $< 5\%$ бластов
Рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами (РАКС)	Анемия, бласты отсутствуют	$\geq 15\%$ эритроидных предшественников с кольцевыми сидеробластами, только эритроидная дисплазия, $< 5\%$ бластов
Рефрактерная цитопения с мультилинейной дисплазией	Цитопения (-ии), $< 1 \times 10^9/\text{л}$ моноцитов	Дисплазия в $\geq 10\%$ клеток в ≥ 2 гемопоэтических линиях, $\pm 15\%$ кольцевых сидеробластов, $< 5\%$ бластов
Рефрактерная анемия с избытком бластов-1 (РАИБ-1)	Цитопения (-ии), $\leq 2-4\%$ бластов, $< 1 \times 10^9/\text{л}$ моноцитов	Однолинейная или мультилинейная дисплазия, без телец Ауэра, $5-9\%$ бластов
Рефрактерная анемия с избытком бластов-2 (РАИБ-2)	Цитопения (-ии), $\leq 5-19\%$ бластов, $< 1 \times 10^9/\text{л}$ моноцитов	Однолинейная или мультилинейная дисплазия, $\pm$ тельца Ауэра, $10-19\%$ бластов
Неклассифицированный миелодиспластический синдром (МДС-Н)	Цитопении	Однолинейная дисплазия или без дисплазии, но с характерной для МДС цитогенетикой, $< 5\%$ бластов
МДС, связанный с изолированной делецией del(5q)	Анемия, тромбоциты нормальные или повышенные	Однолинейная эритроидная. Изолированная делеция del(5q), $< 5\%$ бластов

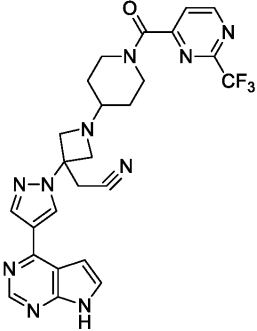
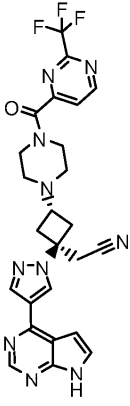
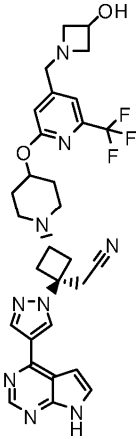
В некоторых вариантах осуществления селективный ингибитор JAK1 является селективным к JAK1 в сравнении с JAK2, JAK3 и TYK2. Например, соединения, описанные в настоящем документе, или их фармацевтически приемлемые соли ингибируют JAK1 более предпочтительно, чем один или более из JAK2, JAK3 и TYK2. В некоторых вариантах осуществления соединения ингибируют JAK1 более предпочтительно, чем JAK2 (например, имеют соотношение JAK1/JAK2 $IC_{50} > 1$). В некоторых вариантах осуществления соединения или соли являются приблизительно в 10 раз более селективными к JAK1, чем к JAK2. В некоторых вариантах осуществления соединения или соли являются приблизительно в 3 раза, приблизительно в 5 раз, приблизительно в 10 раз, приблизительно в 15 раз или приблизительно в 20 раз более селективными к JAK1, чем к JAK2, согласно вычислениям, проведенным при измерении IC_{50} при 1 мМ АТФ (например, см. пример А).

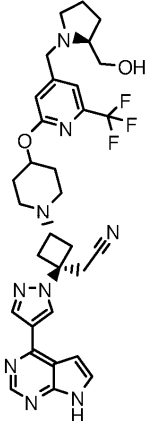
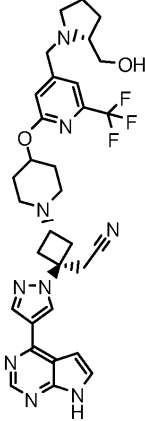
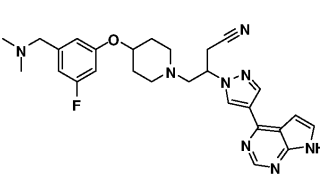
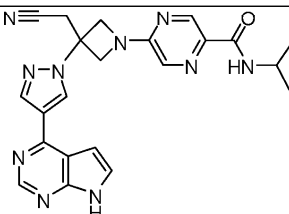
В некоторых вариантах осуществления селективный ингибитор JAK1 представляет собой соединение из табл. 2 или его фармацевтически приемлемую соль.

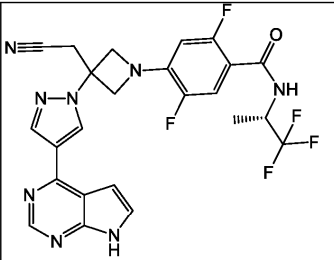
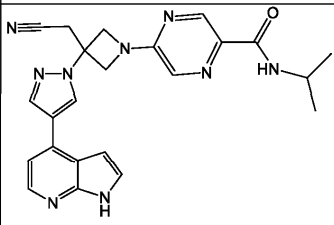
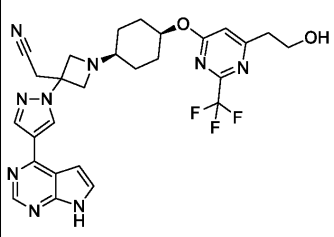
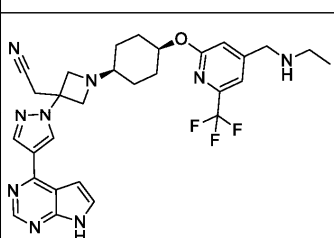
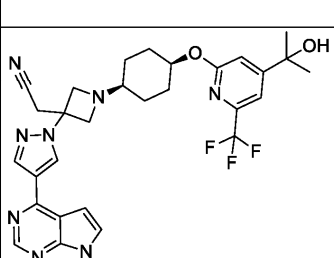
Таблица 2

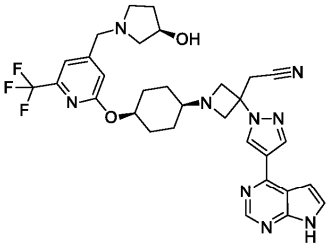
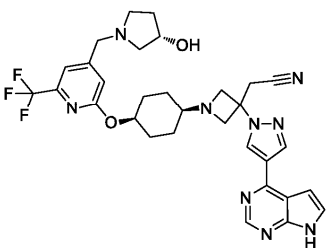
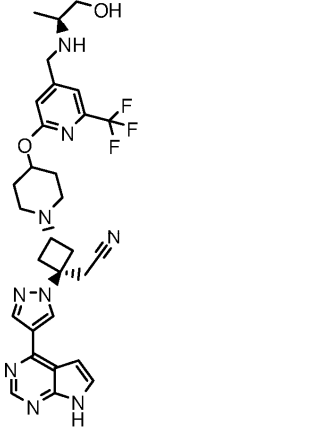
Получ в прим №	Наименование	Структура	JAK1 IC ₅₀ (нМ)	JAK2/ JAK1
1 ^a	3-[1-(6-Хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7Н-пирроло[2,3- <i>d</i>]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил		+	> 10
2	3-(1-[1,3]Оксазоло[5,4- <i>b</i>]пиридин-2-илпирролидин-3-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3- <i>d</i>]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил		+	> 10
3	4-[(4-{3-Циано-2-[4-(7Н-пирроло[2,3- <i>d</i>]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропил} пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрил		+	> 10

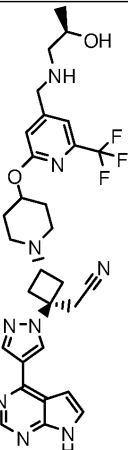
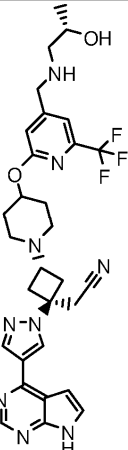
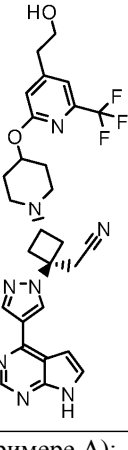
4	4-[(4-{3-Циано-2-[3-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрил		+	> 10
5	{1-{1-[3-Фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	> 10
6	4-{3-(Цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-[4-фтор-2-(трифторметил)фенил]пиперидин-1-карбоксамид		+	> 10

7	[3-[4-(7Н-Пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]-1-(1-{[2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]карбонил}пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил]ацетонитрил		+	> 10
8	[Транс-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]-3-(4-{[2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]карбонил}пиперазин-1-ил)циклобутил]ацетонитрил		+	> 10
9	{Транс-3-(4-{[4-[(3-гидроксиазетидин-1-ил)метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	> 10

10	{Транс-3-(4-{[4-{[(2S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	> 10
11	{Транс-3-(4-{[4-{[(2R)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	> 10
12 ^b	4-(4-{3-[(Диметиламино)метил]-5-фторфенокси}пиперидин-1-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]бутаннитрил		+	> 10
13	5-{3-(Цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид		+	> 10

14	4-{3-(Цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид		+	> 10
15	5-{3-(Цианометил)-3-[4-(1Н-пирроло[2,3-b]пиридин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпипразин-2-карбоксамид		+	> 10
16	{1-(Цис-4-{[6-(2-гидроксиэтил)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	> 10
17	{1-(Цис-4-{[4-[(этиламино)метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	> 10
18	{1-(Цис-4-{[4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	> 10

19	{1-(<i>Цис</i> -4-{[4-{[(3R)-3-гидроксипирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	> 10
20	{1-(<i>Цис</i> -4-{[4-{[(3S)-3-гидроксипирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	> 10
21	{ <i>Транс</i> -3-[4-{[4-{[(1S)-2-гидрокси-1-метилэтил]амино}метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	> 10

22	{Транс-3-(4-{[4-({[(2R)-2-гидроксипропил]амино} метил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	> 10
23	{Транс-3-(4-{[4-({[(2S)-2-гидроксипропил]амино} метил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	> 10
24	{Транс-3-(4-{[4-(2-гидроксиэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	> 10

+означает < 10 нМ (условия анализа см. в примере А);

^a данные по энантиомеру 1;

^b данные по энантиомеру 2.

В некоторых вариантах осуществления селективный ингибитор JAK1 представляет собой соль {1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и адипиновой кислоты.

В некоторых вариантах осуществления селективный ингибитор JAK1 выбирают из (R)-3-[1-(6-хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрила, (R)-3-(1-[1,3]оксазоло[5,4-b]пиридин-2-илпирролидин-3-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрила, (R)-4-[(4-{3-циано-2-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропил} пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрила, (R)-4-[(4-{3-циано-2-[3-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]пропил} пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрила или (R)-4-(4-{3-[(диметиламино)метил]-5-фторфенокси} пиперидин-1-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]бутаннитрила; или фармацевтически приемлемой соли любого из вышеупомянутых соединений.

В некоторых вариантах осуществления селективный ингибитор JAK1 выбирают из (S)-3-[1-(6-хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропан-

нитрила, (S)-3-(1-[1,3]оксазоло[5,4-b]пиридин-2-илпирролидин-3-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрила, (S)-4-[(4-{3-циано-2-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрила, (S)-4-[(4-{3-циано-2-[3-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрила или (S)-4-(4-{3-[(диметиламино)метил]-5-фторфенокси}пиперидин-1-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]бутаннитрила; или фармацевтически приемлемой соли любого из вышеупомянутых соединений.

В некоторых вариантах осуществления селективный ингибитор JAK1 представляет собой GLPG0634 (Galapagos).

В некоторых вариантах осуществления соединения из табл. 2 получают с использованием процедур синтеза, описанных в патентной публикации США № 2010/0298334, поданной 21 мая 2010 г., патентной публикации США № 2011/0059951, поданной 31 августа 2010 г., патентной публикации США № 2011/0224190, поданной 9 марта 2011 г., патентной публикации США № 2012/0149681, поданной 18 ноября 2011 г., патентной публикации США № 2012/0149682, поданной 18 ноября 2011 г., патентной публикации США № 2013/0018034, поданной 19 июня 2012 г., патентной публикации США № 2013/0045963, поданной 17 августа 2012 г., и патентной публикации США № 2014/0005166, поданной 17 мая 2013 г., каждая из которых полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор JAK1 выбирают из соединений из патентной публикации США № 2010/0298334, поданной 21 мая 2010 г., патентной публикации США № 2011/0059951, поданной 31 августа 2010 г., патентной публикации США № 2011/0224190, поданной 9 марта 2011 г., патентной публикации США № 2012/0149681, поданной 18 ноября 2011 г., патентной публикации США № 2012/0149682, поданной 18 ноября 2011 г., патентной публикации США № 2013/0018034, поданной 19 июня 2012 г., патентной публикации США № 2013/0045963, поданной 17 августа 2012 г., и патентной публикации США № 2014/0005166, поданной 17 мая 2013 г., каждая из которых полностью включена в настоящий документ путем ссылки.

В некоторых вариантах осуществления миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную цитопению с однолинейной дисплазией (РЦОД).

В некоторых вариантах осуществления миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную анемию с кольцевыми сидеробластами (РАКС).

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

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

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

В некоторых вариантах осуществления миелодиспластический синдром представляет собой некласифицированный миелодиспластический синдром (МДС-Н).

В некоторых вариантах осуществления миелодиспластический синдром представляет собой миелодиспластический синдром, связанный с изолированной делецией del(5q).

В некоторых вариантах осуществления миелодиспластический синдром является устойчивым к средствам стимуляции эритропоэза (ESA). В некоторых вариантах осуществления устойчивость к ESA означает отсутствие улучшений по Hgb при по меньшей мере 1,5 г/дл после приема в течение 8 недель по меньшей мере 40000 МЕ/неделя эритропоэтина (ЕРО) (или эквивалента).

В некоторых вариантах осуществления пациент зависим от трансфузии эритроцитов. В некоторых вариантах осуществления зависимость от трансфузии эритроцитов означает, что пациенту необходимо по меньшей мере 4 единицы упаковок эритроцитов при Hgb < 9 г/дл в течение 8 недель перед лечением.

В некоторых вариантах осуществления пациент имеет повышенные уровни гепцидина в сыворотке по сравнению с контрольной группой здоровых субъектов. В некоторых вариантах осуществления пациент имеет повышенную концентрацию с-реактивного белка (CRP) в сыворотке по сравнению с контрольной группой здоровых субъектов. В некоторых вариантах осуществления повышенная концентрация CRP в сыворотке представляет собой концентрацию, равную или превышающую приблизительно 10 мкг/мл. В некоторых вариантах осуществления понятие "здоровые субъекты" определено, как указано в публикации Santini et al., PLoS One, 6(S), e23109, pages 1-8 (2011), полностью включенной в настоящий документ путем ссылки.

В некоторых вариантах осуществления пациент имеет оценку 1 или 2 по модифицированной прогностической шкале Глазго. Модифицированная прогностическая шкала Глазго (GPS) описана в публикации McMillan, Cancer Treatment Reviews, 39 (5):534-540 (2013), которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки (и, в частности, оценки показаны в табл. 1).

В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении предложено соединение, описанное в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемая соль, как описано в любом из приведенных в настоящем документе вариантов осуществления, для применения в способе лечения любого из заболеваний или расстройств, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществле-

ния в настоящем изобретении предложено применение соединения, описанного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли, как описано в любом из приведенных в настоящем документе вариантов осуществления, для получения лекарственного средства, применяемого в способе лечения любого из заболеваний или расстройств, описанных в настоящем документе.

Селективные ингибиторы JAK1 также включают фармацевтически приемлемые соли соединений, описанных в настоящем документе. В настоящем документе "фармацевтически приемлемыми солями" называют производные раскрытых соединений, где исходное соединение модифицируют путем преобразования имеющегося кислотного или щелочного остатка в его солевую форму. Примеры фармацевтически приемлемых солей включают, без ограничений, неорганические или органические кислые соли щелочных остатков, например амины; щелочные или органические соли кислотных остатков, таких как карбоновые кислоты; и т.п. Фармацевтически приемлемые соли включают нетоксичные соли исходного соединения, образованные, например, из нетоксичных неорганических или органических кислот. Фармацевтически приемлемые соли можно синтезировать из исходного соединения, содержащего щелочной или кислотный остаток, традиционными химическими способами. По существу, такие соли можно получить в результате реакции свободных кислотных или щелочных форм этих соединений со стехиометрическим количеством соответствующей щелочи или кислоты в воде или в органическом растворителе, или в смеси этих двух веществ; по существу, предпочтительны неводные среды, такие как простой эфир, этилацетат, спирты (например, метанол, этанол, изопропанол или бутанол) или ацетонитрил (ACN). Список приемлемых солей приведен в публикациях Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418 и Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977), которые полностью включены в настоящий документ путем ссылки. В некоторых вариантах осуществления соединения, описанные в настоящем документе, включают N-оксидные формы.

Соединения, описанные в настоящем документе, могут быть асимметричными (например, имеющими один или более стереоцентров). При отсутствии особых указаний предполагаются все стереоизомеры, такие как энантиомеры и диастереоизомеры. Соединения, описанные в настоящем документе, которые содержат атомы углерода с асимметричными заместителями, могут быть выделены в оптически активных или рацемических формах. В данной области известны способы получения оптически активных форм из оптически неактивных исходных материалов, например разделение рацемических смесей или стереоселективный синтез. Многие геометрические изомеры олефинов, двойных связей $C=N$ и т.п. также могут присутствовать в соединениях, описанных в настоящем документе, и все такие стабильные изомеры предусмотрены в настоящем изобретении. Описаны цис и транс геометрические изомеры соединений настоящего изобретения, и они могут быть выделены в виде смеси изомеров или разделенных изомерных форм.

Разделение рацемических смесей соединений может быть проведено любым из множества способов, известных в данной области. Пример способа включает фракционную перекристаллизацию с использованием хиральной разделяющей кислоты, которая представляет собой оптически активную солеобразующую органическую кислоту. К приемлемым разделяющим средствам для способов фракционной перекристаллизации относятся, например, оптически активные кислоты, например, D- и L-формы винной кислоты, диацетилвинной кислоты, дибензоилвинной кислоты, миндальной кислоты, яблочной кислоты, молочной кислоты или различных оптически активных камфорсульфокислот, таких как β -камфорсульфокислота. Другие разделяющие средства, приемлемые для способов фракционной перекристаллизации, включают стереоизомерно чистые формы α -метилбензиламина (например, S- и R-формы или диастереомерно чистые формы), 2-фенилглицинол, норэфедрин, эфедрин, N-метилэфедрин, циклогексилэтиламин, 1,2-диаминоциклогексан и т.п.

Разделение рацемических смесей также можно проводить путем элюирования на колонке, нагруженной оптически активным разделяющим средством (например, динитробензоилфенилглицином). Специалист в данной области может определить приемлемую композицию элюирующих растворителей.

Соединения, описанные в настоящем документе, также включают таутомерные формы. Таутомерные формы являются результатом перестановки одинарной связи и смежной с ней двойной связи в сочетании с одновременным переходом протона. Таутомерные формы включают прототропные таутомеры, представляющие собой изомерные состояния протонирования, которые имеют одинаковую эмпирическую формулу и суммарный заряд. Примеры прототропных таутомеров включают кетон-енольные пары, амид-имидкислотные пары, лактам-лактимные пары, енамин-иминные пары и кольцевые формы, в которых протон может занимать два или более положений в гетероциклической системе, например, 1Н- и 3Н-имидазол, 1Н-, 2Н- и 4Н- 1,2,4-триазол, 1Н- и 2Н-изоиндол и 1Н- и 2Н-пиразол. Таутомерные формы могут находиться в равновесии или могут быть стерически заблокированы в одной форме путем соответствующей замены.

Соединения изобретения также могут включать все изотопы атомов, встречающиеся в промежуточных продуктах и конечных соединениях. Изотопы включают атомы, имеющие одинаковый атомный номер, но разные массовые числа. Например, изотопы водорода включают дейтерий.

Термин "соединение" в настоящем документе включает все стереоизомеры, геометрические изомер-

ры, таутомеры и изотопы показанных структур. Более того, в настоящем документе предполагается, что соединения, идентифицированные по названию или структуре как одна конкретная таутомерная форма, включают другие таутомерные формы, если конкретно не указано иное.

Все соединения и их фармацевтически приемлемые соли могут находиться вместе с другими веществами, такими как вода или растворители (например, гидраты и сольваты), или могут быть выделенными.

В некоторых вариантах осуществления соединения, описанные в настоящем документе, или их соли являются по существу выделенными. Термин "по существу выделенный" означает, что соединение является, по меньшей мере, частично или по существу отделенным от среды, в которой оно было образовано или обнаружено. Частичное отделение может включать, например, композицию, обогащенную соединениями изобретения. Существенное отделение может включать композиции, содержащие по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 97% или по меньшей мере приблизительно 99% мас. соединений изобретения или их солей. Способы выделения соединений и их солей являются стандартными для данной области.

В настоящем документе термины "субъект" или "пациент" используются взаимозаменяемо и относятся к любому животному, включая млекопитающих, предпочтительно мышей, крыс, других грызунов, кроликов, собак, кошек, свиней, коров, овец, лошадей или приматов, а наиболее предпочтительно людей.

В настоящем документе фраза "терапевтически эффективное количество" относится к количеству активного соединения или фармацевтического средства, вызывающему искомый исследователем, ветеринаром, врачом или другим клиницистом биологический или медицинский ответ в ткани, системе, у животного, субъекта или человека. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество составляет от приблизительно 1 мг до приблизительно 100 мг, от приблизительно 1 мг до приблизительно 20 мг, от приблизительно 4 мг до приблизительно 10 мг, от приблизительно 5 мг до приблизительно 1000 мг или от приблизительно 10 мг до приблизительно 500 мг. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество составляет 4, 6 или 10 мг один раз в день.

Фраза "фармацевтически приемлемый" используется в настоящем документе для обозначения тех соединений, материалов, композиций и/или дозированных форм, которые в пределах обоснованного медицинского мнения подходят для применения в контакте с тканями человека и животных, не вызывая излишнего токсического, раздражающего, аллергического ответа или другой проблемы или осложнения, соизмеримого с разумным соотношением польза/риск.

В настоящем документе термин "лечить" или "лечение" означает одно или более из следующего: (1) профилактику заболевания; например профилактику заболевания, состояния или расстройства у субъекта, который может быть предрасположен к развитию заболевания, состояния или расстройства, но еще не испытывает или не имеет признаков патологии или симптоматики заболевания; (2) торможение развития заболевания; например торможение развития заболевания, состояния или расстройства у субъекта, который испытывает или имеет признаки патологии или симптоматики заболевания, состояния или расстройства (т.е. остановка дальнейшего развития патологии и/или симптоматики); и (3) облегчение симптомов заболевания; например облегчение симптомов заболевания, состояния или расстройства у субъекта, который испытывает или имеет признаки патологии или симптоматики заболевания, состояния или расстройства (т.е. положительная динамика в развитии патологии и/или симптоматики), например снижение степени тяжести заболевания.

Комбинированные виды терапии.

Способы, описанные в настоящем документе, также могут дополнительно включать введение одного или более дополнительных терапевтических средств. Одно или более терапевтических средств можно вводить пациенту одновременно или последовательно.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение дополнительного терапевтического средства, выбранного из иммуномодуляторов, средства против IL-6, средства против TNF- α , гипометилирующего средства и модификатора биологического ответа (BRM).

По существу, BRM представляет собой вещества, полученные из живых организмов, для лечения заболевания, и они могут образовываться в организме естественным образом или могут быть получены в лаборатории. Примеры BRM включают IL-2, интерферон, различные типы колониестимулирующих факторов (CSF, GM-CSF, G-CSF), моноклональные антитела, такие как абциксымаб, этанерцепт, инфликсимаб, ритуксимаб, трастузумаб и высокие дозы аскорбата.

В некоторых вариантах осуществления средство против TNF- α представляет собой инфликсимаб и этанерцепт.

В некоторых вариантах осуществления гипометилирующее средство представляет собой ингибитор ДНК-метилтрансферазы. В некоторых вариантах осуществления ингибитор ДНК-метилтрансферазы выбирают из 5-азациитидина и децитабина.

По существу, иммуномодуляторы представляют собой средства модуляции иммунитета. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулятор выбирают из талидомида, леналидомида, помалидоми-

да, CC-11006 и CC-10015.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение дополнительного терапевтического средства, которое выбирают из антитимоцитарного глобулина, рекомбинантного человеческого гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), гранулоцитарно-моноцитарного колониестимулирующего фактора (GM-CSF), средства стимулирования эритропоэза (ESA) и циклоспорина.

В некоторых вариантах осуществления способ также включает введение пациенту дополнительного ингибитора JAK. В некоторых вариантах осуществления дополнительный ингибитор JAK представляет собой тофацитиниб или руксолитиниб.

Одно или более терапевтических средств могут включать химиотерапевтические средства, противовоспалительные средства, стероиды, иммуносупрессоры, а также ингибиторы киназ Bcr-Abl, Flt-3, RAF и FAK, например, описанные в публикации WO 2006/056399, которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки, или другие средства в комбинации с соединениями, описанными в настоящем документе.

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

Примеры стероидов включают кортикостероиды, такие как дексаметазон или преднизон.

Примеры ингибиторов Bcr-Abl включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли классов и видов, раскрытых в патенте США № 5521184, публикации WO 04/005281 и публикации США № 60/578491, все из которых полностью включены в настоящий документ путем ссылки.

Примеры приемлемых ингибиторов Flt-3 включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, раскрытые в публикациях WO 03/037347, WO 03/099771 и WO 04/046120, все из которых полностью включены в настоящий документ путем ссылки.

Примеры приемлемых ингибиторов RAF включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, раскрытые в публикациях WO 00/09495 и WO 05/028444, обе из которых полностью включены в настоящий документ путем ссылки.

Примеры приемлемых ингибиторов FAK включают соединения и их фармацевтически приемлемые соли, раскрытые в публикациях WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595 и WO 01/014402, все из которых полностью включены в настоящий документ путем ссылки.

В некоторых вариантах осуществления одно или более из соединений изобретения можно использовать в комбинации с одним или более другими ингибиторами киназ, включая иматиниб, в особенности для лечения пациентов, устойчивых к иматинибу или другим ингибиторам киназ.

В некоторых вариантах осуществления приемлемое химиотерапевтическое средство может быть выбрано из антиметаболических средств, ингибиторов топоизомеразы I, аналогов платины, таксанов, антрациклинов и ингибиторов EGFR, а также их комбинаций.

В некоторых вариантах осуществления антиметаболические средства включают капецитабин, гемцитабин и фторурацил (5-FU).

В некоторых вариантах осуществления таксаны включают паклитаксел, Abraxane® (связанные с белком паклитакселем частицы в виде пригодной для инъекции суспензии) и Taxotere® (доцетаксел).

В некоторых вариантах осуществления аналоги платины включают оксалиплатин, цисплатин и карбоплатин.

В некоторых вариантах осуществления ингибиторы топоизомеразы I включают иринотекан и топо-текан.

В некоторых вариантах осуществления антрациклины включают доксорубин или липосомальные составы доксорубина.

В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство представляет собой FOLFIRINOX (5-FU, лековорин, иринотекан и оксалиплатин). В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое средство представляет собой гемцитабин и Abraxane® (связанные с белком паклитакселем частицы в виде пригодной для инъекции суспензии).

В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой мелфалан, мелфалан плюс преднизон [MP], доксорубин, дексаметазон и Velcade (бортезомиб). Дополнительные средства, используемые в лечении множественной миеломы, включают ингибиторы киназ Bcr-Abl, Flt-3, RAF и FAK. Средства можно комбинировать с настоящими соединениями в дозированной форме для однократного или непрерывного применения или средства могут вводиться одновременно или последовательно в виде отдельных дозированных форм.

В некоторых вариантах осуществления кортикостероид, например дексаметазон, вводят пациенту в комбинации по меньшей мере с одним селективным ингибитором JAK1, причем дексаметазон вводят с чередованием, а не непрерывно.

В некоторых дополнительных вариантах осуществления пациенту можно вводить комбинации одного или более селективных ингибиторов JAK1 с другими терапевтическими средствами перед, во время

и/или после трансплантации костного мозга или трансплантации стволовых клеток.

В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой флуоцинолона ацетонид (Retisert®) или римексолон (AL-2178, Vexol, Alcon).

В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой циклоспорин (Restasis®).

В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой кортикостероид. В некоторых вариантах осуществления кортикостероид представляет собой триамцинолон, дексаметазон, флуоцинолон, кортизон, преднизолон или флуметолон.

В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство выбирают из Dehydrox™ (Holies Labs), цивамида (Opko), гиалуроната натрия (Vismed, Lantibio/TRB Chemedia), циклоспорина (ST-603, Sirion Therapeutics), ARG101(T) (тестостерон, Argentis), AGR1012(P) (Argentis), экабета натрия (Senju-Ista), гефарната (Santen), 15-(s)-гидроксиэйкозатетраеновой кислоты (15(S)-HETE), цевилемина, доксициклина (ALTY-0501, Alacritы), миноциклина, iDestrin™ (NP50301, Nascent Pharmaceuticals), циклоспорина А (Nova22007, Novagali), окситетрациклина (Duramycin, MOLI1901, Lantibio), CF101 (2S,3S,4R,5R)-3,4-дигидрокси-5-[6-[(3-йодфенил)метиламино]пурин-9-ил]-N-метил-оксолан-2-карбамила, Can-Fite Biopharma), воклоспорина (LX212 или LX214, Lux Biosciences), ARG103 (Agentis), RX-10045 (синтетический аналог резольвина, Resolvix), DYN15 (Dyanmis Therapeutics), ривоглитазона (DE011, Daiichi Sankо), TB4 (RegeneRx), OPH-01 (Ophtalmis Monaco), PCS101 (Pericor Science), REV1-31 (Evolutec), лакритина (Senju), ребамипида (Otsuka-Novartis), OT-551 (Othera), PAI-2 (Университет Пенсильвании и Университет Темпл), пилокарпина, такролимуса, пимекролимуса (AMS981, Novartis), этабоната лотепреднола, ритуксимаба, тетранатрия диквафозола (INS365, Inspire), KLS-0611 (Kissei Pharmaceuticals), дегидроэпиандростерона, анакинры, эфализумаба, микофенолята натрия, этанерцепта (Embrel®), гидроксихлорохина, NGX267 (TorgreyPines Therapeutics), актемы, гемцитабина, оксалиплатина, L-аспарагиназы или талидомида.

В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой противоангиогенное средство, холинэргический агонист, модулятор рецептора TRP-1, блокатор кальциевых каналов, стимулятор секреции муцина, стимулятор MUC1, ингибитор кальцийнейрина, кортикостероид, агонист рецептора P2Y2, агонист мускаринового рецептора, ингибитор mTOR, другой ингибитор JAK, ингибитор киназы Bcr-Abl, ингибитор киназы Flt-3, ингибитор киназы RAF и ингибитор киназы FAK, например, описанные в публикации WO 2006/056399, которая полностью включена в настоящий документ путем ссылки. В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой производное тетрациклина (например, миноциклин или доксициклин). В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство связывается с FKBP12.

В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство представляет собой алкилирующее средство или поперечно-сшивающее ДНК средство; антиметаболическое/деметилирующее средство (например, 5-фторурацил, капецитабин или азациитидин); антигормональное терапевтическое средство (например, антагонисты рецепторов гормонов, SERM или ингибитор ароматазы); ингибитор митоза (например, винкристин или паклитаксел); ингибитор топоизомеразы (I или II) (например, митоксантрон и иринотекан); индукторы апоптоза (например, АВТ-737); терапевтические нуклеиновые кислоты (например, антисмысловые или интерферирующие РНК); лиганды ядерных рецепторов (например, агонисты и/или антагонисты: полностью транс-ретиноевая кислота или бексаротен); направленные эпигенетические средства, такие как ингибиторы деацетилазы гистонов (например, вориностат), гипометилирующие средства (например, децитабин); регуляторы стабильности белков, такие как ингибиторы Hsp90, убиквитин и/или убиквитин-подобные конъюгирующие и деконъюгирующие молекулы; или ингибитор EGFR (эрлотиниб).

Фармацевтические составы и дозированные формы.

При использовании в фармацевтических препаратах селективный ингибитор JAK1 можно вводить в виде фармацевтических композиций. Эти композиции можно получать способом, хорошо известным в фармацевтической отрасли и можно вводить разнообразными путями в зависимости от того, требуется ли местное или системное лечение, а также в зависимости от области, лечение которой проводится. Введение может быть местным (в том числе трансдермальным, эпидермальным, офтальмологическим и на слизистые оболочки, включая интраназальную, вагинальную и ректальную доставку), легочным (например, путем вдыхания или инсуффляции порошков или аэрозолей, в том числе с использованием распылителя; интратрахеальным или интраназальным), пероральным или парентеральным. Парентеральный способ введения включает внутривенное, внутриартериальное, подкожное, внутрибрюшинное, внутримышечное введение или инъекцию или инфузию; или внутрочерепное, например интратекальное или внутрижелудочковое введение. Парентеральное введение может иметь вид однократной болюсной дозы или может вводиться непрерывно при помощи перфузионного насоса. Фармацевтические композиции и составы для местного применения могут включать трансдермальные пластыри, мази, лосьоны, кремы, гели, капли, суппозитории, спреи, жидкости и порошки. Необходимыми или желательными могут быть традици-

онные фармацевтические носители, водные, порошковые или масляные основы, загустители и т.п.

Настоящее изобретение также включает фармацевтические композиции, которые в качестве активного ингредиента содержат селективный ингибитор JAK1, описанный в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль, в комбинации с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями (эксципиентами). В некоторых вариантах осуществления композиция является приемлемой для местного нанесения. При приготовлении композиций активный ингредиент обычно смешивают с эксципиентом, разбавляют эксципиентом или заключают внутрь такого носителя в виде, например капсулы, саше, бумаги или другого контейнера. Если эксципиент служит разбавителем, он может быть твердым, полутвердым или жидким материалом, который играет роль основы, носителя или среды для активного ингредиента. Следовательно, композиции могут иметь вид таблеток, пилюль, порошков, леденцов, саше, облаток, эликсиров, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (в твердом виде или в жидкой среде), мазей, содержащих, например, до 10 мас.%, активного соединения, мягких и твердых желатиновых капсул, суппозитория, стерильных растворов для инъекций и стерильно упакованных порошков.

При получении состава активное соединение может быть размолото для получения частиц соответствующего размера перед объединением с другими ингредиентами. Если активное соединение является по существу нерастворимым, его можно размолоть до размера частиц менее чем 200 меш. Если активное соединение является по существу растворимым в воде, размер частиц при помоле можно регулировать, чтобы получить по существу равномерное распределение в составе, например, приблизительно 40 меш.

Селективные ингибиторы JAK1 можно размалывать, используя известные процедуры помола, например влажного помола, с получением размера частиц, подходящего для формирования таблеток и других типов составов. Мелкодисперсные препараты (наночастицы) селективных ингибиторов JAK1 можно получать, используя процессы, известные в данной области, например, см. заявку на международный патент № WO 2002/000196.

Некоторые примеры приемлемых эксципиентов включают лактозу, декстрозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмалы, акациевую камедь, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, воду, сироп и метилцеллюлозу. Составы могут дополнительно включать смазывающие средства, например тальк, стеарат магния и минеральное масло; увлажняющие средства; эмульгирующие и суспендирующие средства; консервирующие средства, например метил- и пропилигидроксibenзоаты; подсластители и ароматизаторы. Композиции могут быть составлены так, чтобы обеспечивать быстрое, замедленное или отсроченное высвобождение активного ингредиента после его введения пациенту с использованием процедур, известных в данной области.

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

В некоторых вариантах осуществления композиция представляет собой композицию с замедленным высвобождением, содержащую по меньшей мере один селективный ингибитор JAK1, описанный в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит по меньшей мере один селективный ингибитор JAK1, описанный в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль и по меньшей мере один компонент, который выбирают из микрокристаллической целлюлозы, моногидрата лактозы, гидроксипропилметилцеллюлозы и полиэтиленоксида. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит по меньшей мере один селективный ингибитор JAK1, описанный в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль и микрокристаллическую целлюлозу, моногидрат лактозы и гидроксипропилметилцеллюлозу. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит по меньшей мере один селективный ингибитор JAK1, описанный в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль и микрокристаллическую целлюлозу, моногидрат лактозы и полиэтиленоксид. В некоторых вариантах осуществления композиция дополнительно содержит стеарат магния или диоксид кремния. В некоторых вариантах осуществления микрокристаллическая целлюлоза представляет собой Avicel PH102™. В некоторых вариантах осуществления моногидрат лактозы представляет собой Fast-flo 316™. В некоторых вариантах осуществления гидроксипропилметилцеллюлоза представляет собой гидроксипропилметилцеллюлозу 2208 K4M (например, Methocel K4 M Premier™) и/или гидроксипропилметилцеллюлозу 2208 K100LV (например, Methocel K00LV™). В некоторых вариантах осуществления полиэтиленоксид представляет собой полиэтиленоксид WSR 1105 (например, Polyox WSR 1105™).

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

Композиции могут быть составлены в виде единичной дозированной формы, причем каждая доза содержит от приблизительно 5 до приблизительно 1000 мг (1 г), более типично от приблизительно 100 мг до приблизительно 500 мг активного ингредиента. В некоторых вариантах осуществления каждая доза содержит приблизительно 10 мг активного ингредиента. В некоторых вариантах осуществления каждая доза содержит приблизительно 50 мг активного ингредиента. В некоторых вариантах осуществления каждая доза содержит приблизительно 25 мг активного ингредиента. Термин "единичные дозированные формы" относится к физически дискретным единицам, приемлемым для использования в качестве однократных дозировок для субъектов-людей и других млекопитающих, где каждая единица содержит предвременно заданное количество активного материала, рассчитанное для достижения необходимого терапевтического эффекта, в сочетании с приемлемым фармацевтическим эксципиентом.

В некоторых вариантах осуществления композиции содержат от приблизительно 2 мг до приблизительно 10 мг или от приблизительно 5 мг до приблизительно 50 мг активного ингредиента. Специалисту в данной области будет очевидно, что в этот диапазон входят соединения или композиции, содержащие от приблизительно 2 мг до приблизительно 10 мг, от 5 мг до приблизительно 10 мг, от приблизительно 10 мг до приблизительно 15 мг, от приблизительно 15 мг до приблизительно 20 мг, от приблизительно 20 мг до приблизительно 25 мг, от приблизительно 25 мг до приблизительно 30 мг, от приблизительно 30 мг до приблизительно 35 мг, от приблизительно 35 мг до приблизительно 40 мг, от приблизительно 40 мг до приблизительно 45 мг или от приблизительно 45 мг до приблизительно 50 мг активного ингредиента.

В некоторых вариантах осуществления композиции содержат от приблизительно 50 мг до приблизительно 500 мг активного ингредиента. Специалисту в данной области будет очевидно, что в этот диапазон входят соединения или композиции, содержащие от приблизительно 50 мг до приблизительно 100 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 150 мг, от приблизительно 150 мг до приблизительно 200 мг, от приблизительно 200 мг до приблизительно 250 мг, от приблизительно 250 мг до приблизительно 300 мг, от приблизительно 300 мг до приблизительно 350 мг, от приблизительно 350 мг до приблизительно 400 мг или от приблизительно 400 мг до приблизительно 500 мг активного ингредиента.

В некоторых вариантах осуществления композиции содержат от приблизительно 500 мг до приблизительно 1000 мг активного ингредиента. Специалисту в данной области будет очевидно, что в этот диапазон входят соединения или композиции, содержащие от приблизительно 500 мг до приблизительно 550 мг, от приблизительно 550 мг до приблизительно 600 мг, от приблизительно 600 мг до приблизительно 650 мг, от приблизительно 650 мг до приблизительно 700 мг, от приблизительно 700 мг до приблизительно 750 мг, от приблизительно 750 мг до приблизительно 800 мг, от приблизительно 800 мг до приблизительно 850 мг, от приблизительно 850 мг до приблизительно 900 мг, от приблизительно 900 мг до приблизительно 950 мг или от приблизительно 950 мг до приблизительно 1000 мг активного ингредиента.

Активное соединение может быть эффективным в широком диапазоне доз и по существу вводится в фармацевтически эффективном количестве. Однако будет понятно, что количество фактически вводимого соединения обычно определяет врач с учетом соответствующих обстоятельств, в том числе состояния, которое нужно вылечить, выбранного способа введения, фактически вводимого соединения, возраста, массы тела и реакции конкретного пациента, степени тяжести симптомов у пациента и т.п.

Для получения твердых композиций, таких как таблетки, основной активный ингредиент смешивают с фармацевтическим эксципиентом с формированием твердой композиции до придания лекарственной формы, которая содержит однородную смесь соединения, описанного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли. Характеристика таких композиций как однородных до придания им лекарственной формы, как правило, означает, что активный компонент равномерно диспергирован по всей композиции, так что композицию можно легко разделить на единичные дозированные формы равной эффективности, такие как таблетки, пилюли и капсулы. Затем данную твердую композицию до придания лекарственной формы делят на дозированные лекарственные формы описанных выше типов, содержащие, например, от приблизительно 0,1 до приблизительно 1000 мг активного ингредиента настоящего изобретения.

Таблетки или пилюли можно покрыть оболочкой или составить иным образом с образованием дозированной формы, обеспечивающей преимущество пролонгированного действия. Например, таблетка или пилюля может содержать внутренний и внешний дозированные компоненты, последний из которых является своего рода конвертом, заключающим в себе предыдущий компонент. Эти два компонента могут быть разделены кишечнорастворимым слоем, который служит для защиты от расщепления в желудке и позволяет внутреннему компоненту проходить в двенадцатиперстную кишку в интактном состоянии или высвобождаться с отсрочкой. Для таких кишечнорастворимых слоев или оболочек можно использовать разнообразные материалы, в том числе ряд полимерных кислот и смесей полимерных кислот с такими материалами, как шеллак, цетиловый спирт и ацетатцеллюлоза.

Жидкие формы, в которые можно включать соединения и композиции для перорального введения или для введения путем инъекции, включают водные растворы, сиропы с подходящим ароматизатором, водные или масляные суспензии и ароматизированные эмульсии с пищевыми маслами, такими как хлопковое масло, кунжутное масло, кокосовое масло или арахисовое масло, а также эликсиры и аналогичные фармацевтические основы.

Композиции для ингаляции или инсуффляции включают растворы и суспензии в фармацевтически приемлемых водных или органических растворителях или их смесях, а также порошки. Жидкие или твердые композиции могут содержать подходящие фармацевтически приемлемые эксципиенты, как описано выше. В некоторых вариантах осуществления композиции вводят пероральным или назальным респираторным способом для получения местного или системного эффекта. Композиции можно распылять с применением инертных газов. Распыленные растворы можно вдыхать непосредственно из распылительного устройства, или же распылительное устройство может быть прикреплено к лицевым маскам, палатке или дыхательному аппарату с перемежающимся положительным давлением. Раствор, суспензию или порошковые композиции можно вводить перорально или назально из устройств, подающих состав надлежащим образом.

Составы для местного применения могут содержать один или более традиционных носителей. В некоторых вариантах осуществления мази могут содержать воду и один или более гидрофобных носителей, которые выбирают, например, из жидкого парафина, полиоксиэтиленалкилового простого эфира, пропиленгликоля, белого вазелина и т.п. Композиции носителей для кремов могут быть основаны на комбинации воды с глицерином и одним или более другими компонентами, например глицеринмоностеаратом, ПЭГ-глицеринмоностеаратом и цетилстеариловым спиртом. Гели могут быть составлены с использованием изопропилового спирта и воды, возможно, в комбинации с другими компонентами, такими как, например, глицерин, гидроксипропилцеллюлоза и т.п. В некоторых вариантах осуществления составы для местного применения содержат по меньшей мере приблизительно 0,1, по меньшей мере приблизительно 0,25, по меньшей мере приблизительно 0,5, по меньшей мере приблизительно 1, по меньшей мере приблизительно 2 или по меньшей мере приблизительно 5 мас.%, соединения, описанного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли. Композиции для местного применения можно надлежащим образом упаковывать в тубы, например по 100 г, к которым необязательно прилагают инструкции по лечению при конкретном показании, например при псориазе или другом заболевании кожи.

Количество соединения или композиции, вводимой пациенту, зависит от вводимой композиции, цели введения (например, профилактика или терапия), состояния пациента, способа введения и т.п. При терапевтическом применении композиции можно вводить пациенту, уже страдающему заболеванием, в количестве, достаточном для лечения или, по меньшей мере, устранения симптомов заболевания и его осложнений. Эффективные дозы зависят от патологического состояния, которое нужно вылечить, а также от мнения лечащего врача с учетом таких факторов, как степень тяжести заболевания, возраст, масса тела, общее состояние пациента и т.п.

Вводимые пациенту композиции могут иметь вид вышеописанных фармацевтических композиций. Эти композиции могут быть стерилизованы при помощи традиционных методик стерилизации или могут быть стерильно профильтрованы. Водные растворы можно упаковать для применения как есть или лиофилизировать, и лиофилизированный препарат можно соединить со стерильным водным носителем перед введением. Значения pH препаратов соединения, как правило, составляют от 3 до 11, более предпочтительно от 5 до 9, а наиболее предпочтительно от 7 до 8. Следует понимать, что применение некоторых из вышеуказанных эксципиентов, носителей и стабилизаторов будет приводить к образованию фармацевтических солей.

Терапевтическая дозировка селективного ингибитора JAK1, описанного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли может варьировать в соответствии, например, с конкретным применением для лечения, способом введения соединения, здоровьем и состоянием пациента и мнением выдающего предписание врача. Доля или концентрация соединения, описанного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли в фармацевтической композиции может варьировать в зависимости от ряда факторов, в том числе от дозы, химических характеристик (например, гидрофобности) и способа введения. Например, селективный ингибитор JAK1 может быть представлен в водном физиологическом буферном растворе, содержащем от приблизительно 0,1 до приблизительно 10% мас./об. соединения для парентерального введения. Некоторые типичные дозы находятся в диапазоне от приблизительно 1 мкг/кг до приблизительно 1 г/кг массы тела в сутки. В некоторых вариантах осуществления дозы находятся в диапазоне от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 100 мг/кг массы тела в сутки. Вероятно, доза зависит от таких переменных факторов, как тип и степень прогрессирования заболевания или расстройства, общее состояние здоровья конкретного пациента, относительная биологическая эффективность выбранного соединения, состав эксципиента и способ его введения. Эффективная доза может быть экстраполирована на основе кривых "доза-ответ", полученных *in vitro* или в животных модельных тестовых системах.

Композиции изобретения могут дополнительно включать одно или более дополнительных фармацевтических средств, таких как химиотерапевтическое средство, стероид, противовоспалительное соединение или иммуносупрессор, примеры которых представлены выше в настоящем документе.

Наборы.

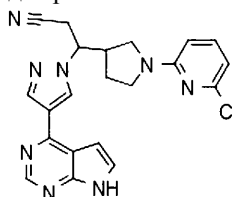
Настоящее изобретение также включает фармацевтические наборы, которые могут использоваться, например, в лечении или профилактике миелодиспластического синдрома, и которые содержат один или

более контейнеров, содержащих фармацевтическую композицию, включающую терапевтически эффективное количество соединения, описанного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемой соли. Такие наборы могут при необходимости дополнительно включать один или более различных традиционных компонентов фармацевтических наборов, например контейнеры с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями, дополнительные контейнеры и т.д., как будет хорошо известно специалистам в данной области. Кроме того, в набор могут быть включены инструкции в виде вкладышей или этикеток с указанием количеств компонентов, которые нужно ввести, инструкции по введению и/или указания по смешиванию компонентов.

Примеры

Изобретение будет описано более подробно с помощью конкретных примеров. Приведенные ниже примеры предложены для целей иллюстрации и не должны каким-либо образом ограничивать изобретение. Специалистам в данной области будут очевидны разнообразные параметры, не являющиеся критически важными, которые можно изменять или модифицировать с получением по существу таких же результатов. Было установлено, что приведенные в примерах соединения являются ингибиторами JAK по данным по меньшей мере одного анализа, описанного в настоящем документе.

Пример 1. 3-[1-(6-Хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил (выделено два разных энантиомера)



Этап 1. Бензил 3-{2-циано-1-[4-(7-{2-(триметилсилил)этокси}метил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил}этил}пирролидин-1-карбоксилат.

Бензил 3-[2-циановинил]пирролидин-1-карбоксилат (4,3 г, 0,017 моль, смесь E- и Z-изомеров, получена так, как описано в WO 2007/070514, прим. 742) растворяли в ацетонитриле (270 мл). Добавляли 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен (5,02 мл, 0,0336 моль), а затем 4-(1Н-пиразол-4-ил)-7-{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин (5,6 г, 0,017 моль, получен так, как описано в WO 2007/070514, прим. 65). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Растворитель удаляли ротационным испарением и остаток снова растворяли в этилацетате. Раствор последовательно промывали 1н. HCl, водой, насыщенным раствором бикарбоната натрия и соевым раствором, сушили над сульфатом натрия и концентрировали под вакуумом. Продукт очищали колоночной флэш-хроматографией на силикагеле, элюировали градиентом 0-100% этилацетата в гексанах с получением диастереомера 1 (элюировался первым) (3,5 г, 36%) и диастереомера 2 (элюировался вторым) (2,5 г, 25%). ЖХМС (M+H)⁺: 572,2.

Этап 2. 3-Пирролидин-3-ил-3-[4-(7-{2-(триметилсилил)этокси}метил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил.

Бензил 3-{2-циано-1-[4-(7-{2-(триметилсилил)этокси}метил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил}этил}пирролидин-1-карбоксилат (3,5 г, 6,1 ммоль) (диастереомер 1 из примера 1, этап 1) растворяли в 100 мл метанола и добавляли каталитическое количество 10% Pd-C. Смесь встряхивали в атмосфере водорода при 1,0 МПа (50 фунтов на кв. дюйм) в течение 24 ч. Затем смесь фильтровали и растворитель удаляли под вакуумом. Продукт использовали без дополнительной очистки. ЖХМС (M+H)⁺: 438,2.

Этап 3. 3-[1-(6-Хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7-{2-(триметилсилил)этокси}метил)-1Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил.

Смесь 3-пирролидин-3-ил-3-[4-(7-{2-(триметилсилил)этокси}метил)-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрила (150 мг, 0,27 ммоль) и 2,6-дихлорпиридина (48,7 мг, 0,329 ммоль) в NMP (1,6 мл) и N,N-диизопропилэтиламина (96 мкл, 0,55 ммоль) нагревали до 135°C в течение 20 мин в микроволновой печи. Очистка колоночной флэш-хроматографией на силикагеле с элюированием градиентом из 0-80% этилацетата в гексанах позволила получить заявленный продукт (28 мг, 18%). ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 8,85 (с, 1H), 8,36 (с, 1H), 8,36 (с, 1H), 7,41 (д, 1H), 7,37 (дд, 1H), 6,79 (д, 1H), 6,57 (д, 1H), 6,22 (д, 1H), 5,68 (с, 2H), 4,45 (дт, 1H), 3,91 (дд, 1H), 3,57-3,46 (м, 3H), 3,39-3,29 (м, 2H), 3,24 (дд, 1H), 3,13-3,01 (м, 1H), 3,01 (дд, 1H), 1,98-1,88 (м, 1H), 1,82-1,69 (м, 1H), 0,95-0,88 (м, 2H), -0,06 (с, 9H); ЖХМС (M+H)⁺: 549,1.

Этот рацемический продукт разделяли на его энантиомеры при помощи хиральной ВЭЖХ (Chiral Technologies Chiralcel OJ-H, 5мк, 30×50 мм, 45% EtOH/гексаны, 20 мл/мин) с получением энантиомера 1 (элюировался первым, время удержания 40,7 мин) и энантиомера 2 (элюировался вторым, время удержания 51,6 мин), защитные группы с которых удалялись отдельно на этапах 4a/4b.

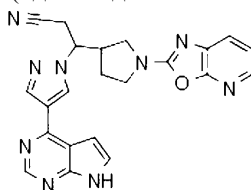
Этап 4a. 3-[1-(6-Хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил (энантиомер 1).

3-[1-(6-Хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил (энантиомер 1 с этапа 3) перемешивали в растворе, содержащем 1:1 TFA/DCM (2 мл) в течение 2 ч, а затем концентрировали. Остаток растворяли в 1 мл MeOH и добавляли 0,2 мл EDA. Очистка посредством препаративной ВЭЖХ/МС (колонок C18 с элюированием градиентом ACN/H₂O, содержащим 0,15% NH₄OH) позволила получить продукт. ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 9,44 (уш. с, 1Н), 8,84 (с, 1Н), 8,37 (с, 2Н), 7,39 (дд, 1Н), 7,38 (дд, 1Н), 6,79 (дд, 1Н), 6,58 (д, 1Н), 6,22 (д, 1Н), 4,46 (дт, 1Н), 3,92 (дд, 1Н), 3,55-3,48 (м, 1Н), 3,39-3,31 (м, 2Н), 3,25 (дд, 1Н), 3,13-3,02 (м, 1Н), 3,02 (дд, 1Н), 2,00-1,88 (м, 1Н), 1,84-1,71 (м, 1Н); ЖХМС (М+Н)⁺: 419,1.

Этап 4b. 3-[1-(6-Хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(1Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил (энантиомер 2).

Проводили так же, как на этапе 4а, с использованием энантиомера 2 из этапа 3: ¹Н ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 9,59 (уш. с, 1Н), 8,84 (с, 1Н), 8,37 (с, 2Н), 7,40 (дд, 1Н), 7,38 (дд, 1Н), 6,79 (дд, 1Н), 6,58 (д, 1Н), 6,22 (д, 1Н), 4,46 (дт, 1Н), 3,92 (дд, 1Н), 3,55-3,48 (м, 1Н), 3,39-3,31 (м, 2Н), 3,25 (дд, 1Н), 3,14-3,02 (м, 1Н), 3,02 (дд, 1Н), 1,99-1,90 (м, 1Н), 1,83-1,72 (м, 1Н); ЖХМС (М+Н)⁺: 419,1.

Пример 2. 3-(1-[1,3]Оксазоло[5,4-b]пиридин-2-илпирролидин-3-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил (один выделенный энантиомер)



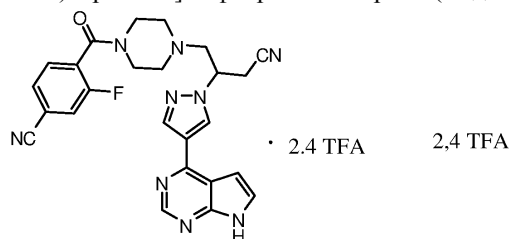
Этап 1. 3-(1-[1,3]Оксазоло[5,4-b]пиридин-2-илпирролидин-3-ил)-3-[4-(1-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил.

Оксазоло[5,4-b]пиридин-2(1Н)-тион (1,17 г, 7,68 ммоль, получен так, как в примере 33 в публикации US 2010/0298334, этап 4) и 3-пирролидин-3-ил-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил (2,80 г, 6,40 ммоль из примера 15, этап 3) в 1,4-диоксане (30 мл) нагревали до 70°C в течение 2 ч. Растворитель удаляли под вакуумом. Неочищенный продукт разводили в этаноле (40 мл) и обрабатывали нитратом серебра (3 г, 15 ммоль) и водным раствором гидроксида аммония (6 мл) порциями в течение 20 ч. В реакционную смесь добавляли воду, 1н. NaOH и солевой раствор. Нерастворимый материал удаляли фильтрацией. Слои фильтрата разделяли. Водную часть экстрагировали тремя порциями этилацетата. Экстракты сушили над сульфатом натрия, декантировали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали колоночной флэш-хроматографией на силикагеле с элюированием 10% MeOH/DCM, получая продукт в виде пены грязно-белого цвета (2,84 г, 80%). ¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 8,83 (с, 1Н), 8,37 (с, 1Н), 8,36 (с, 1Н), 7,92 (дд, 1Н), 7,57 (дд, 1Н), 7,40 (д, 1Н), 7,13 (дд, 1Н), 6,78 (д, 1Н), 5,67 (с, 2Н), 4,52 (дт, 1Н), 4,05 (дд, 1Н), 3,82 (ддд, 1Н), 3,67-3,44 (м, 4Н), 3,25 (дд, 1Н), 3,24-3,09 (м, 1Н), 2,98 (дд, 1Н), 2,06-1,74 (м, 2Н), 0,97-0,88 (м, 2Н), -0,06 (с, 9Н); ЖХМС (М+Н)⁺: 556,1.

Этап 2. 3-(1-[1,3]Оксазоло[5,4-b]пиридин-2-илпирролидин-3-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил.

3-(1-[1,3]Оксазоло[5,4-b]пиридин-2-илпирролидин-3-ил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил (5,35 г, 9,63 ммоль, получен по способу из этапа 1) перемешивали в смеси 2:1 DCM и TFA (60 мл) в течение 6 ч. Растворители удаляли ротационным испарением. Неочищенный остаток растворяли в метаноле (50 мл), содержащем EDA (5,15 мл, 77,0 ммоль) и перемешивали в течение ночи. После удаления растворителя продукт очищали колоночной флэш-хроматографией на силикагеле и элюировали градиентом из 0-15% MeOH/DCM (3,59 г, 88%). ¹Н ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 8,72 (с, 1Н), 8,40 (с, 1Н), 8,34 (с, 1Н), 7,89 (дд, 1Н), 7,54 (дд, 1Н), 7,36 (д, 1Н), 7,12 (дд, 1Н), 6,75 (д, 1Н), 4,56 (дт, 1Н), 4,01 (дд, 1Н), 3,80 (ддд, 1Н), 3,60 (ддд, 1Н), 3,48 (дд, 1Н), 3,26 (дд, 1Н), 3,21-3,06 (м, 1Н), 3,02 (дд, 1Н), 2,03-1,76 (м, 2Н); ЖХМС (М+Н)⁺: 426,1.

Пример 3. Трифторацетатная соль 4-[(4-{3-циано-2-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрила (выделен один энантиомер)



Этап 1. (R)- и (S)-трет-бутил 4-{3-циано-2-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропил}пиперазин-1-карбоксилат.

1,8-Диазабиспиро[5.4.0]ундец-7-ен (5,5 мл, 0,037 моль) добавляли к раствору (Е)- и (Z)-трет-бутил 4-(3-цианоаллил)пиперазин-1-карбоксилата (11,1 г, 0,0441 моль, получен так, как в примере 1 в публикации US 2011/0059951, этапы 1-2) и 4-(1Н-пирроло-4-ил)-7-[[2-(триметилсилил)этокси]метил]-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидина (11,6 г, 0,0368 моль, получен так, как описано в WO 2007/070514, пример 65) в ацетонитриле (70 мл). Смесь перемешивали при 50°C в течение 15 ч. Растворители удаляли под вакуумом. Остаток растворяли в этилацетате, промывали водой (3 раза), солевым раствором (однократно), сушили над сульфатом натрия и концентрировали. Флэш-хроматография на колонке с последующей препаративной ВЭЖХ/МС (с элюированием градиентом MeCN/H₂O, содержащим 0,15% NH₄OH) позволила получить продукт в виде белой пены (8,20 г, 39%). Для разделения рацемической смеси на отдельные энантиомеры использовали хиральную ВЭЖХ (Phenomenex Lux-Cellulose-2, 21,2×250 м, 5 мкм, элюирование 30% EtOH/70% гексаны при 20 мл/мин). Пик 1 (элюировался первым): 4,0 г и пик 2 (элюировался вторым): 4,0 г. ¹H ЯМР пик 1 (400 МГц, CDCl₃): δ 8,84 (с, 1H), 8,33 (с, 1H), 8,31 (с, 1H), 7,40 (д, 1H), 6,79 (д, 1H), 5,68 (с, 2H), 4,70-4,62 (м, 1H), 3,58-3,51 (м, 2H), 3,44-3,35 (уш. м, 4H), 3,16 (дд, 1H), 3,10 (дд, 1H), 2,99 (дд, 1H), 2,89 (дд, 1H), 2,50-2,40 (уш. м, 4H), 1,44 (с, 9H), 0,95-0,89 (м, 2H), -0,06 (с, 9H); ЖХМС (М+Н)⁺: 567,3. ¹H ЯМР пик 2 (400 МГц, CDCl₃): δ 8,84 (с, 1H), 8,32 (с, 1H), 8,31 (с, 1H), 7,40 (д, 1H), 6,79 (д, 1H), 5,68 (с, 2H), 4,70-4,62 (м, 1H), 3,58-3,51 (м, 2H), 3,45-3,34 (уш. м, 4H), 3,16 (дд, 1H), 3,10 (дд, 1H), 2,99 (дд, 1H), 2,90 (дд, 1H), 2,50-2,40 (уш. м, 4H), 1,44 (с, 9H), 0,95-0,89 (м, 2H), -0,06 (с, 9H); ЖХМС (М+Н)⁺: 567,3.

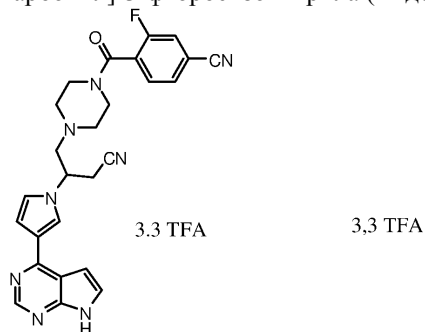
Этап 2. Хлористоводородная соль 4-пиперазин-1-ил-3-[4-(7-[[2-(триметилсилил)этокси]метил]-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]бутаннитрила.

трет-Бутил 4-{3-циано-2-[4-(7-[[2-(триметилсилил)этокси]метил]-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]пропил}пиперазин-1-карбоксилат (4,0 г, 7,0 ммоль; пик 2 из этапа 1) растворяли в 1,4-диоксане (40 мл) и добавляли 4,0М HCl в диоксане (25 мл, 100 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 80 мин. Растворитель удаляли под вакуумом с получением продукта в виде хлористоводородной соли. ЖХМС (М+Н)⁺: 467,3.

Этап 3. Трифторацетатная соль 4-[(4-{3-циано-2-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрила.

Смесь 4-циано-2-фторбензойной кислоты (138 мг, 0,836 ммоль, Alfa Aesar), гексафторфосфата N,N,N',N'-тетраметил-О-(7-азабензотриазол-1-ил)уруния (254 мг, 0,669 ммоль) и триэтиламина (0,466 мл, 3,34 ммоль) в THF (10,0 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Добавляли гидрохлорид 4-пиперазин-1-ил-3-[4-(7-[[2-(триметилсилил)этокси]метил]-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]бутаннитрила (0,33 г, 0,56 ммоль; из этапа 2). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение одного часа. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом и водой. Слои разделяли и органический слой последовательно промывали водой, 0,1н. NaOH и солевым раствором, сушили над сульфатом натрия и концентрировали. Остаток растворяли в смеси 2:1 DCM:TFA, перемешивали в течение 3 ч, концентрировали, а затем растворяли в смеси 8 мл метанола, к которому добавляли 0,8 мл этилендиамина. После перемешивания в течение одного часа продукт очищали посредством ВЭЖХ-МС, элюировали градиентом MeCN и H₂O, содержащим 0,2% TFA. Элюент замораживали и лиофилизировали с получением белого порошка (200 мг, 47%). ¹H ЯМР (400 МГц, d₆-DMSO): δ 12,64 (уш. с, 1H), 8,97 (с, 1H), 8,83 (с, 1H), 8,51 (с, 1H), 7,99 (дд, 1H), 7,82-7,76 (м, 2H), 7,61 (т, 1H), 7,15-7,11 (м, 1H), 5,13 (уш. м, 1H), 3,82-2,37 (уш., 12H); ¹⁹F ЯМР (400 МГц, d₆-DMSO): δ -74,97 (с, 7,2 F), -114,49 (уш. с, 1F); ЖХМС (М+Н)⁺: 484,2.

Пример 4. Трифторацетатная соль 4-[(4-{3-циано-2-[3-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрила (выделен один энантиомер)



Этап 1. трет-Бутил 4-{3-циано-2-[3-(1-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]пропил}пиперазин-1-карбоксилат.

К смеси (Е)- и (Z)-трет-бутил 4-(3-цианоаллил)пиперазин-1-карбоксилата (4,0 г, 0,016 моль; получен так, как описано в примере 1 в публикации US 2011/0059951, этапы 1-2) и 4-(1Н-пирроло-3-ил)-7-[[2-(триметилсилил)этокси]метил]-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидина (4,2 г, 0,013 моль, получен так, как описано в публикации WO 2009/114512, пример 82) в N,N-диметилформамиде (25 мл) добавляли карбонат ка-

лия (5,540 г, 0,0401 моль). Смесь перемешивали при 60°C в течение 17 ч. Добавляли дополнительное количество (Е)- и (Z)-трет-бутил 4-(3-цианоаллил)пиперазин-1-карбоксилата (4,0 г, 0,016 моль) и реакционную смесь перемешивали при 60°C в течение 24 ч. Добавляли дополнительную порцию (Е)- и (Z)-трет-бутил 4-(3-цианоаллил)пиперазин-1-карбоксилата (4,0 г, 0,016 моль). После 3 ночей нагревания большая часть исходного материала по данным определения с помощью жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ЖХМС) преобразовалась в требуемый продукт. Затем смесь фильтровали, разводили EtOAc, промывали водой (3 раза), солевым раствором (однократно), сушили над сульфатом натрия, декантировали и концентрировали. Очистка посредством препаративной ВЭЖХ/МС (с элюированием градиентом MeCN/H₂O, содержащим 0,15% NH₄OH) позволила получить продукт в виде коричневой пены (4,20 г, 55%). ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 8,81 (с, 1H), 7,66 (т, 1H), 7,34 (д, 1H), 6,97 (дд, 1H), 6,89 (т, 1H), 6,84 (д, 1H), 5,66 (с, 2H), 4,47-4,36 (м, 1H), 3,57-3,50 (м, 2H), 3,45-3,37 (м, 4H), 3,06 (дд, 1H), 3,00-2,90 (м, 2H), 2,83 (дд, 1H), 2,57-2,35 (м, 4H), 1,45 (с, 9H), 0,96-0,86 (м, 2H), -0,06 (с, 9H); ЖХМС (M+H)⁺: 566,3.

Для разделения рацемата на отдельные энантиомеры использовали хиральную ВЭЖХ (Chiral Technologies ChiralPAK IA 20×250 мм, 5 мкм, подвижная фаза 30% EtOH/70% гексаны, скорость потока 12 мл/мин). Пик 1 (энантиомер, который элюировался первым): 1,8 г; пик 2 (энантиомер, который элюировался вторым): 1,9 г.

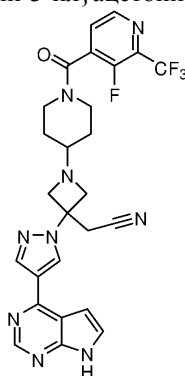
Этап 2. Хлористоводородная соль 4-пиперазин-1-ил-3-[3-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,4-д]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]бутаннитрила.

К раствору трет-бутил 4-{3-циано-2-[3-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-д]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]пропил}пиперазин-1-карбоксилата (1,9 г, 0,0034 моль; пик 2 из этапа 1) в 1,4-диоксане (20 мл) добавляли 4,0М HCl в п-диоксане (12 мл, 48 ммоль). Смесь перемешивали в течение 80 минут при комнатной температуре. Растворитель удаляли под вакуумом, получая продукт в виде светло-желтого твердого вещества (1,90 г, 100%). ЖХМС (M+H)⁺: 466,3.

Этап 3. Трифторацетатная соль 4-[(4-{3-циано-2-[3-(7Н-пирроло[2,3-д]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрила.

Смесь 4-циано-2-фторбензойной кислоты (44 мг, 0,26 ммоль, Alfa Aesar), гексафторфосфата N,N,N',N'-тетраметил-О-(7-азабензотриазол-1-ил)уриония (93 мг, 0,24 ммоль) и триэтиламина (171 мкл, 1,22 ммоль) в THF (2,4 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 15 мин. Добавляли хлористоводородную соль 4-пиперазин-1-ил-3-[3-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-д]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]бутаннитрила (110 мг, 0,20 ммоль; из этапа 2). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч. Добавляли этилацетат и воду. Слои разделяли и органический слой последовательно промывали водой, 1н. NaOH и солевым раствором, сушили над сульфатом натрия и концентрировали. Остаток сначала растворяли в смеси 1:1 DCM:TFA в течение 1 ч, концентрировали, затем перемешивали в метаноле (2 мл), содержащем этилендиамин (0,2 мл), в течение одного часа. Очистка посредством препаративной ВЭЖХ-МС (с элюированием градиентом MeCN/H₂O, содержащим 0,1% TFA) позволила получить продукт в виде соли 3,3×TFA (84 мг, 48%). ¹H ЯМР (300 МГц, d₆-DMSO): δ 13,22 (уш. с, 1H), 8,90 (с, 1H), 8,38 (с, 1H), 8,00 (дд, 1H), 7,97-7,93 (м, 1H), 7,80 (дд, 1H), 7,61 (т, 1H), 7,35 (с, 2H), 7,18-7,13 (м, 1H), 5,00-4,80 (м, 1H), 3,75-3,49 (уш. м, 2H), 3,35-2,33 (м, 10H); ¹⁹F ЯМР (300 МГц, d₆-DMSO): δ -74,82 (с, 10F), -114,53 (с, 1F); ЖХМС (M+H)⁺: 483,2.

Пример 5. {1-{1-[3-Фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-д]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил



Этап А: трет-бутил 3-оксоазетидин-1-карбоксилат.

К смеси трет-бутил 3-гидроксиазетидин-1-карбоксилата (10,0 г, 57,7 ммоль), диметилсульфоксида (24,0 мл, 338 ммоль), триэтиламина (40 мл, 300 ммоль) и метиленхлорида (2,0 мл) добавляли комплекс триоксид серы - пиридин (40 г, 200 ммоль) порциями при 0°C. Смесь перемешивали в течение 3 ч, гасили солевым раствором и экстрагировали метиленхлоридом. Объединенные экстракты сушили над безводным Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали на силикагелевой колонке (0-6% этилацетат (EtOAc) в гексанах) с получением трет-бутил 3-оксоазетидин-1-карбоксилата (5,1 г, выход 52%).

Этап В: трет-бутил 3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилат В высушенную в печи четырехгорлую круглодонную колбу объемом 1 л, оснащенную мешалкой, перегородками, входным патрубком для азота, капельной воронкой на 250 мл и термопарой вносили гидрид натрия (5,6 г, 0,14 моль) и тетрагидрофуран (THF) (140 мл) в азотной атмосфере. Смесь охлаждали до 3°C, а затем вносили диэтилцианометилфосфонат (22,4 мл, 0,138 моль) по каплям через шприц в течение более 20 мин. Раствор превращался в светло-желтую суспензию. Затем реакционную смесь перемешивали в течение 75 мин при нагревании до 18,2°C. Раствор трет-бутил 3-оксоазетидин-1-карбоксилата (20 г, 0,1 моль) в тетрагидрофуране (280 мл) готовили в высушенной в печи круглодонной колбе, вносили в капельную воронку через канюлю, а затем добавляли в реакционную смесь по каплям в течение 25 мин. Реакционный раствор приобретал красный цвет. Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение ночи. Реакцию проверяли через 24 ч методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) (70% гексан/EtOAc) и сочли завершенной. Реакционную смесь разбавляли 200 мл 20% солевого раствора и 250 мл EtOAc. Раствор разделяли и водную фазу экстрагировали 250 мл EtOAc. Объединенную органическую фазу сушили над $MgSO_4$ и фильтровали, выпаривали при пониженном давлении и очищали флэш-хроматографией (0-20% EtOAc/гексаны, флэш-колонка на 150 г) с получением требуемого продукта, трет-бутил 3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилата (15 г, выход 66,1%).

Этап С: 4-хлор-1-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин.

К суспензии гидрида натрия (36,141 г, 903,62 ммоль) в N,N-диметилацетамиде (118 мл) при -5°C (ледяная/солевая баня) медленно добавляли темный раствор 4-хлорпирроло[2,3-d]пиримидина (119,37 г, 777,30 ммоль) в N,N-диметилацетамиде (237 мл). Колбу и капельную воронку промывали N,N-диметилацетамидом (30 мл). Сразу же образовалось большое количество газа. Смесь приобрела слегка мутный оранжевый цвет. Смесь перемешивали при 0°C в течение 60 мин с получением светло-коричневой мутной смеси. К смеси медленно добавляли [2-(триметилсилил)этокси]метилхлорид (152,40 г, 914,11 ммоль) и реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Реакцию гасили медленным добавлением 12 мл H_2O . Добавляли дополнительное количество (120 мл) воды с последующим добавлением метил-трет-бутилового простого эфира (MTBE) (120 мл). Смесь перемешивали в течение 10 мин. Затем органический слой отделяли. Водный слой экстрагировали другой порцией MTBE (120 мл). Органические экстракты объединяли, промывали солевым раствором (120 мл×2) и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта 4-хлор-7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидина в виде темного масла.

Выход: 85,07 г (97%); ЖХ-МС: 284,1 (M+H)⁺. Продукт использовали в следующей реакции без очистки.

Этап D: 4-(1Н-пиразол-4-ил)-7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин.

В круглодонную колбу объемом 1000 мл помещали 4-хлор-7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин (10,00 г, 35,23 ммоль), 1-бутанол (25,0 мл), 1-(1-этоксиэтил)-4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1Н-пиразол (15,66 г, 52,85 ммоль), воду (25,0 мл) и карбонат калия (12,17 г, 88,08 ммоль). Раствор дегазировали 4 раза, каждый раз заполняя азотом. К раствору добавляли тетраakis(трифенилфосфин)палладий (0) (4,071 г, 3,523 ммоль). Раствор дегазировали 4 раза, каждый раз заполняя азотом. Смесь перемешивали в течение ночи при 100°C. После охлаждения до комнатной температуры смесь фильтровали через слой целита и целит промывали этилацетатом (42 мл). Фильтрат объединяли и отделяли органический слой. Водный слой экстрагировали этилацетатом. Органические экстракты объединяли и концентрировали под вакуумом при температуре бани 30-70°C с получением конечного соединения 4-(1Н-пиразол-4-ил)-7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидина. Выход: 78%. ЖХ-МС: 316,2 (M+H)⁺.

Этап E: трет-бутил 3-(цианометил)-3-[4-{1-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилат.

В круглодонную колбу объемом 2 л, оснащенную верхней мешалкой, перегородками и входным патрубком для азота, добавляли трет-бутил 3-(цианометил)азетидин-1-карбоксилат (9,17 г, 0,0472 моль), 4-(1Н-пиразол-4-ил)-7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин (14,9 г, 0,0472 моль) и ацетонитрил (300 мл). Полученный раствор был неоднородным. К раствору добавляли 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ен (8,48 мл, 0,0567 моль) порциями через шприц в течение более 3 мин при комнатной температуре. Раствор медленно становился однородным и приобретал желтый цвет. Реакционную смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 3 ч. Реакцию завершали с помощью ВЭЖХ и ЖХ/МС и концентрировали ротационным испарением для удаления ацетонитрила (~150 мл). Затем к смеси добавляли EtOAc (100 мл) и после этого 100 мл 20% солевого раствора. Две фазы разделяли. Водную фазу экстрагировали 150 мл EtOAc. Объединенные органические фазы сушили над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали с получением оранжевого масла. Очистка методом флэш-хроматографии (150 г диоксида кремния, 60% EtOAc/гексаны с нагрузкой CH_2Cl_2) позволила получить заявленное соединение, трет-бутил 3-(цианометил)-3-[4-(7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилат, в виде желтого масла (21,1 г, выход 88%). ЖХ-МС: [M+H]⁺ = 510,3.

Этап F: дигидрохлорид {3-[4-(7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-

4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила.

К раствору трет-бутил 3-(цианометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-карбоксилата (2 г, 3,9 ммоль) в 10 мл THF добавляли 10 мл 4н. HCl в диоксане. Раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 1 ч и концентрировали под вакуумом с получением 1,9 г (99%) заявленного соединения в виде твердого вещества белого цвета, которое использовали в следующей реакции без очистки. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 410,3$.

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

В раствор дигидрохлорида {3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (2,6 г, 6,3 ммоль), трет-бутил 4-оксо-1-пиперидинкарбоксилата (1,3 г, 6,3 ммоль) в THF (30 мл) добавляли N,N-диизопропилэтиламин (4,4 мл, 25 ммоль) и триацетоксидборгидрид натрия (2,2 г, 10 ммоль). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. После добавления 20 мл солевого раствора раствор экстрагировали EtOAc. Экстракт сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали. Остаток очищали на объединенной флэш-колонке с элюированием 30-80% EtOAc в гексанах с получением требуемого продукта, трет-бутил 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}пиперидин-1-карбоксилата. Выход: 3,2 г (86%); ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 593,3$.

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

К раствору трет-бутил 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}пиперидин-1-карбоксилата (3,2 г, 5,4 ммоль) в 10 мл THF добавляли 10 мл 4н. HCl в диоксане. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Удаление растворителей при пониженном давлении позволило получить 3,25 г (100%) тригидрохлорида {1-пиперидин-4-ил-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила в виде порошкообразного твердого вещества белого цвета, которое использовали непосредственно в следующей реакции. ЖХ-МС: $[M+H]^+ = 493,3$. 1H ЯМР (400 МГц, DMSO- d_6): δ 9,42 (с, 1H), 9,21 (с, 1H), 8,89 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 7,97 (с, 1H), 7,39 (д, 1H), 5,68 (с, 2H), 4,96 (д, 2H), 4,56 (м, 2H), 4,02-3,63 (м, 2H), 3,55 (с, 2H), 3,53 (т, 2H), 3,49-3,31 (3, 3H), 2,81 (м, 2H), 2,12 (д, 2H), 1,79 (м, 2H), 0,83 (т, 2H), -0,10 (с, 9H).

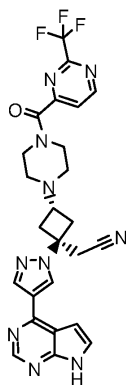
Этап I: {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-1Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил.

Смесь тригидрохлорида {1-пиперидин-4-ил-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (1,22 г, 2,03 ммоль), 3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиновой кислоты (460 мг, 2,2 ммоль), гексафторфосфата бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)фосфония (1,07 г, 2,42 ммоль) и триэтиламина (2,0 мл, 14 ммоль) в диметилформамиде (DMF) (20,0 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. ЖХ-МС показала завершение реакции. В реакционную смесь добавляли EtOAc (60 мл) и насыщенный водный раствор $NaHCO_3$ (60 мл). После перемешивания при комнатной температуре в течение 10 мин органическую фазу разделяли, а водный слой трижды экстрагировали EtOAc. Объединенную органическую фазу промывали соевым раствором, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали при пониженном давлении. Очистка методом флэш-хроматографии позволила получить требуемый продукт, {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил. ЖХ-МС: 684,3 (M+H) $^+$.

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

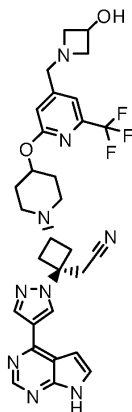
В раствор {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (56 мг, 0,1 ммоль) в метиленхлориде (1,5 мл) добавляли трифторуксусную кислоту (1,5 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. После удаления растворителей в вакууме остаток растворяли в растворе метанола, содержащего 20% этилендиамина. После перемешивания при комнатной температуре в течение 1 ч раствор очищали с помощью ВЭЖХ (способ В) с получением заявленного соединения. ЖХ-МС: 554,3 (M+H) $^+$; 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$): 9,71 (с, 1H), 8,82 (с, 1H), 8,55 (д, J = 4,6 Гц, 1H), 8,39 (с, 1H), 8,30 (с, 1H), 7,52 (т, J = 4,6 Гц, 1H), 7,39 (дд, J₁ = 3,4 Гц, J₂ = 1,5 Гц, 1H), 6,77 (дд, J₁ = 3,6 Гц, J₂ = 0,7 Гц, 1H), 4,18 (м, 1H), 3,75 (м, 2H), 3,63 (дд, J₁ = 7,8 Гц, J₂ = 3,7 Гц, 2H), 3,45 (м, 2H), 3,38 (с, 2H), 3,11 (м, 1H), 2,57 (м, 1H), 1,72 (м, 1H), 1,60 (м, 1H), 1,48 (м, 1H), 1,40 (м, 1H).

Пример 6. 4-{3-(Цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-[4-фтор-2-(трифторметил)фенил]пиперидин-1-карбоксамид



Смесь 2-(трифторметил)пиримидин-4-карбоновой кислоты (0,225 г, 1,17 ммоль, полученной гидролизом сложного метилового эфира, приобретенного в компании Apollo, как описано в публикации WO 2006/067445), гексафторфосфата N,N,N',N'-тетраметил-O-(7-азабензотриазол-1-ил)урония (0,29 г, 0,76 ммоль, Aldrich) и триэтиламина (0,26 мл, 1,9 ммоль) в тетрагидрофуране (6 мл) предварительно перемешивали в течение 15 мин, а затем добавляли {транс-3-пиперазин-1-ил-1-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-д]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил (0,188 г, 0,380 ммоль, получен так, как описано в примере 1b в публикации US 2012/0149681, этап 1) в тетрагидрофуране (10 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение ночи. THF удаляли под вакуумом. Остаток разделяли между насыщенным раствором бикарбоната натрия и этилацетатом. Водную часть экстрагировали всего три раза. Объединенные органические экстракты сушили над сульфатом натрия, декантировали и концентрировали. Для очистки промежуточного соединения с защитными SEM-группами использовали флэш-хроматографию с элюированием градиентом из 0-10% MeOH в DCM. Для удаления защитных групп сначала перемешивали смесь с трифторуксусной кислотой (10 мл) в метиленхлориде (10 мл) в течение 2 ч, затем выпаривали растворитель под вакуумом, после чего перемешивали с метанолом (6 мл, 200 ммоль), содержащим этилендиамин (0,5 мл, 7 ммоль), в течение ночи. Реакционную смесь разделяли между водой и этилацетатом и водную часть дважды дополнительно экстрагировали этилацетатом. Объединенные экстракты сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Для очистки продукта использовали флэш-хроматографию с элюированием градиентом из 0-10% MeOH в DCM. Продукт повторно очищали препаративной ВЭЖХ-МС (C18, элюирование градиентом H₂O/MeCN, содержащим 0,1% TFA). Ацетонитрил удаляли из элюента, содержащего требуемую массу, посредством ротационного испарения, после чего оставшийся водный раствор нейтрализовали путем добавления бикарбоната натрия и несколько раз экстрагировали этилацетатом. Объединенные органические экстракты сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. Продукт повторно очищали препаративной ВЭЖХ-МС (C18, элюирование градиентом H₂O/MeCN, содержащим 0,15% NH₄OH). Элюент, содержащий требуемую массу, замораживали и лиофилизировали с получением продукта в виде свободного основания (99 мг, 48%). ¹H ЯМР (300 МГц, CD₃OD): δ 9,13 (д, 1H), 8,71 (с, 1H), 8,66 (с, 1H), 8,39 (с, 1H), 7,88 (д, 1H), 7,50 (д, 1H), 6,98 (д, 1H), 3,89-3,81 (м, 2H), 3,59-3,52 (м, 2H), 3,34 (с, 2H), 3,13-3,03 (м, 2H), 2,97 (тт, 1H), 2,59-2,42 (м, 6H); ¹⁹F ЯМР (282 МГц, CD₃OD): δ -72,43 (с, 3F); ЖХМС (M+H)⁺: 537,0.

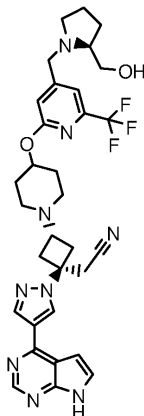
Пример 9. {Транс-3-(4-{[4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-д]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил



Следовали процедуре из примера 153 в публикации US 2012/0149681, используя N,N-диизопропилэтиламин (64 мкл, 0,37 ммоль) и гидрохлорид азетидин-3-ола (30 мг, 0,3 ммоль, Oakwood) на этапе вытеснения. После перемешивания в течение ночи при комнатной температуре добавляли метанол (0,20 мл) с получением однородного раствора, который перемешивали в течение дополнительных 2,5

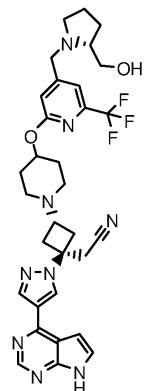
ч при комнатной температуре и обрабатывали в соответствии с условиями удаления защитных групп и очистки, приведенными в примере 153 в публикации US 2012/0149681, с получением продукта в виде свободного основания (9,7 мг, 44%). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,12 (уш. с, 1H), 8,81 (с, 1H), 8,67 (с, 1H), 8,40 (с, 1H), 7,59 (д, $J = 3,6$ Гц, 1H), 7,29 (с, 1H), 7,06 (д, $J = 3,6$ Гц, 1H), 6,93 (с, 1H), 5,34 (д, $J = 6,4$ Гц, 1H), 5,05-4,77 (м, 1H), 4,19 (г, $J = 6,1$ Гц, 1H), 3,60 (с, 2H), 3,50 (тд, $J = 6,1, 2,0$ Гц, 2H), 3,40 (с, 2H), 3,06-2,92 (м, 2H), 2,86-2,71 (м, 3H), 2,68-2,53 (м, 2H), 2,38-2,22 (м, 2H), 2,22-2,07 (уш. м, 2H), 2,05-1,95 (уш. м, 2H), 1,75-1,48 (м, 2H); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO) δ -67,36 (с); ЖХМС (M+H) $^+$: 608,2.

Пример 10. {Транс-3-(4-{[4-{[(2S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил



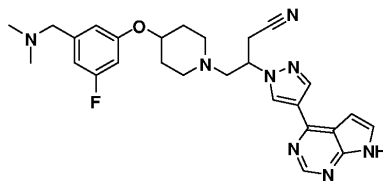
Использовали способ из примера 158 в публикации US 2012/0149681, за исключением того, что вытеснение мезилата амином проводили с использованием (2S)-пирролидин-2-илметанола (20 мкл, 0,2 ммоль, Aldrich) при комнатной температуре в течение ночи (8,3 мг, 59%). ^1H ЯМР (500 МГц, DMSO) δ 12,09 (уш. с, 1H), 8,81 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,41 (с, 1H), 7,59 (д, $J = 3,5$ Гц, 1H), 7,39 (с, 1H), 7,06 (д, $J = 3,6$ Гц, 1H), 7,03 (с, 1H), 5,00 (тт, $J = 8,4, 3,9$ Гц, 1H), 4,48 (с, 1H), 4,12 (д, $J = 14,8$ Гц, 1H), 3,45 (д, $J = 15,0$ Гц, 1H), 3,41 (с, 2H), 3,42-3,25 (м, 2H), 3,06-2,97 (м, 2H), 2,87-2,77 (м, 2H), 2,69-2,62 (м, 2H), 2,59 (дддд, $J = 5,8, 5,8, 5,8, 8,1$ Гц, 1H), 2,41-2,31 (м, 2H), 2,22-2,09 (м, 3H), 2,08-1,95 (м, 2H), 1,83 (дддд, $J = 8,1, 8,1, 8,3, 12,2$ Гц, 1H), 1,75-1,46 (м, 5H); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO) δ -67,24 (с); ЖХМС (M+H) $^+$: 636,3.

Пример 11. {Транс-3-(4-{[4-{[(2R)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил



Использовали способ из примера 158 в публикации US 2012/0149681, за исключением того, что вытеснение мезилата амином проводили с использованием (2R)-пирролидин-2-илметанола (20 мкл, 0,2 ммоль, Aldrich) при комнатной температуре в течение ночи (8,3 мг, 59%). ^1H ЯМР (400 МГц, DMSO) δ 12,14 (уш. с, 1H), 8,83 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,42 (с, 1H), 7,60 (д, $J = 3,6$ Гц, 1H), 7,39 (с, 1H), 7,08 (д, $J = 3,6$ Гц, 1H), 7,03 (с, 1H), 5,04-4,94 (м, 1H), 4,52 (т, $J = 5,4$ Гц, 1H), 4,12 (д, $J = 14,9$ Гц, 1H), 3,52-3,22 (м, 5H), 3,09-2,92 (м, 2H), 2,86-2,73 (м, 2H), 2,70-2,53 (м, 3H), 2,42-2,27 (м, 2H), 2,22-2,09 (м, 3H), 2,06-1,87 (м, 2H), 1,82 (дддд, $J = 8,0, 8,0, 8,4, 11,9$ Гц, 1H), 1,77-1,37 (м, 5H); ^{19}F ЯМР (376 МГц, DMSO) δ -67,24 (с); ЖХМС (M+H) $^+$: 636,3.

Пример 12. 4-(4-{3-[(Диметиламино)метил]-5-фторфенокси}пиперидин-1-ил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]бутаннитрил (хиральное соединение)



Этап 1. 3-Фтор-5-гидроксibenзальдегид.

К суспензии 3-фтор-5-гидроксibenзонитрила (1,00 г, 7,29 ммоль) в толуоле (60,0 мл) при -78°C добавляли 1,0М гидрида диизобутилалюминия в толуоле (18,2 мл, 18,2 ммоль). Полученную смесь перемешивали при -78°C в течение 1 ч и оставляли нагреваться до комнатной температуры в течение ночи. Добавляли смесь 1:1 метанола и воды (10 мл) и перемешивали в течение 35 мин. Осадок фильтровали и промывали этилацетатом. Фильтраты промывали водой, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали на силикагелевой колонке (элюирование 10-50% этилацетат/гексаны) с получением требуемого продукта (0,77 г, 75%). ^1H ЯМР (DMSO-d_6) δ 10,49 (с, 1H), 9,88 (с, 1H), 7,10 (м, 2H), 6,87 (д, 1H).

Этап 2. 3-[(Диметиламино)метил]-5-фторфенол.

К смеси диметиламингидрохлорида (160 мг, 1,96 ммоль) и 3-фтор-5-гидроксibenзальдегида (250,0 мг, 1,784 ммоль) в метиленхлориде (9,0 мл) добавляли триэтиламин (323 мкл, 2,32 ммоль) и смолу триацетоксиборгидрида натрия (1,1 г, 2,7 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение ночи, затем фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали на силикагелевой колонке (элюирование 0-15% метанол/DCM) с получением требуемого продукта (0,21 г, 70%). ^1H ЯМР (DMSO-d_6) δ 6,55 (м, 2H), 6,42 (д, 1H), 2,15 (с, 6H), 1,89 (с, 2H). ЖХМС ($\text{M}+\text{H}^+$): 170,1.

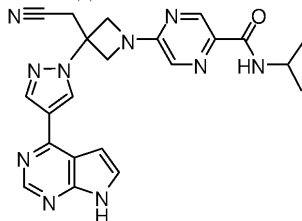
Этап 3. 4-(4-{3-[(Диметиламино)метил]-5-фторфенокси} пиперидин-1-ил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]бутаннитрил.

К смеси 3-[(диметиламино)метил]-5-фторфенола (158 мг, 0,934 ммоль) в метиленхлориде (9 мл) добавляли смолу трифенилфосфина (578 мг, 1,37 ммоль) и ди-трет-бутил азодикарбоксилат (229 мг, 0,996 ммоль). Смесь перемешивали в течение 20 мин, после чего добавляли раствор 4-(4-гидроксипиперидин-1-ил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]бутаннитрила (300 мг, 0,6 ммоль) в метиленхлориде (2 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Добавляли дополнительное количество смолы трифенилфосфина (0,5 г), ди-трет-бутил азодикарбоксилат (0,23 г) и DCM (8 мл) и перемешивали в течение дополнительных 2 часов. Флакон и смолу промывали DCM и фильтровали. Фильтраты промывали 10% водным раствором NaOH . Органический слой сушили над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали. Неочищенный продукт очищали на силикагелевой колонке (элюирование 0-15% метанол/DCM) с получением продукта, защищенного SEM-группами. ЖХМС ($\text{M}+\text{H}^+$): 633,5. К очищенному продукту добавляли метиленхлорид (1,5 мл) и трифторуксусную кислоту (1,5 мл, 19 ммоль) и перемешивали в течение 2 ч. Растворители выпаривали, затем добавляли метанол (3,5 мл) и этилендиамин (0,70 мл, 10 ммоль). Полученную смесь перемешивали в течение 1 ч и затем концентрировали. Концентрат помещали в DCM, промывали водой, сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и концентрировали с получением неочищенного продукта, который очищали методом хиральной препаративной ВЭЖХ (колонка Chiralcel OJ-H, $4,6 \times 250$ мм, 5 мк, 60% этанол/гексан, 0,5 мл/мин) с получением 2 энантиомеров.

Энантиомер 1 (элюировался первым): ЖХМС ($\text{M}+\text{H}^+$): 503,3;

энантиомер 2 (элюировался вторым): ^1H ЯМР (DMSO-d_6) δ 8,78 (с, 1H), 8,67 (с, 1H), 8,35 (с, 1H), 7,59 (д, 1H), 6,96 (д, 1H), 6,64 (т, 3H), 4,94 (м, 1H), 4,36 (м, 1H), 3,39 (м, 2H), 3,19 (д, 3H), 2,77 (м, 3H), 2,60 (м, 1H), 2,32 (м, 2H), 2,10 (с, 6H), 1,83 (м, 2H), 1,54 (м, 2H). ЖХМС ($\text{M}+\text{H}^+$): 503,3.

Пример 13. 5-{3-(Цианометил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид



Этап 1: метил 5-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}пиразин-2-карбоксилат.

(R)-(+)-2,2'-Бис(дифенилфосфино)-1,1'-бинафтил (0,065 г, 0,10 ммоль) добавляли к смеси дигидрохлорида {3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (0,50 г, 1,0 ммоль), метил 5-хлорпиразин-2-карбоксилата (0,18 г, 1,0 ммоль) (Ark Pharm, Inc., № по кат. АК-23920) и карбоната цезия (1,0 г, 3,1 ммоль) в толуоле (15,0 мл) в азотной атмосфере, после чего добавляли ацетат палладия (0,023 г, 0,10 ммоль). Реакционную смесь пе-

ремешивали при 120°C в течение 3 ч. После охлаждения до комнатной температуры реакционную смесь фильтровали через слой целита и промывали этилацетатом. Фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагелевой колонке, элюируя градиентом этилацетата в дихлорметане (0-70%), с получением требуемого продукта (0,31 г, 55%). ЖХМС (M+H)⁺: m/z = 546,3.

Этап 2: 5-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}пиразин-2-карбоновая кислота.

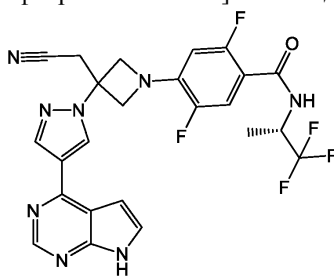
Смесь метил 5-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}пиразин-2-карбоксилата (0,31 г, 0,57 ммоль), моногидрата гидроксида лития (0,060 г, 1,4 ммоль) в метаноле (6,0 мл) и воде (2,5 мл) перемешивали при 30°C в течение ночи. Смесь доводили до pH 4 водным раствором HCl и концентрировали при пониженном давлении для удаления MeOH. Полученное твердое вещество фильтровали, промывали водой и простым эфиром, а затем сушили в вакууме с получением требуемого продукта (0,25 г, 83%). ЖХМС (M+H)⁺: m/z = 532,3.

Этап 3: 5-{3-(цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид.

Триэтиламин (15 мкл, 0,11 ммоль) добавляли к смеси 5-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}пиразин-2-карбоновой кислоты (19,4 мг, 0,0365 ммоль), гексафторфосфата бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)фосфония (19 мг, 0,044 ммоль) и 2-пропанамина (3,2 мг, 0,055 ммоль) в метиленхлориде (1,3 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь смешивали с водным раствором NaHCO₃ и экстрагировали метиленхлоридом (2×2 мл). Объединенные органические слои промывали водой (1 мл) и концентрировали при пониженном давлении. Остаток использовали на следующем этапе без дополнительной очистки. ЖХМС (M+H)⁺: m/z = 573,3.

К вышеуказанному промежуточному соединению добавляли метиленхлорид (1,3 мл) и трифторуксусную кислоту (0,6 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч. Смесь концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в метаноле (1,3 мл). К раствору добавляли этилендиамин (0,086 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и очищали методом ОФ-ВЭЖХ (pH 10) с получением требуемого продукта. ЖХМС (M+H)⁺: m/z = 443,2. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 12,15 (уш., 1H), 8,97 (с, 1H), 8,68 (с, 1H), 8,63 (д, J = 1,2 Гц, 1H), 8,46 (с, 1H), 8,12 (д, J = 8,4 Гц, 1H), 7,97 (д, J = 1,2 Гц, 1H), 7,60 (дд, J = 3,3, 2,4 Гц, 1H), 7,07 (дд, J = 3,4, 1,7 Гц, 1H), 4,81 (д, J = 9,8 Гц, 2H), 4,53 (д, J = 9,6 Гц, 2H), 4,13-4,02 (м, 1H), 3,78 (с, 2H), 1,14 (д, J = 6,8 Гц, 6H).

Пример 14. 4-{3-(Цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид



Этап 1: 4-хлор-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.

Хлорид 4-хлор-2,5-дифторбензоила (29,6 мг, 0,140 ммоль) (Oakwood, № по кат. 001628) добавляли к смеси гидрохлорида (2S)-1,1,1-трифторпропан-2-амин (20,0 мг, 0,134 ммоль) (SynQuest Lab, № по кат. 3130-7-S1) и диизопропилэтиламина (58 мкл, 0,33 ммоль) в дихлорметиле (4,0 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин, смешивали с насыщенным водным раствором NaHCO₃ и экстрагировали дихлорметиле (3×10 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над MgSO₄, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением требуемого продукта, который использовали непосредственно в реакции следующего этапа без дополнительной очистки. ЖХМС (M+H)⁺: m/z = 288,0/290,0.

Этап 2: 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.

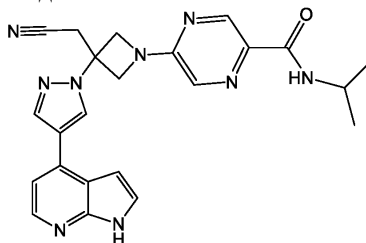
(R)-(+)-2,2'-Бис(дифенилфосфино)-1,1'-бинафтил (8,3 мг, 0,013 ммоль) добавляли к смеси дигидрохлорида {3-[4-(7-{2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (65 мг, 0,13 ммоль), 4-хлор-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (0,14 ммоль) и карбоната цезия (0,13 г, 0,40 ммоль) в толуоле (4,0 мл) в N₂, после чего добавляли ацетат палладия (3,0 мг, 0,013 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 130°C в течение 5 ч. После охлаждения реакционной смеси до комнатной температуры смесь смешивали с водой и экст-

рагировали этилацетатом (3×10 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного продукта, который использовали непосредственно в реакции следующего этапа без дополнительной очистки. ЖХМС ($\text{M}+\text{H}$)⁺: $m/z = 661,2$.

Этап 3: 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид.

Трифторидэтерат бора (0,051 мл, 0,40 ммоль) добавляли к раствору 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида в ацетонитриле (1,0 мл) при 0°C в атмосфере N_2 . Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч (ЖХМС ($\text{M}+\text{H}$)⁺: $m/z = 561,3$). Затем смесь охлаждали до 0°C и добавляли воду (0,13 мл). Через 30 мин медленно добавляли 5,0М гидроксид аммония в воде (0,2 мл, 1 ммоль) при 0°C в течение более 5 мин. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи и очищали ОФ-ВЭЖХ (pH 10) с получением требуемого продукта. ЖХМС ($\text{M}+\text{H}$)⁺: $m/z = 531,0$. ¹Н ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 12,62 (уш., 1Н), 9,07 (с, 1Н), 8,84 (с, 1Н), 8,55 (с, 1Н), 8,51 (дд, J = 8,8, 1,2 Гц, 1Н), 7,78 (уш., 1Н), 7,35 (дд, J = 12,6, 6,5 Гц, 1Н), 7,23 (д, J = 1,9 Гц, 1Н), 6,65 (дд, J = 11,9, 7,3 Гц, 1Н), 4,76 (м, 1Н), 4,70 (д, J = 9,3 Гц, 2Н), 4,44 (д, J = 9,2 Гц, 2Н), 3,76 (с, 2Н), 1,30 (д, J = 7,1 Гц, 3Н).

Пример 15. 5-{3-(Цианометил)-3-[4-(1Н-пирроло[2,3-b]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид



Этап 1: метил 5-{3-(цианометил)-3-[4-(1-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-1Н-пирроло[2,3-b]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}пиразин-2-карбоксилат.

N,N-Диизопропилэтиламин (1,0 мл, 6,0 ммоль) добавляли к смеси дигидрохлорида {3-[4-(1-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-1Н-пирроло[2,3-b]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (0,96 г, 2,0 ммоль) и метил 5-хлорпиразин-2-карбоксилата (0,34 г, 2,0 ммоль) в 1,4-диоксане (15 мл). Реакционную смесь перемешивали при 120°C в течение ночи. Смесь смешивали с насыщенным водным раствором NaHCO_3 и экстрагировали дихлорметиленом (3×20 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагелевой колонке, элюируя этилацетатом в гексанах (0-60%), с получением требуемого продукта (0,13 г, 12%). ЖХМС ($\text{M}+\text{H}$)⁺: $m/z = 545,2$.

Этап 2: 5-{3-(цианометил)-3-[4-(1-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-1Н-пирроло[2,3-b]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}пиразин-2-карбоновая кислота.

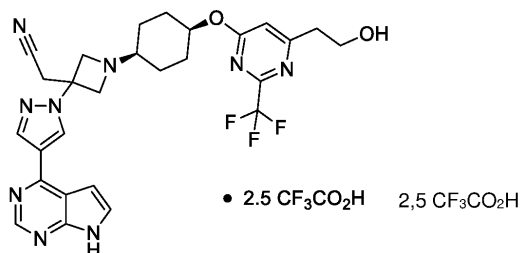
Реакционную смесь метил 5-{3-(цианометил)-3-[4-(1-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-1Н-пирроло[2,3-b]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}пиразин-2-карбоксилата (0,13 г, 0,24 ммоль), моногидрата гидроксида лития (0,025 г, 0,60 ммоль) в метаноле (4,0 мл), THF (2,0 мл) и воде (1,0 мл) перемешивали при 40°C в течение 3 ч. Смесь доводили до pH 4 водным раствором 2,0н. HCl и концентрировали при пониженном давлении для удаления MeOH и THF. Полученный осадок фильтровали, промывали водой и простым эфиром, а затем сушили в вакууме с получением требуемого продукта (0,100 г, 79%). ЖХМС ($\text{M}+\text{H}$)⁺: $m/z = 531,4$.

Этап 3: 5-{3-(цианометил)-3-[4-(1Н-пирроло[2,3-b]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид.

N,N-Диизопропилэтиламин (19 мкл, 0,11 ммоль) добавляли к смеси 5-{3-(цианометил)-3-[4-(1-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-1Н-пирроло[2,3-b]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}пиразин-2-карбоновой кислоты (19,4 мг, 0,0365 ммоль), гексафторфосфата бензотриазол-1-илокситрис(диметиламино)фосфония (19 мг, 0,044 ммоль) и 2-пропанамина (3,2 мг, 0,055 ммоль) в DMF (1,0 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Реакционную смесь смешивали с насыщенным водным раствором NaHCO_3 и экстрагировали дихлорметиленом (3×20 мл). Объединенные органические слои промывали соевым раствором, сушили над MgSO_4 , фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток обрабатывали метиленхлоридом (1,3 мл) и TFA (1,3 мл). Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 1,5 ч и концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в метаноле (1,3 мл) и обрабатывали этилендиамином (0,086 мл, 1,3 ммоль). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч и затем очищали ОФ-ВЭЖХ (pH 10) с получением требуемого продукта. ЖХМС ($\text{M}+\text{H}$)⁺: $m/z = 442,1$. ¹Н ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆): δ 12,19 (уш., 1Н), 8,99 (с, 1Н), 8,66 (д, J = 1,4 Гц, 1Н), 8,47 (с, 1Н), 8,32 (д, J = 5,7 Гц, 1Н), 8,14 (д,

J = 8,4 Гц, 1H), 8,00 (д, J = 1,4 Гц, 1H), 7,67 (дд, J = 3,2, 2,7 Гц, 1H), 7,54 (д, J = 5,5 Гц, 1H), 7,09 (дд, J = 3,5, 2,7 Гц), 4,82 (д, J = 10,0 Гц, 2H), 4,56 (д, J = 10,0 Гц, 2H), 4,10 (м, 1H), 3,79 (с, 2H), 1,17 (д, J = 6,4 Гц, 6H).

Пример 16: трис(трифторацетат) {1-(цис-4-{{6-(2-гидроксиэтил)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил}окси}циклогексил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила



Этап 1: диэтил [6-(1,4-диоксаспиро[4.5]дец-8-илокси)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]малонат.

К смеси тетрагидрофурана (40 мл) и NaN в минеральном масле (1,1 г, 28 ммоль) при 0°C по каплям добавляли этилмалонат (4,2 мл, 28 ммоль). Затем добавляли 4-хлор-6-(1,4-диоксаспиро[4.5]дец-8-илокси)-2-(трифторметил)пиримидин (описанный в примере 1 в публикации US 2013/0045963, этап 1) (3,75 г, 11,1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 64°C. Через 3 ч анализ ВЭЖХ и ЖХМС показал завершение реакции на 70%. Смесь нагревали еще в течение 6 ч, а затем охлаждали до 20°C. Образовались лишь следовые количества продукта декарбоксилирования. Реакционную смесь разбавляли водным раствором бикарбоната и экстрагировали EtOAc. Экстракт в EtOAc промывали солевым раствором, сушили над Na₂SO₄ и выпаривали под вакуумом с получением 8,5 г масла (содержащего избыток этилмалоната и минерального масла). Неочищенный продукт очищали хроматографией на силикагелевой колонке 120 г, используя растворитель А = гексан; растворитель В = EtOAc; поток 60 мл/мин; А - 3 мин; градиент до 40% В в течение 40 мин; детектор установлен на 254 нм; сбор фракциями по 47 мл; время удержания 28 мин. Объединенные фракции выпаривали с получением 4,6 г бесцветного масла, выход 90%. ¹H ЯМР (300 МГц, CDCl₃): δ 7,05 (с, 1H); 5,30 (м, 1H, OCH); 4,85 (с, 1H, CH); 4,25 (м, 2H, OCH₂); 3,95 (с, 4H, OCH₂); 1,6-2,1 (м, 8H); 1,28 (т, 3H, CH₃).

Этап 2: этил [6-(1,4-диоксаспиро[4.5]дец-8-илокси)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]ацетат.

Диэтил [6-(1,4-диоксаспиро[4.5]дец-8-илокси)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]малонат (4,60 г, 9,95 ммоль) растворяли в этаноле (46 мл). Добавляли воду (18 мкл, 1,0 ммоль) и 21% этюксид натрия в этаноле (0,37 мл, 1,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 75°C в течение 1 ч. Анализ ВЭЖХ и ЖХМС показал декарбоксилирование на 60%. Нагревание продолжали еще в течение 2 ч (реакция завершилась). Реакционную смесь разбавляли водным раствором бикарбоната и экстрагировали EtOAc. Экстракт в EtOAc промывали солевым раствором, затем сушили (Na₂SO₄) и выпаривали под вакуумом с получением 3,4 г масла (выход 88%). ЖХМС, ВЭЖХ и ЯМР показали чистоту, достаточную для продолжения. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-D₆): δ 7,20 (с, 1H); 5,20 (м, 1H, OCH); 4,10 (кв., 2H, OCH₂); 3,89 (с, 2H, CH₂); 3,85 (с, 4H, OCH₂); 1,5-2,0 (м, 8H); 1,15 (т, 3H, CH₃). ВЭЖХ показала UV_{max} = 222 и 252 нм.

Этап 3: 2-[6-(1,4-диоксаспиро[4.5]дец-8-илокси)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]этанол.

Этил [6-(1,4-диоксаспиро[4.5]дец-8-илокси)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]ацетат (3,0 г) растворяли в тетрагидрофуране (40 мл) и охлаждали на ледяной бане. Добавляли тетрагидроборат натрия (884 мг, 23,4 ммоль), а затем метанол (4,8 мл, 120 ммоль) порциями. Реакционную смесь перемешивали в течение 20 мин, убирали ледяную баню и перемешивали при 21°C в течение 0,5 ч. ВЭЖХ и ЖХМС не выявили оставшегося сложного эфира и показали преобразование в требуемый продукт М+Н 349; а также показали некоторые другие продукты восстановления (по меньшей мере один из которых не поглощал УФ-излучение). Реакционную смесь гасили водой и выпаривали. Реакционную смесь разбавляли водным раствором бикарбоната и EtOAc и перемешивали в течение 0,5 ч. Слой EtOAc промывали солевым раствором, сушили (Na₂SO₄) и выпаривали с получением 3,0 г масла. Продукт очищали хроматографией на силикагелевой колонке 120 г, используя растворитель А = гексан; растворитель В = 3% iPA/EtOAc; поток 60 мл/мин; А - 3 мин; градиент до 50% В в течение 30 мин, затем 50% В в течение 15 мин; детектор установлен на 254 нм; сбор фракциями по 47 мл; время удержания - 34 мин. Выпаривание позволило получить 1,5 г светло-желтого вязкого масла, выход 56%. ¹H ЯМР (300 МГц, DMSO-D₆): δ 7,10 (с, 1H); 5,20 (м, 1H, OCH); 4,71 (т, 1H, OH); 3,85 (с, 4H, OCH₂); 3,72 (кв., 2H, OCH₂); 2,85 (т, 2H, CH₂); 1,5-2,0 (м, 8H).

Этап 4: 4-{{6-(2-гидроксиэтил)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил}окси}циклогексанон.

2-[6-(1,4-Диоксаспиро[4.5]дец-8-илокси)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]этанол растворяли в ацетоне (60 мл, 900 ммоль), добавляли 5,0М хлороводорода в воде (20 мл, 98 ммоль) и перемешивали в течение 17 ч. Анализ методами ЖХМС и ВЭЖХ показал практически полное превращение в соединение М+Н 305. Добавляли водный раствор бикарбоната, реакционную смесь перемешивали и затем концентрировали. Эту смесь экстрагировали EtOAc. EtOAc сушили (Na₂SO₄) и выпаривали под вакуумом с получением 1,3 г светло-желтого вязкого масла (использованного в следующей реакции без очистки). ¹H

ЯМР (300 МГц, CDCl_3): δ 6,80 (с, 1H); 5,60 (м, 1H, OCH); 4,06 (т, 2H, OCH₂); 3,04 (т, 2H, CH₂); 2,61 (м, 2H); 2,45 (м, 2H); 2,25 (м, 2H).

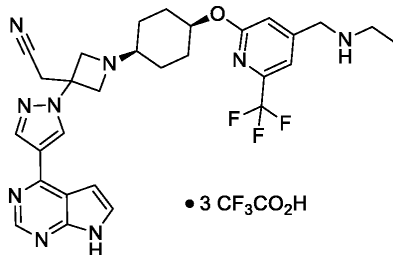
Этап 5: {1-(4-{[6-(2-гидроксиэтил)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил.

Дигидрохлорид {3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (1,9 г, 3,9 ммоль) и 4-{[6-(2-гидроксиэтил)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]окси}циклогексанон (1,3 г, 4,3 ммоль) в безводном тетрагидрофуране (36 мл) перемешивали в течение 15 мин в азотной атмосфере. Затем добавляли триацетоксиборгидрид натрия (1,7 г, 8,2 ммоль). Смесь перемешивали при 20°C в течение 16 ч. Анализ ВЭЖХ и ЖХМС показал четкое превращение в транс- и цис-продукты (М+Н 698; соотношение 1:1). Реакционную смесь гасили водой, концентрировали, перемешивали с 20% KHCO_3 , экстрагировали этилацетатом, сушили (Na_2SO_4), фильтровали и выпаривали с получением 2,8 г. Изомерные продукты разделяли препаративной ЖХМС на приборе Waters с использованием колонки 30 мм×100 мм Xbridge C18; 60 мл/мин; 55% $\text{CH}_3\text{CN}-\text{H}_2\text{O}$ (0,1% NH_4OH); 0,5 мин; 4,5 мин, градиент до 72%; 24 прохода; время удержания транс-изомера - 4,6 мин; цис-изомера - 5,4 мин. Выделенный цис-изомер содержал < 1% остаточного транс-изомера. Выход 1,00 г цис-изомера, выход 37%. ^1H ЯМР (500 МГц, CDCl_3 ; также COSY, HSQC и HMBC): δ 8,83 (с, 1H); 8,40 (с, 1H); 8,28 (с, 1H); 7,40 (м, 1H); 6,80 (м, 1H); 6,67 (с, 1H); 5,64 (с, 2H, SEM); 5,17 (м, 1H, OCH); 4,01 (т, 2H, OCH₂); 3,74 (с, 2H, NCH); 3,59 (м, 2H, NCH); 3,55 (т, 2H, SEM); 3,38 (с, 2H, CH₂CN); 2,95 (т, 2H, CH₂); 2,30 (м, 1H, NCH); 2,15 (м, 2H); 1,84 (м, 2H); 1,50 (м, 2H); 1,30 (м, 2H); 0,90 (т, 2H, SEM); -0,92 (с, 9H, SEM).

Этап 6: трис(трифторацетат) {1-(цис-4-{[6-(2-гидроксиэтил)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(1Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила.

Изомер {1-(4-{[6-(2-гидроксиэтил)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила растворяли в метиленхлориде (18 мл) и трифторуксусной кислоте (TFA, 18 мл, 230 ммоль) и перемешивали в течение 1,0 ч. Раствор концентрировали для удаления TFA. Анализ методом ЖХМС показал превращение в гидроксиметильное промежуточное соединение, М+Н 598, некоторое количество сложного эфира этого соединения и TFA, М+Н 694, и <5% остаточного SEM. Остаток растворяли в метаноле (36 мл) и добавляли 15,0М гидроксида аммония в воде (9,0 мл, 130 ммоль). Раствор перемешивали при 21°C в течение 18 ч. Анализы методами ВЭЖХ и ЖХМС не показали остатков пика М+Н 598 или сложного эфира TFA. Раствор выпаривали. Трифторацетат аммония удаляли путем добавления водного раствора бикарбоната и экстрагирования продукта с помощью EtOAc. Объединенный экстракт в EtOAc выпаривали с получением 0,96 г. Это вещество растворяли в 70 мл 10% $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$, содержащего 1,5 эквивалента TFA (180 мкл). Продукт выделяли препаративной ЖХМС с использованием прибора Waters Fraction-Linx и колонки 30 мм×100 мм Sunfire C18; 60 мл/мин; 15% $\text{ACN}-\text{H}_2\text{O}$ (0,1% TFA), 0,5 мин; 4,5 мин, градиент до 33%; детектор установлен на m/z 568; 14 проходов; время удержания — 5,0 мин. Анализ ВЭЖХ показал $\text{UV}_{\text{max}} = 224, 252, 294$ и 318 нм. Объединенные фракции лиофилизировали. Получили 1,0 г твердого вещества белого цвета (выход 80%). ЯМР-анализ показал, что это соль 2,5 TFA. ^1H ЯМР (500 МГц, CD_3CN ; также COSY, HSQC и HMBC): δ 10,84 (с, 1H, NH); 9,00 (с, 1H); 8,90 (с, 1H); 8,56 (с, 1H); 7,66 (м, 1H); 7,10 (м, 1H); 6,86 (с, 1H); 5,39 (м, 1H, OCH); 4,86 (уш. с, 2H, NCH); 4,66 (м, 2H, NCH); 3,90 (т, 2H, OCH₂); 3,78 (с, 2H, CH₂CN); 3,39 (м, 1H, NCH); 2,92 (т, 2H, CH₂); 2,20 (м, 2H); 1,92 (м, 2H); 1,76 (м, 4H). ^{19}F ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$): δ - 69,8 (с); -74,8 (с, TFA); расчетное значение ЖХМС для $\text{C}_{27}\text{H}_{29}\text{F}_3\text{N}_9\text{O}_2$ (М+Н)⁺: m/z = 568,24.

Пример 17. трис(трифторацетат) {1-(цис-4-{[4-[(этиламино)метил]-6-(трифторметил)пиримидин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила



Этап 1: метансульфонат [2-[(цис-4-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}циклогексил)окси]-6-(трифторметил)пиримидин-4-ил]метила.

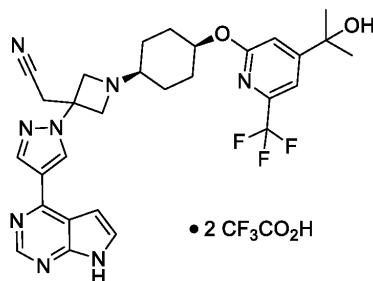
{1-(Цис-4-{[4-(гидроксиметил)-6-(трифторметил)пиримидин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацето-

нитрил (из примера 64 в публикации US 2013/0045963, 145,0 мг, 0,2124 ммоль) растворяли в метиленхлориде (2,93 мл) и охлаждали до 0°C. К смеси добавляли N,N-диизопропилэтиламин (60,5 мкл, 0,347 ммоль), а затем метансульфонилхлорид (23 мкл, 0,30 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Затем реакционную смесь обрабатывали EtOAc и использовали в следующей реакции. MS (ES): 761 (M+1).

Этап 2: трис(трифторацетат) {1-(цис-4-{[4-[(этиламино)метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила.

Метансульфонат [2-[(цис-4-{3-(цианометил)-3-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил]циклогексил)окси]-6-(трифторметил)пиридин-4-ил]метила (50 мг, 0,06571 ммоль) растворяли в 1,4-диоксане (2,5 мл) и добавляли 2,0М этиламина в THF (300 мкл, 0,6 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч, и к этому времени анализ методом ЖХМС показал присутствие главным образом продукта. Продукт очищали методом ЖХ, выпаривали и удаляли защитные группы так, как в примере 1 в публикации US 2013/0045963, и очищали методом ЖХ с получением продукта. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 9,08 (с, 1H), 8,87 (с, 1H), 8,58 (с, 1H), 7,78 (д, 1H), 7,50 (с, 1H), 7,25 (д, 1H), 7,13 (с, 1H), 5,38 (м, 1H), 5,08 (д, 2H), 4,80 (д, 2H), 4,27 (с, 2H), 3,74 (с, 2H), 3,50 (м, 1H), 3,16 (кв., 2H), 2,24 (м, 2H), 2,01 (м, 2H), 1,76 (м, 4H), 1,34 (т, 3H). ¹⁹F ЯМР (376 МГц, CD₃OD) δ -70,52 (с), -77,49 (с). MS (ES): 580 (M+1).

Пример 18. бис(Трифторацетат) {1-(цис-4-{[4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила



Этап 1: 2-хлор-6-(трифторметил)изоникотиновая кислота.

2-Хлор-6-(трифторметил)пиридин (1,0 г, 5,51 ммоль, Oakwood Products) растворяли в тетрагидрофуране (20 мл) и добавляли смесь 1,0М хлорида лития и хлор(2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-ил)магния (1:1) в THF (6,610 мл, 6,610 ммоль, Aldrich Co.) при 25°C. Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 1 ч и охлаждали до -78°C. Реакционную смесь перемешивали при -78°C в течение 1 ч, позволяли нагреться до комнатной температуры, гасили водой и разделяли между 1н. NaOH и простым эфиром. Фазы разделяли, водную фазу промывали дополнительным количеством простого эфира, подкисляли концентрированной HCl до pH ~ 1 и экстрагировали простым эфиром. Объединенную органическую фазу промывали водой, насыщенным NaCl, сушили над MgSO₄, фильтровали и выпаривали досуха с получением неочищенного продукта. ЯМР-анализ показал, что продукт состоял из смеси ~ 2:1 пара- и мета- карбоновых кислот. Смесь использовали в следующей реакции. 440 МГц ЯМР(CDCl₃) δ 8,17 (с, 1H), 8,11 (с, 1H).

Этап 2: этил 2-хлор-6-(трифторметил)изоникотинат и этил 2-хлор-6-(трифторметил)никотинат.

Во флаконе 2-хлор-6-(трифторметил)никотиновую кислоту (0,98 г, 4,4 ммоль) и 2-хлор-6-(трифторметил)изоникотиновую кислоту (1,85 г, 8,2 ммоль) растворяли в этилортоформиате (5,0 мл, 30,1 ммоль) и нагревали при 120°C в течение 5 ч. К этому времени анализ методом ТСХ показал, что большая часть исходного материала израсходовалась и образовались продукты. Реакционную смесь выпаривали под вакуумом и остаток очищали хроматографией на силикагеле, используя 10% EtOAc/гексаны, с получением двух продуктов - сложных этиловых эфиров. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃): δ 8,14 (с, 1H), 8,08 (с, 1H), 4,47 (к, 2H), 1,44 (т, 3H).

Этап 3: 2-[2-хлор-6-(трифторметил)пиридин-4-ил]пропан-2-ол.

Этил 2-хлор-6-(трифторметил)изоникотинат (0,35 г, 1,4 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (13,8 мл) и охлаждали до -78°C, затем добавляли 3,0М раствор бромида метилмагния в простом эфире (1,4 мл, 4,1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при -78°C в течение 3 ч, и к этому времени анализ методом ЖХМС показал отсутствие исходного материала. Реакционную смесь гасили насыщенным раствором NH₄Cl и разделяли между водой/1н. HCl и EtOAc, фазы отделяли и водную фазу промывали дополнительным количеством EtOAc. Объединенную органическую фазу промывали водой, насыщенным NaCl, сушили над MgSO₄, фильтровали и выпаривали досуха с получением неочищенного продукта. ЯМР-анализ показал, что продукт состоял из смеси ~1:1 спирта и метилкетонного промежуточного соединения. Неочищенный материал использовали в следующей реакции без дополнительной очистки. ЯМР 400 МГц ЯМР (CDCl₃): δ 7,70 (с, 1H), 7,63 (с, 1H), 1,60 (с, 6H).

Этап 4: 2-[2-(1,4-диоксаспиро[4.5]дец-8-илокси)-6-(трифторметил)пиридин-4-ил]пропан-2-ол.

1,4-Диоксаспиро[4.5]декан-8-ол (0,25 г, 1,58 ммоль) и 2-[2-хлор-6-(трифторметил)пиридин-4-ил]пропан-2-ол (0,2 г, 0,835 ммоль) растворяли в тетрагидрофуране (2 мл) и охлаждали до 0°C, добавляли 60% смесь гидрида натрия (70,0 мг, 1,75 ммоль) в минеральном масле, реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин при 0°C и в течение 60 ч при 25°C, и к этому времени анализ методом ТСХ показал наличие некоторого количества продукта. Реакционную смесь гасили водой, экстрагировали этилацетатом, органические экстракты промывали водой, насыщенным NaCl, сушили (MgSO₄) и выпаривали под вакуумом. Остаток очищали методом ЖХ (pH 2) с получением продукта. МС (ES): 362 (M+1).

Этап 5: 4-{{4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил}окси}циклогексанон.

2-[2-(1,4-Диоксаспиро[4.5]дец-8-илокси)-6-(трифторметил)пиридин-4-ил]пропан-2-ол (0,049 г, 0,14 ммоль) растворяли в ацетоне (3,7 мл). Добавляли раствор 12,0М хлороводорода в воде (0,43 мл, 5,2 ммоль) и перемешивали при 25°C в течение 16 ч, и к этому времени анализ методом ЖХМС показал завершение реакции приблизительно на 70%. Добавляли дополнительное количество раствора 12,0М хлороводорода в воде (0,43 мл, 5,2 ммоль) и перемешивали в течение 3 ч. Анализ методом ЖХМС показал завершение реакции на ~90%; реакционную смесь гасили избытком NaHCO₃, экстрагировали EtOAc, и органический экстракт выпаривали с получением продукта. Это вещество использовали в следующей реакции без очистки. МС (ES): 318 (M+1).

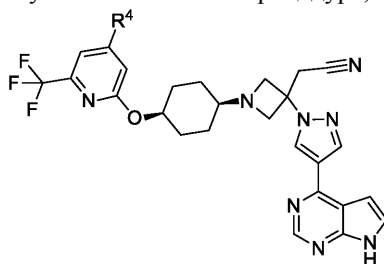
Этап 5: {1-(цис-4-{{4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил}окси}циклогексил)-3-[4-(1-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-1Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил.

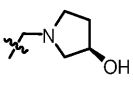
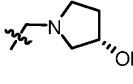
Дигидрохлорид {3-[4-(7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила (55,3 мг, 0,115 ммоль) и 4-{{4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил}окси}циклогексанон растворяли в безводном 1,2-дихлорэтаноле (1,38 мл), перемешивали в течение 5 мин и добавляли триацетоксиборгидрид натрия (86,1 мг, 0,406 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 25°C в течение 16 ч, и к этому времени анализ методом ЖХМС показал наличие главным образом двух диастереоизомерных продуктов. Реакционную смесь гасили водой, нейтрализовали NaHCO₃, экстрагировали этилацетатом, и выпаривали растворитель. Остаток очищали методом ЖХМС (pH 10), и фракции, содержащие второй пик, объединяли и выпаривали с получением {1-(цис-4-{{4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил}окси}циклогексил)-3-[4-(7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила. Также выделяли первый пик с получением {1-(транс-4-{{4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил}окси}циклогексил)-3-[4-(7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила. МС (ES): 712 (M+1).

Этап 6: бис(трифторацетат) {1-(цис-4-{{4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил}окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила.

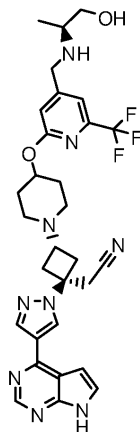
Выполняли удаление защитных групп с {1-(цис-4-{{4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил}окси}циклогексил)-3-[4-(7-{{2-(триметилсилил)этокси}метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила, как описано в примере 1 в публикации US 2013/0045963, и проводили очистку жидкостной хроматографией (pH 2) с получением бис(трифторацетата) 1-(цис-4-{{4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил}окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила. Аналогичным образом получали и характеризовали бис(трифторацетат) {1-(транс-4-{{4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил}окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила. ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 9,07 (с, 1H), 8,87 (с, 1H), 8,59 (с, 1H), 7,78 (д, J = 3,7 Гц, 1H), 7,44 (с, 1H), 7,24 (д, J = 3,7 Гц, 1H), 7,05 (с, 1H), 5,35 (с, 1H), 5,09 (д, J = 12,2 Гц, 2H), 4,82 (д, J = 12,2 Гц, 2H), 3,72 (с, 2H), 3,5 (м, 1H), 2,27 (м, 2H), 2,0 (м, 2H), 1,74 (м, 4H), 1,50 (с, 6H). МС (ES): 581 (M+1).

Примеры 19 и 20 ниже были получены аналогично процедуре, описанной в примере 17



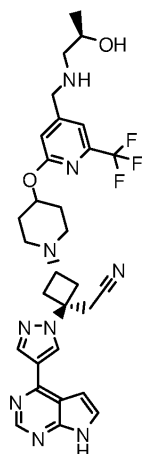
Пример №	R4	МС (M+H) ⁺	Наименование
19		622	Пентакис(трифторацетат) {1-(<i>цис</i> -4-{[4-{[(3R)-3-гидроксипирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила
20		622	Трис(трифторацетат) {1-(<i>цис</i> -4-{[4-{[(3S)-3-гидроксипирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила

Пример 21. {Транс-3-(4-{[4-({[(1S)-2-гидрокси-1-метилэтил]амино}метил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил



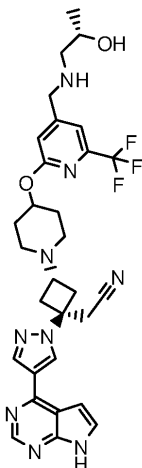
N,N-Диизопропилэтиламин (9,4 мкл, 0,054 ммоль) и метансульфоновый ангидрид (7,9 мг, 0,045 ммоль) добавляли к раствору {транс-3-(4-{[4-(гидроксиметил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрила (10,0 мг, 0,018 ммоль, пик 1 из промежуточного примера А2 в публикации US 2014/0005166, этап F) в метиленхлориде (0,30 мл), и мезитатное соединение перемешивали в течение 30 мин. Растворитель удаляли под вакуумом, остаток растворяли в смеси тетрагидрофурана (0,30 мл) и метанола (0,10 мл), после чего добавляли (2S)-2-аминопропан-1-ол (20 мкл, 0,27 ммоль, Acros). Реакционную смесь перемешивали при 40°C в течение ночи. Растворитель удаляли под вакуумом, и с неочищенного продукта удаляли защитные группы путем перемешивания с 1:1 TFA: DCM в течение одного часа, затем концентрировали и перемешивали с этилендиамином (0,10 мл) в метаноле (1,0 мл) до завершения удаления защитных групп по данным, определенным с помощью ЖХМС. Продукт очищали методом препаративной ВЭЖХ-МС (C18, элюирование градиентом MeCN/H₂O, содержащим 0,15% NH₄OH). Элюент замораживали и лиофилизировали с получением продукта в виде свободного основания (6,0 мг, 54%). ¹H ЯМР (400 МГц, CD₃OD) δ 8,74 (с, 1H), 8,67 (с, 1H), 8,40 (с, 1H), 7,51 (д, J = 3,6 Гц, 1H), 7,37 (с, 1H), 7,00-6,97 (м, 2H), 5,23-5,00 (м, 1H), 3,90 (д, J = 14,8 Гц, 1H), 3,81 (д, J = 14,8 Гц, 1H), 3,50 (дд, J = 10,9, 4,9 Гц, 1H), 3,41 (дд, J = 10,9, 6,9 Гц, 1H), 3,31 (с, 2H), 3,16-3,05 (м, 2H), 2,95 (р, J = 7,5 Гц, 1H), 2,83-2,63 (м, 3H), 2,56-2,42 (м, 2H), 2,39-2,23 (м, 2H), 2,19-2,04 (м, 2H), 1,93-1,75 (м, 2H), 1,05 (д, J = 6,4 Гц, 3H). ¹⁹F ЯМР (376 МГц, CD₃OD) δ -70,30 (с). ЖХМС (M+H)⁺: 610,3.

Пример 22. {Транс-3-(4-{[4-({[(2R)-2-гидроксипропил]амино}метил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил



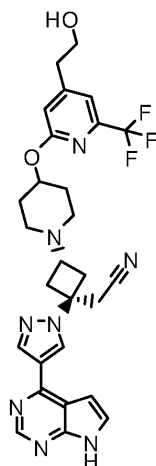
Следовали процедуре из примера 9 в публикации US 2014/0005166, используя (2R)-1-аминопропан-2-ол (12 мкл, 0,15 ммоль, Aldrich) на этапе вытеснения, который проводили при 50°C в течение 2 ч. Продукт получали в виде свободного основания (8,7 мг, 46%). ¹H ЯМР (400 МГц, d₆-DMSO) δ 12,13 (с, 1H), 8,83 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,42 (с, 1H), 7,60 (д, J = 3,6 Гц, 1H), 7,42 (с, 1H), 7,08 (д, J = 3,6 Гц, 1H), 7,04 (с, 1H), 5,11-4,90 (м, 1H), 4,49 (д, J = 4,4 Гц, 1H), 3,76 (с, 2H), 3,67 (тт, J = 10,3, 5,6 Гц, 1H), 3,42 (с, 2H), 3,11-2,96 (м, 2H), 2,81 (п, J = 7,5 Гц, 1H), 2,74-2,56 (м, 2H), 2,46-2,25 (м, 4H), 2,24-2,09 (м, 2H), 2,09-1,90 (м, 2H), 1,81-1,51 (м, 2H), 1,03 (д, J = 6,2 Гц, 3H). ¹⁹F ЯМР (376 МГц, d₆-DMSO) δ -67,29 (с). ЖХМС (M+H)⁺: 610,3.

Пример 23. {Транс-3-(4-{[4-({[(2S)-2-гидроксипропил]амино}метил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил



Следовали процедуре из примера 9 в публикации US 2014/0005166, используя (2S)-1-аминопропан-2-ол (12 мкл, 0,15 ммоль, Aldrich) на этапе вытеснения, который проводили при 50°C в течение 2 ч (7,9 мг, 42%). ¹H ЯМР (400 МГц, d₆-DMSO) δ 12,13 (с, 1H), 8,83 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,42 (с, 1H), 7,60 (д, J = 3,6 Гц, 1H), 7,42 (с, 1H), 7,08 (д, J = 3,6 Гц, 1H), 7,04 (с, 1H), 5,27-4,71 (м, 1H), 4,49 (д, J = 4,4 Гц, 1H), 3,76 (с, 2H), 3,72-3,62 (м, 1H), 3,42 (с, 2H), 3,09-2,96 (м, 2H), 2,81 (р, J = 7,4 Гц, 1H), 2,72-2,55 (м, 2H), 2,43-2,25 (м, 4H), 2,25-2,08 (м, 2H), 2,08-1,96 (м, 2H), 1,78-1,57 (м, 2H), 1,03 (д, J = 6,2 Гц, 3H). ¹⁹F ЯМР (376 МГц, d₆-DMSO) δ -67,29 (с). ЖХМС (M+H)⁺: 610,3.

Пример 24. {Транс-3-(4-{[4-(2-гидроксиэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил



Провели удаление защитных групп и очистку {транс-3-(4-{[4-(2-гидроксиэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7-{[2-(триметилсилил)этокси]метил}-7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрила (9,0 мг, 0,013 ммоль, пик 2 из промежуточного примера А4 в публикации US 2014/0005166, этап 3) путем перемешивания в смеси метиленхлорида (0,50 мл) и трифторуксусной кислоты (0,50 мл) в течение одного часа. Растворители удаляли под вакуумом и остаток перемешивали в метаноле (0,1 мл), содержащем этилендиамин (0,1 мл). Очистка посредством препаративной ВЭЖХ-МС (колонка C18 с элюированием градиентом MeCN/H₂O, содержащим 0,15% NH₄OH) позволила получить продукт в виде свободного основания (5,8 мг, 79%). ¹H ЯМР (300 МГц, d₆-DMSO) δ 12,12 (с, 1H), 8,83 (с, 1H), 8,69 (с, 1H), 8,42 (с, 1H), 7,60 (д, J = 3,6 Гц, 1H), 7,34 (с, 1H), 7,08 (д, J = 3,6 Гц, 1H), 6,95 (с, 1H), 4,99 (тт, J = 8,2, 4,1 Гц, 1H), 4,73 (т, J = 4,9 Гц, 1H), 3,66 (кв., J = 5,9 Гц, 2H), 3,42 (с, 2H), 3,11-2,95 (м, 2H), 2,90-2,71 (м, 3H), 2,71-2,56 (м, 2H), 2,44-2,30 (м, 2H), 2,15 (т, J = 9,2 Гц, 2H), 2,09-1,82 (м, 2H), 1,83-1,58 (м, 2H). ¹⁹F ЯМР (282 МГц, d₆-DMSO) δ -67,26 (с). ЖХМС (M+H)⁺: 567,2.

Пример А: анализ JAK-киназ *in vitro*.

Описанные в настоящем документе соединения были протестированы на ингибиторную активность в отношении целевых JAK в соответствии со следующим анализом *in vitro*, описанным в публикации Park et al., Analytical Biochemistry 1999, 269, 94-104. Каталитические домены человеческой JAK1 (аминокислоты 837-1142), JAK2 (аминокислоты 828-1132) и JAK3 (аминокислоты 781-1124) с N-концевой His-меткой экспрессировали с использованием бакуловируса в клетках насекомых и очищали. Каталитическую активность JAK1, JAK2 или JAK3 оценивали, измеряя фосфорилирование биотинилированного пептида. Фосфорилированный пептид определяли методом гомогенной флуоресценции с временным разрешением (HTRF). Значения IC₅₀ для соединений измеряли для каждой киназы в 40 мкл реакционной смеси, содержащей фермент, АТФ и 500 нМ пептида в 50 мМ Tris-буфере (pH 7,8) со 100 мМ NaCl, 5 мМ DTT и 0,1 мг/мл (0,01%) BSA. В случае измерений 1 мМ IC₅₀ концентрация АТФ в реакционных смесях составляла 1 мМ. Реакции проводили при комнатной температуре в течение 1 ч, после чего останавливали 20 мкл 45 мМ EDTA, 300 нМ SA-APC, 6 нМ Eu-Py20 в буфере для анализа (Perkin Elmer, г. Бостон, штат Массачусетс, США). В течение 40 мин проводили связывание с меченным европием антителом и измеряли сигнал HTRF на считывателе для планшет Fusion (Perkin Elmer, г. Бостон, штат Массачусетс, США). См. табл. 2, где приведены данные по примерам соединений, протестированных с помощью анализа из примера А при 1 мМ АТФ.

Пример В: клеточные анализы.

Линии раковых клеток, рост которых зависит от цитокинов и, следовательно, от трансдукции сигналов JAK/STAT, можно высевать в концентрации 6000 клеток на лунку (96-луночный формат планшеты) в RPMI 1640, 10% FBS и 1 нг/мл соответствующего цитокина. Соединения можно добавлять к клеткам в растворе DMSO/среда (конечная концентрация DMSO 0,2%) и инкубировать в течение 72 ч при 37°C, 5% CO₂. Влияние соединения на жизнеспособность клеток оценивали с использованием анализа на жизнеспособность CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay (Promega) с последующей количественной оценкой TopCount (Perkin Elmer, г. Бостон, штат Массачусетс, США). Потенциальные неспецифические эффекты соединений измеряли параллельно с использованием неактивируемой JAK клеточной линии с аналогичной регистрацией показаний. Все эксперименты, как правило, выполнялись в двух повторностях.

Вышеуказанные клеточные линии также можно использовать для изучения влияния соединений на фосфорилирование JAK-киназ или потенциальных нижележащих субстратов, таких как белки STAT, Akt, Shp2 или Erk. Эти эксперименты можно проводить после цитокинового голодания в течение ночи с последующей краткой прединкубацией с соединением (2 ч или менее) и цитокиновой стимуляцией в течение 1 ч или менее. Затем белки экстрагируют из клеток и анализируют методиками, известными специалистам в данной области, в том числе вестерн-блоттингом и твердофазным иммуноферментным анали-

зом (ELISA), с использованием антител, способных дифференцировать фосфорилированный и общий белок. В этих экспериментах можно использовать нормальные или раковые клетки и исследовать воздействие соединений на биологию выживания раковых клеток или медиаторы воспалительного заболевания. Например, в последнем случае можно использовать такие цитокины, как IL-6, IL-12, IL-23 или IFN, для стимуляции активации JAK, приводящей к фосфорилированию белка(ов) STAT и потенциально профилям транскрипции (оцениваемым по панелям или с помощью технологии количественной ПЦР) или продукции и/или секреции белков, таких как IL-17. Способность соединений ингибировать эти опосредованные цитокинами эффекты можно измерить с использованием технологий, хорошо известных специалистам в данной области.

Соединения, описанные в настоящем документе, также можно протестировать на клеточных моделях, выполненных с возможностью оценки их эффективности и активности в отношении мутантных форм JAK, например мутации JAK2V617F, обнаруживаемой при миелоидных пролиферативных расстройствах. В этих экспериментах часто используют цитокин-зависимые клетки гематологической линии (например, BaF/3), в которых эктопически экспрессируются JAK-киназы дикого или мутантного типа (James C. et al. Nature 434:1144-1148; Staerk J., et al. JBC 280:41893-41899). Конечные критерии включают влияние соединений на выживаемость, пролиферацию клеток и фосфорилированные белки JAK, STAT, Akt или Erk.

Некоторые соединения, описанные в настоящем документе, можно оценивать на их способность ингибировать пролиферацию Т-клеток. Такой анализ можно считать вторым анализом на пролиферацию, обусловленную цитокином (т.е. JAK), а также упрощенным анализом на иммуносупрессию или ингибирование активации иммунитета. Ниже приведено краткое описание процедуры проведения таких экспериментов. Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) получают из образцов цельной человеческой крови с использованием способа разделения фиколл-гипак, а Т-клетки (фракцию 2000) можно получить из PBMC элютриацией. Свежевыделенные человеческие Т-клетки можно культивировать в культуральной среде (RPMI 1640 с добавлением 10% эмбриональной бычьей сыворотки, 100 ЕД/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина) с плотностью 2×10^6 клеток/мл при 37°C в течение максимум 2 дней. Для анализа стимулированной IL-2 пролиферации Т-клетки сначала обрабатывают фитогемагглютинином (РНА) с конечной концентрацией 10 мкг/мл в течение 72 ч. После однократной промывки PBS высевают по 6000 клеток на лунку в 96-луночные планшеты и обрабатывают соединениями с разной концентрацией в культуральной среде в присутствии 100 ЕД/мл человеческого IL-2 (ProSpec-Tany TechnoGene; г. Реховот, Израиль). Планшеты инкубируют при 37°C в течение 72 ч и оценивают коэффициент пролиферации, используя люминесцентные реагенты CellTiter-Glo в соответствии с рекомендованным производителем протоколом (Promega; г. Мэдисон, штат Висконсин, США).

Анализ С. Модель с трансгенными мышами S100A9.

Ранее было показано, что трансгенные мыши S100A9 демонстрируют накопление в костном мозге супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC), которое сопровождается развитием прогрессивных мультилинейных цитопений и цитологической дисплазии, сходных с МДС. Более того, раннее принудительное созревание MDSC в результате либо обработки полностью транс-ретиноевой кислотой, либо прерывания сигнализации CD33 несущим иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (несущим ITAM) адаптерным белком (DAP12) защищало гематологический фенотип и облегчало течение заболевания. Эту систему можно использовать для проверки эффектов ингибирования JAK1 на МДС-подобное заболевание в доклинической модели; J. Clin. Invest., 123(11):4595-4611 (2013). Соответственно, селективный ингибитор JAK1 вводят перорально через зонд. Отслеживают способность соединения уменьшать цитопению и цитологическую дисплазию, наблюдаемую у трансгенных мышей S100A9.

Все патенты, заявки на патенты, журнальные статьи и книги полностью включены в настоящий документ путем ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения миелодиспластического синдрома, выбранного из рефрактерной цитопении с однолинейной дисплазией (РЦОД), рефрактерной анемии с кольцевыми сидеробластами (РАКС), рефрактерной цитопении с мультилинейной дисплазией, рефрактерной анемии с избытком бластов-1 (РАИБ-1), рефрактерной анемии с избытком бластов-2 (РАИБ-2), неклассифицированного миелодиспластического синдрома (МДС-Н) и миелодиспластического синдрома, связанного с изолированной делецией del(5q), у нуждающегося в этом пациента, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества селективного ингибитора JAK1 или его фармацевтически приемлемой соли, в котором селективный ингибитор JAK1 выбирают из

3-[1-(6-хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрила;

3-(1-[1,3]оксазоло[5,4-b]пиридин-2-илпирролидин-3-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрила;

4-[(4-{3-циано-2-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропил} пиперазин-1-

ил)карбонил]-3-фторбензонитрила;

4-[(4-{3-циано-2-[3-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]пропил} пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрила;

{1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила;

4-{3-(цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-[4-фтор-2-(трифторметил)фенил]пиперидин-1-карбоксамида;

[3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]-1-(1-{2-(трифторметил)пиримидин-4-ил}карбонил} пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил]ацетонитрила;

[транс-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]-3-(4-{2-(трифторметил)пиримидин-4-ил}карбонил} пиперазин-1-ил)циклобутил]ацетонитрила;

{транс-3-(4-{[4-{(3-гидроксиазетидин-1-ил)метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрила;

{транс-3-(4-{[4-{[(2S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил]метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрила;

{транс-3-(4-{[4-{[(2R)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил]метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрила;

4-(4-{3-[(диметиламино)метил]-5-фторфенокси} пиперидин-1-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]бутаннитрила;

5-{3-(цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиперазин-2-карбоксамида;

4-{3-(цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида;

5-{3-(цианометил)-3-[4-(1Н-пирроло[2,3-b]пиридин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиперазин-2-карбоксамида;

{1-(цис-4-{[6-(2-гидроксиэтил)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]окси} циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила;

{1-(цис-4-{[4-(этиламино)метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила;

{1-(цис-4-{[4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила;

{1-(цис-4-{[4-{[(3R)-3-гидрокси-1-метилэтил]пиридин-2-ил]окси} циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила;

{1-(цис-4-{[4-{[(3S)-3-гидрокси-1-метилэтил]пиридин-2-ил]окси} циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила;

{транс-3-(4-{[4-{[(1S)-2-гидрокси-1-метилэтил]амино}метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрила;

{транс-3-(4-{[4-{[(2R)-2-гидрокси-1-метилэтил]амино}метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрила;

{транс-3-(4-{[4-{[(2S)-2-гидрокси-1-метилэтил]амино}метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрила;

{транс-3-(4-{[4-(2-гидроксиэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси} пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрила;

или их фармацевтически приемлемой соли.

2. Способ по п.1, в котором селективный ингибитор JAK1 является селективным к JAK1 в сравнении с JAK2, JAK3 и TYK2.

3. Способ по п.1 или 2, в котором указанный миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную цитопению с однолинейной дисплазией (РЦОД).

4. Способ по п.1 или 2, в котором указанный миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную анемию с кольцевыми сидеробластами (РАКС).

5. Способ по п.1 или 2, в котором указанный миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную цитопению с мультилинейной дисплазией.

6. Способ по п.1 или 2, в котором указанный миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную анемию с избытком бластов-1 (РАИБ-1).

7. Способ по п.1 или 2, в котором указанный миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную анемию с избытком бластов-2 (РАИБ-2).

8. Способ по п.1 или 2, в котором указанный миелодиспластический синдром представляет собой неклассифицированный миелодиспластический синдром (МДС-Н).

9. Способ по п.1 или 2, в котором указанный миелодиспластический синдром представляет собой

миелодиспластический синдром, связанный с изолированной делецией del(5q).

10. Способ по п.1 или 2, в котором указанный миелодиспластический синдром устойчив к средствам стимуляции эритропоэза.

11. Способ по любому одному из пп.1-10, в котором указанный пациент зависит от трансфузии эритроцитов.

12. Способ по любому одному из пп.1-11, дополнительно включающий введение дополнительного терапевтического средства, которое выбирают из иммуномодулятора, средства против IL-6, средства против TNF- α , гипометилирующего средства и модификатора биологического ответа (BRM).

13. Способ по п.12, в котором указанное средство против TNF- α выбирают из инфликсимаба и этанерцепта.

14. Способ по п.12, в котором указанное гипометилирующее средство представляет собой ингибитор ДНК-метилтрансферазы.

15. Способ по п.14, в котором указанный ингибитор ДНК-метилтрансферазы выбирают из 5-азациитидина и децитабина.

16. Способ по п.12, в котором указанный иммуномодулятор выбирают из талидомида, леналидомида, помалидомида, CC-11006 и CC-10015.

17. Способ по любому одному из пп.1-11, дополнительно включающий введение дополнительного терапевтического средства, которое выбирают из антилимфоцитарного глобулина, рекомбинантного человеческого гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), гранулоцитарно-моноцитарного колониестимулирующего фактора (GM-CSF), средства стимуляции эритропоэза (ESA) и циклоспорина.

18. Способ лечения миелодиспластического синдрома, выбранного из рефрактерной цитопении с однолинейной дисплазией (РЦОД), рефрактерной анемии с кольцевыми сидеробластами (РАКС), рефрактерной цитопении с мультилинейной дисплазией, рефрактерной анемии с избытком бластов-1 (РАИБ-1), рефрактерной анемии с избытком бластов-2 (РАИБ-2), неклассифицированного миелодиспластического синдрома (МДС-Н) и миелодиспластического синдрома, связанного с изолированной делецией del(5q), у нуждающегося в этом пациента, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества селективного ингибитора JAK1 или его фармацевтически приемлемой соли, в котором селективный ингибитор JAK1 представляет собой {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

19. Способ по п.18, в котором указанный миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную цитопению с однолинейной дисплазией (РЦОД).

20. Способ по п.18, в котором указанный миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную анемию с кольцевыми сидеробластами (РАКС).

21. Способ по п.18, в котором указанный миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную цитопению с мультилинейной дисплазией.

22. Способ по п.18, в котором указанный миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную анемию с избытком бластов-1 (РАИБ-1).

23. Способ по п.18, в котором указанный миелодиспластический синдром представляет собой рефрактерную анемию с избытком бластов-2 (РАИБ-2).

24. Способ по п.18, в котором указанный миелодиспластический синдром представляет собой неклассифицированный миелодиспластический синдром (МДС-Н).

25. Способ по п.18, в котором указанный миелодиспластический синдром представляет собой миелодиспластический синдром, связанный с изолированной делецией del(5q).

26. Способ по п.18, в котором указанный миелодиспластический синдром устойчив к средствам стимуляции эритропоэза.

27. Способ по любому одному из пп.18-26, в котором указанный пациент зависит от трансфузии эритроцитов.

28. Способ по любому одному из пп.18-27, дополнительно включающий введение дополнительного терапевтического средства, которое выбирают из иммуномодулятора, средства против IL-6, средства против TNF- α , гипометилирующего средства и модификатора биологического ответа (BRM).

29. Способ по п.28, в котором указанное средство против TNF- α выбирают из инфликсимаба и этанерцепта.

30. Способ по п.28, в котором указанное гипометилирующее средство представляет собой ингибитор ДНК-метилтрансферазы.

31. Способ по п.30, в котором указанный ингибитор ДНК-метилтрансферазы выбирают из 5-азациитидина и децитабина.

32. Способ по п.28, в котором указанный иммуномодулятор выбирают из талидомида, леналидомида, помалидомида, CC-11006 и CC-10015.

33. Способ по любому одному из пп.18-27, дополнительно включающий введение дополнительного терапевтического средства, которое выбирают из антилимфоцитарного глобулина, рекомбинантного чело-

вещеского гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), гранулоцитарно-моноцитарного колониестимулирующего фактора (GM-CSF), средства стимулирования эритропоэза (ESA) и цикло-спорина.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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