

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **041895**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.12.13

(21) Номер заявки
201990330

(22) Дата подачи заявки
2015.02.04

(51) Int. Cl. **C07D 471/04** (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)
A61P 37/08 (2006.01)

(54) НОВЫЕ СОЛИ И ИХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

(31) **1402071.3**

(32) **2014.02.07**

(33) **GB**

(43) **2020.01.31**

(62) **201691584; 2015.02.04**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ГАЛАПАГОС НВ (BE)

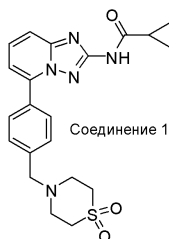
(56) EA-A1-201170257
EA-A1-201270075

S. M. Berge et al.: "Pharmaceutical Salts"
Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 66, № 1,
1977, 1-19

(72) Изобретатель:
**Сабуро Николя Люк (FR), Де Фавери
Карла (IT), Шейх Ахмад (US)**

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

(57) Изобретение раскрывает соли соединения 1



полезные в профилактике и/или лечении воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденных дефектов хряща и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов.

B1**041895****041895****B1**

Область, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к соли и кристаллическим формам соединения в соответствии с формулой I, полезным в профилактике и/или лечении воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденных дефектов хряща и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов. В частности, соль по настоящему изобретению ингибирует JAK-киназу, семейство тирозинкиназ и более конкретно JAK1-киназу. Настоящее изобретение также обеспечивает фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению и способы для профилактики и/или лечения заболеваний, включая воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания, пролиферативные заболевания, аллергию, отторжение трансплантата, заболевания, связанные с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденные дефекты хряща и/или заболевания, связанные с гиперсекрецией IL6 или интерферонов, путем введения соли по настоящему изобретению в соответствии с формулой I.

Предпосылки создания изобретения

Современные методы терапии для лечения воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, сопровождающихся нарушением обновления хряща, врожденных дефектов хряща и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов, в частности ревматоидного артрита, являются далеко не удовлетворительными, и остается необходимость выявления новых терапевтических средств, которые могут использоваться в их лечении. Эти состояния представляют собой хронические заболевания, которые требуют длительного лечения и повторного приема лекарственного средства. Долгосрочное лечение может быть тяжелым бременем для пациента и врача, так как у пациента может существовать или появиться непереносимость лекарственного средства, и, кроме того, высокие дозы или частота приема лекарства могут вызвать неприятные побочные эффекты и/или низкую комплаентность пациента, когда пациент может периодически, преднамеренно или случайно, пропускать дозу. Последствия несоблюдения приводят к различным хроническим заболеваниям и колеблются от минимальных до весьма существенных (Ingersoll & Cohen, 2008). Следовательно, существует необходимость в идентификации новых средств для усиления арсенала практикующего специалиста и соединений с низкой частотой режима введения для улучшения жизни пациентов.

Янус-киназы (JAKs) представляют собой цитоплазматические тирозинкиназы, которые осуществляют трансдукцию сигналов цитокинов от мембранных рецепторов к факторам транскрипции STAT. Описаны четыре члена семейства JAK-киназ: JAK1-киназа, JAK2-киназа, JAK3-киназа и TYK2. При связывании цитокина с его рецептором члены семейства JAK-киназ ауто- и/или трансфосфорилируют друг друга с последующим фосфорилированием STATs, которые затем мигрируют в ядро для модуляции транскрипции. Внутриклеточная сигнальная трансдукция JAK-STAT-киназ служит для интерферонов, большинства интерлейкинов, а также ряда цитокинов и эндокринных факторов, таких как EPO, TPO, GH, OSM, LIF, CNTF, GM-CSF и PRL (Vainchenker, Dusa, & Constantinescu, 2008).

Исследование комбинаций генетических моделей и небольших молекул ингибиторов JAK открыло терапевтический потенциал некоторых JAK-киназ.

JAK1-киназа представляет собой мишень в иммуновоспалительных заболеваниях. JAK1-киназа гетеродимеризуется с другими JAK-киназами для трансдукции цитокин-зависимых провоспалительных сигналов. Таким образом, ингибирование JAK1-киназы представляет интерес для иммуновоспалительных заболеваний с патология-ассоциированными цитокинами, которые используют передачу сигналов JAK1, такими как IL-2, IL-6, IL-4, IL-5, IL-13 или IFN гамма, а также для других заболеваний, обусловленных JAK-опосредованной сигнальной трансдукцией.

Что касается ролей членов семейства JAK-киназ, существует определенное совпадение, так как большинство сигнальных путей включают более чем одну JAK-киназу, однако для некоторых факторов роста, таких как эритропоэтин и тромбопоэтин, вовлечена только JAK2-киназа.

JAK3 играет важную роль в блокировании иммунной функции посредством передачи сигналов, генерируемых интерлейкином (IL)-2.

С другой стороны, TYK2-киназа, вероятно, могла бы работать в комбинации с JAK2-киназой для трансдукции сигналов цитокинов, таких как IL-12 и IL-23.

Роль JAK ферментов была исследована главным образом с использованием мышей, где каждый из членов семейства JAK-киназ был исключен. Мыши с JAK1-нокаутом демонстрируют перинатальный летальный фенотип и также имеют дефект развития и функции лимфоидной ткани вследствие нарушения передачи сигналов цитокинами через JAK1-киназу. Дефицит JAK2-киназы приводит к эмбриональной летальности на 12 сутки в результате отсутствия дефинитивного эритропоэза. JAK3-дефицитные мыши имеют фенотип тяжелого комбинированного иммунодефицита (SCID), но не имеют не-иммунных дефектов (Verstovsek, 2009).

Как наблюдали с ингибиторами rap-JAK, неселективное ингибирование может быть связано с побочными эффектами, такими как анемия, повышенная частота инфекций, снижение уровня нейтрофилов и лимфоцитов, снижение гемоглобина и повышение уровня холестерина (Dolgin, 2011).

Таким образом, разработка селективного ингибитора JAK-киназы могла бы быть полезной для того, чтобы минимизировать такие побочные эффекты.

Дегенерация хряща является признаком различных заболеваний, среди которых ревматоидный артрит и остеоартрит являются наиболее известными. Ревматоидный артрит (РА) представляет собой хроническое дегенеративное заболевание суставов, характеризующееся воспалением и деструкцией структуры суставов. В том случае, когда заболевание не диагностировано, оно приводит к существенной недееспособности и боли вследствие потери функциональности суставов и даже к преждевременной смерти. Цель терапии ревматоидного артрита, следовательно, заключается не только в том, чтобы замедлить развитие заболевания, но также и в том, чтобы добиться ремиссии, чтобы остановить деструкцию суставов и улучшить качество жизни. Кроме тяжести исхода заболевания высокий уровень распространения ревматоидного артрита ($\sim 0,8\%$ взрослых во всем мире страдают от этого заболевания) означает серьезные социально-экономические последствия. (Smolen & Steiner, 2003) (O'Dell, 2004). JAK1-киназа участвует во внутриклеточной сигнальной трансдукции для многих цитокинов и гормонов. Патологии, связанные с любыми из этих цитокинов и гормонов, можно облегчить при помощи ингибиторов JAK1-киназы. Следовательно, некоторые аллергические, воспалительные и аутоиммунные расстройства можно более эффективно лечить соединениями, описанными в данном изобретении, включая ревматоидный артрит, системную эритематозную волчанку, ювенильный идиопатический артрит, остеоартрит, астму, хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ), фиброз тканей, эозинофильное воспаление, воспаление пищевода, воспалительные заболевания кишечника (например, болезнь Крона, неспецифический язвенный колит), трансплантацию, реакцию "трансплантат против хозяина", псориаз, миозит, псориатический артрит, анкилозирующий спондилит, ювенильный идиопатический артрит и рассеянный склероз. (Kopf, Bachmann, & Marsland, 2010)

Псориаз представляет собой заболевание, которое может поражать кожу. Причины псориаза полностью не изучены, но считается, что он представляет собой иммунно-опосредованное заболевание, связанное с высвобождением цитокинов, в частности TNF α , которое вызывает воспаление и быструю репродукцию клеток кожи. Эта гипотеза подтверждается наблюдением, что лечение иммуносупрессантами может очистить псориазные бляшки (Zenz, et al., 2005). Псориаз также может вызвать воспаление суставов, которое известно как псориатический артрит. От 10 до 30% всех людей, больных псориазом, также подвержены псориатическому артриту ((CHMP), 18 November 2004). По причине его хронического рецидивирующего характера псориаз является проблемой для лечения болезнью. Недавно было продемонстрировано, что ингибирование JAK-киназы может привести к успешному улучшению псориатического состояния (Punwani, et al., 2012).

Воспалительное заболевание кишечника (IBD) представляет собой группу воспалительных заболеваний толстой и тонкой кишки. Основные типы IBD представляют собой болезнь Крона и неспецифический язвенный колит. Недавно при помощи общегеномного исследования ассоциаций (GWAS) было обнаружено, что Т-клеточная протеинтирозинфосфатаза (TCPTP) представляет собой JAK/STAT, и рецептор фактора роста фосфатазы, который связан с патогенезом диабета 1 типа, ревматоидным артритом и болезнью Крона посредством GWAS (Zikherman & Weiss, 2011). Таким образом, ингибирование пути JAK-киназы может обеспечить способ лечения IBD.

Члены семейства JAK-киназ вовлечены в другие состояния, включающие миелопролиферативные расстройства (O'Sullivan, Liongue, Lewis, Stephenson, & Ward, 2007), где были идентифицированы мутации JAK2-киназ. Это указывает на то, что ингибиторы JAK-киназ, в частности JAK2-киназы, также могут быть использованы в лечении миелопролиферативных расстройств. Кроме того, семейство JAK-киназ, в частности JAK1-киназа, JAK2-киназа и JAK3-киназа, связаны с раковыми заболеваниями, в частности с лейкозами, (например, острый миелоцитарный лейкоз (O'Sullivan, Liongue, Lewis, Stephenson, & Ward, 2007) (Xiang, et al., 2008) и острый лимфобластный лейкоз (Mullighan, 2009)), кожной Т-клеточной лимфомой (Zhang, 1996) или солидными опухолями например, лейомиосаркомой матки (Constantinescu, Girardot, & Pecquet, 2007), раком предстательной железы (Tam, McGlynn, Traynor, Mukherjee, Bartlett, & Edwards, 2007) и раком молочной железы (Berishaj, et al., 2007). Эти результаты указывают, что ингибиторы JAK-киназы, в частности JAK1-киназы, также могут быть полезны в лечении раковых заболеваний (лейкозов и солидных опухолей, например, лейомиосаркомы матки, рака предстательной железы, рака поджелудочной железы).

Кроме того, болезнь Кастлемана, множественная миелома, мезангиальный пролиферативный гломерулонефрит, псориаз и саркома Капоши, вероятно, возникают вследствие гиперсекреции цитокина IL-6, биологические эффекты которого обусловлены внутриклеточной передачей сигналов JAK-STAT (Naka, Nishimoto, & Kishimoto, 2002). Этот результат показывает, что ингибитор JAK также может найти применение в лечении вышеупомянутых заболеваний.

Таким образом, соединения, которые являются сильными ингибиторами JAK-киназы, могут представлять потенциал для лечения широкого ряда заболеваний и состояний, описанных выше.

Соединение {5-[4-(1,1-диоксотиморфолин-4-илметил)фенил]-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиридин-2-ил}амид циклопропанкарбоновой кислоты (соединение 1), которое имеет химическую структуру:



Раскрыто в более ранней заявке авторов настоящего изобретения WO 2010/149769 (Menet С. J., 2010) в качестве ингибитора JAK-киназы и как полезное в лечении воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, сопровождающихся нарушением обновления хряща, врожденных дефектов хряща и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов. Здесь и далее в настоящей заявке это соединение названо как соединение 1. Данные, представленные в заявке WO 2010/149769, демонстрируют, что несмотря на аналогичные активности *in vitro*, соединение 1 обладает неожиданно высокой активностью *in vivo* по сравнению с аналогичными по структуре соединениями.

Важной характеристикой различных биологически активных веществ (например, но без ограничения, фармацевтических препаратов, лекарственных препаратов и биоцидов, обычно называемых лекарственными средствами) является их "биологическая доступность" или активная концентрация в форме, которая может абсорбироваться и использоваться целевым органом или организмом. Во многих случаях, биодоступность связана с растворимостью в воде лекарственного средства.

Для возможности его применения в качестве терапевтического средства, лекарственное средство должно быть растворимым в подходящем диапазоне концентраций в течение требуемого периода времени. Для достижения этих свойств доступны различные варианты, включая формулирование лекарственного средства в виде таблеток, капсул, растворов или других подобных форм. Особый интерес представляют лекарственные средства "с равномерным высвобождением", в которых скорость высвобождения лекарственного средства является постоянной величиной. Однако разработка таких систем может быть сложной и дорогой.

Часто лекарственные средства в форме их свободного основания плохо растворимы в воде, но для получения солей лекарственного средства можно преимущественно использовать присутствие кислотных центров (например, карбоновых кислот, фенолов, сульфоновых кислот) или основных центров (например, аминогрупп, основных азотных центров). Полученные ионные соединения становятся намного лучше растворимыми в воде в силу их ионного характера и понижается энергия растворения и, таким образом, улучшается биодоступность. Стандарт 50 мкг/мл для растворимости в воде представлен Lipinsky et al. (Lipinski, Lombardo, Dominy, & Feeney, 2001).

Солеобразующие агенты доступны в большом количестве, и выбор соли должен быть точно рассчитан. Целью выбора соли является выявление наилучшей формы соли, подходящей для разработки, и в основном он базируется на четырех основных критериях: растворимость в воде при различных уровнях pH, высокая степень кристалличности, низкая гигроскопичность и оптимальная химическая стабильность (Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, Stahl, P.H. and Wermuth, C.G. Eds. Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002).

Если подходящую соль лекарственного средства можно идентифицировать, то необходимы дальнейшие исследования, чтобы определить, существуют ли альтернативные кристаллические формы. Наличие таких альтернативных форм весьма непредсказуемо и может потребовать сочетания интуиции, тщательных эмпирических расчетов, упорства и интуитивной прозорливости. Наряду с задачами, связанными с обнаружением хотя бы одной или нескольких определенных кристаллических форм, свойства любых кристаллических форм, обнаруженных таким образом, должны быть тщательно оценены, чтобы понять, являются или нет одна или несколько из них на самом деле подходящими для фармацевтической разработки. Действительно, в первом аспекте, кристалличность лекарственных средств влияет, среди прочего, на физические и механические свойства, растворимость, скорость растворения, сыпучесть, твердость, сжимаемость и температуру плавления. Во втором аспекте, кристаллическая форма может иметь преимущества по сравнению с аморфной формой, например, очистка до более высокой степени чистоты, требуемая большинством регулирующих органов, является более эффективной и, следовательно, дешевле для кристаллической формы, чем для аморфных твердых веществ. Кроме того, технологические свойства кристаллической формы улучшены по сравнению с аморфной формой, которая имеет тенденцию быть жирной или липкой, и на практике сушку кристаллического вещества, которое имеет вполне определенную температуру сушки или десольватации, легче контролировать, чем для аморфного твердого вещества, которое имеет большее сродство к органическим растворителям. Наконец, последующая переработка кристаллического лекарственного средства позволяет улучшить контроль процесса. В третьем аспекте, физическая и химическая стабильность и, следовательно, срок хранения, также улучшены для кристаллических форм по сравнению с аморфными формами.

Наконец, фармакокинетические и фармакодинамические свойства лекарственного средства могут быть связаны с определенной кристаллической структурной формой, и это имеет первостепенное значение.

ние для получения и сохранения такой же формы от ее получения до введения пациенту. Поэтому получение солей и/или кристаллических форм является весьма желательным по сравнению с аморфными веществами (Hilfiker, Blatter, & von Raumer, 2006).

Таким образом, целью данного изобретения является раскрытие форм соли и полиморфов солей по настоящему изобретению, которые обладают желаемыми фармакологическими свойствами и которые показывают улучшения их фармацевтического профиля по сравнению с формой свободного основания и/или аморфной формой соли по настоящему изобретению, в частности, улучшения воздействия *in vivo*.

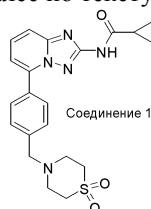
Описание чертежей

- Фиг. 1 показывает образец 1 порошковой рентгеновской дифрактограммы соединения 1;
 фиг. 2 показывает образец 3 порошковой рентгеновской дифрактограммы соединения 1;
 фиг. 3 показывает образец 4 порошковой рентгеновской дифрактограммы соединения 1;
 фиг. 4 показывает порошковую рентгеновскую дифрактограмму соединения 1.HCl;
 фиг. 5 показывает порошковую рентгеновскую дифрактограмму соединения 1.HCl.3H₂O;
 фиг. 6 показывает результаты анализа ДВС соединения 1.HCl.3H₂O.
 фиг. 7 показывает результаты ДСК (дифференциальная сканирующая калориметрия) анализа соединения 1.HCl.3H₂O;
 фиг. 8 показывает порошковую рентгеновскую дифрактограмму соединения 1.HCl.MeOH;
 фиг. 9 показывает порошковую рентгеновскую дифрактограмму соединения 1.HCl.1,5HCO₂H;
 фиг. 10 показывает воздействие соединения 1 либо в виде свободного основания, либо в виде соли HCl.3H₂O при ежедневном пероральном введении;
 фиг. 11 показывает кристаллическую структуру соединения 1.HCl.3H₂O.

Краткое изложение сущности изобретения

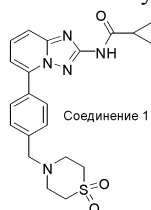
Настоящее изобретение основано на идентификации новых солей и кристаллических форм соединения 1, полезных в лечении и/или профилактике воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденных дефектов хряща, и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов. В частности, соли по настоящему изобретению могут действовать в качестве ингибиторов JAK-киназы и, более конкретно, JAK1-киназы. Настоящее изобретение также обеспечивает способы для получения этих солей, фармацевтические композиции, включающие эти соли, и способы для лечения и/или профилактики воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденных дефектов хряща и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов, путем введения солей по настоящему изобретению.

Следовательно, в одном аспекте настоящее изобретение обеспечивает соль соединения в соответствии с формулой (I), представленной ниже, (далее по тексту также указана как соединение 1)



где указанная соль образована с бромистоводородной кислотой, хлористоводородной кислотой, серной кислотой, толуолсульфоновой кислотой, бензолсульфоновой кислотой, щавелевой кислотой, малеиновой кислотой, нафталин-2-сульфоновой кислотой, нафталин-1,5-дисульфоновой кислотой, 1-2-этандисульфоновой кислотой, метансульфоновой кислотой, 2-гидроксиэтансульфоновой кислотой, фосфорной кислотой, этансульфоновой кислотой, малоновой кислотой, 2-5-дигидроксибензойной кислотой или L-Винной кислотой.

Следовательно, в одном аспекте настоящее изобретение обеспечивает соль соединения в соответствии с формулой (I), представленной ниже, (далее по тексту также указана как соединение 1)



где указанная соль образована с хлористоводородной кислотой.

В другом аспекте настоящего изобретения соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1.HCl.3H₂O] в твердой кристаллической форме, где кристаллическая форма характеризуется, по меньшей мере, дифракционным пиком порошковой рентгенограммы в

любом одном или нескольких из следующих положений: 7,3, 8,4, 8,8, 10,7, 12,0, 12,2, 13,2, 13,7, 14,5, 16,3, 16,7, 17,6, 19,3, 20,2, 20,6, 21,0, 21,4, 21,8, 22,8, 23,4, 23,9, 24,5, 25,2, 25,7, 25,9, 26,4, 27,2, 27,7, 28,3, 28,6, 28,9, 29,2, 29,6, 7 и $32,7^{\circ} \pm 0,2^{\circ} 20$.

В конкретном аспекте настоящего изобретения, соль по настоящему изобретению демонстрирует улучшенную растворимость и воздействие по сравнению со свободным основанием, что может привести к повышению эффективности и снижению дозировки вводимого лекарственного средства. В свою очередь, снижение уровня дозы лекарственного средства потенциально может понизить токсичность, которая может возникнуть вследствие взаимодействия лекарственное средство-лекарственное средство.

В конкретном аспекте, обеспечиваются соли по настоящему изобретению для применения в профилактике и/или лечении воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденных дефектов хряща, и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов.

В дополнительном аспекте, настоящее изобретение обеспечивает фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению и фармацевтический носитель, эксципиент или разбавитель. В конкретном аспекте, фармацевтическая композиция может дополнительно включать также терапевтически активные ингредиенты, подходящие для использования в комбинации с солями по настоящему изобретению. В более конкретном аспекте, дополнительный терапевтически активный ингредиент представляет собой средство для лечения воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденных дефектов хряща, и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов.

Более того, соли по настоящему изобретению, полезные в фармацевтических композициях и способах лечения, раскрытых в настоящей заявке, являются фармацевтически приемлемыми как при получении, так и при применении.

В следующем аспекте настоящего изобретения, данное изобретение обеспечивает способ лечения млекопитающего, в частности человека, страдающего состоянием, выбранным из числа указанных в настоящей заявке, и, в частности, из воспалительных состояний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденных дефектов хряща и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов, где способ включает введение эффективного количества фармацевтической композиции или солей по настоящему изобретению, описанных в настоящей заявке.

Настоящее изобретение также обеспечивает фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению и подходящий фармацевтический носитель, эксципиент или разбавитель для использования в области медицины. В конкретном аспекте, фармацевтическая композиция предназначена для применения в профилактике и/или лечении воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденных дефектов хряща, и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов.

В дополнительных аспектах, данное изобретение обеспечивает способы синтеза солей по настоящему изобретению, с репрезентативными протоколами и путями синтеза, раскрытыми далее в настоящей заявке.

Другие объекты и преимущества станут очевидны специалистам в данной области из рассмотрения последующего подробного описания.

Следует понимать, что соли по настоящему изобретению могут метаболизироваться с образованием биологически активных метаболитов.

Подробное описание настоящего изобретения

Определения

Следующие термины, как подразумевают, имеют значения, представленные непосредственно ниже, и являются полезными для понимания описания и предполагаемого объема настоящего изобретения.

При описании изобретения, которое может включать соединения, фармацевтические композиции, содержащие такие соединения, и способы применения таких соединений и композиций, следующие термины, если присутствуют, имеют следующие значения, если не указано иное. Также следует понимать, что описанные в этом документе любые группы, определенные далее ниже, могут быть замещены различными заместителями, и что соответствующие определения предназначены для включения таких замещенных групп в пределах их объема, который изложен ниже. Если не установлено иное, термин "замещенный" должен быть определен так, как изложено ниже. Следует также понимать, что термины "группы" и "радикалы" могут считаться взаимозаменяемыми при использовании в этом документе.

Артикли 'a' и 'an' могут быть использованы в настоящей заявке в отношении одного или более чем одного (то есть, по меньшей мере одного) из грамматических объектов элемента. В качестве примера, 'аналог' означает один аналог или более чем один аналог.

'Соль(соли) по настоящему изобретению' и эквивалентные выражения, охватывают соли соедине-

ния в соответствии с формулой (I) (соединение 1), описанного в настоящей заявке, при этом данное выражение включает фармацевтически приемлемые соли и сольваты, например, гидраты и сольваты фармацевтически приемлемых солей, где это позволяет контекст.

"Фармацевтически приемлемый" означает разрешенный или одобренный регуляторным органом правительства страны или штата или соответствующим органом стран, отличных от Соединенных Штатов, или то, что перечислено в Фармакопее США или в других общепризнанных фармакопеях для применения для животных и, более конкретно, для человека.

"Фармацевтически приемлемый носитель" относится к разбавителю, адъюванту, эксципиенту или носителю, с которым вводят соль по настоящему изобретению.

"Сольват" относится к формам соединения, которые находятся в ассоциации с растворителем, обычно путем реакции сольволиза. Это физическое взаимодействие включает образование водородной связи. Обычные растворители включают воду, этанол, уксусную кислоту и подобные. Соли по настоящему изобретению могут быть получены, например, в кристаллической форме и могут быть сольватированы или гидратированы. Подходящие сольваты включают фармацевтически приемлемые сольваты, такие как гидраты, и помимо этого включают как стехиометрические сольваты, так и нестехиометрические сольваты. В некоторых случаях сольват может быть выделен, например, когда одна или несколько молекул растворителя встроены в кристаллическую решетку кристаллического твердого вещества. "Сольват" охватывает как находящиеся в фазе раствора, так и выделяемые сольваты. Репрезентативные сольваты включают гидраты, этанолаты и метанолаты.

"Субъект" включает людей. Термины "человек", "пациент" и "субъект" используются в настоящей заявке взаимозаменяемо.

"Эффективное количество" означает количество соли по настоящему изобретению, которое при введении субъекту для лечения заболевания является достаточным для осуществления такого лечения заболевания. "Эффективное количество" может варьироваться в зависимости от соединения, заболевания и его тяжести и возраста, массы тела и т.п. требующего лечения субъекта.

"Предотвращение" или "предотвращать" относится к снижению риска приобретения или развития заболевания или расстройства (то есть способствуя тому, чтобы по меньшей мере один из клинических симптомов заболевания не развивался у субъекта, который мог быть подвергаться воздействию вызывающего заболевание агента или мог быть предрасположен к данному заболеванию, заранее до начала развития заболевания).

Термин "профилактика" относится к "предотвращению" и относится к предпринимаемым мерам или к процедуре, целью которых является предупреждение, а не лечение или вылечивание заболевания. Неограничивающие примеры профилактических мер могут включать введение вакцин; введение низкомолекулярного гепарина госпитализированным пациентам с риском тромбоза вследствие, например, иммобилизации; и введение противомаларийного средства, такого как хлорохин, накануне визита в географическую зону, где малярия является эндемической, или где риск заражения малярией является высоким.

"Лечить" или "лечение" любого заболевания или расстройства относится в одном варианте осуществления к уменьшению интенсивности симптомов заболевания или расстройства (то есть к купированию заболевания или к снижению степени проявления или тяжести по меньшей мере одного из его клинических симптомов). В другом варианте осуществления "лечить" или "лечение" относится к улучшению по меньшей мере одного физического параметра, который не может быть явным (заметным) для субъекта. В еще одном варианте осуществления "лечить" и "лечение" относится к модулированию заболевания или расстройства либо физически (например, стабилизация явного симптома), физиологически, (например, стабилизация физического параметра), либо и тем и другим образом. Еще в одном варианте осуществления "лечить" и "лечение" относится к замедлению прогрессирования заболевания.

В контексте настоящей заявки термин "воспалительные заболевания" относится к группе состояний, включающих ревматоидный артрит, остеоартрит, ювенильный идиопатический артрит, псориаз, псориатический артрит, аллергию дыхательных путей (например, астма, ринит), хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ), воспалительные заболевания кишечника (например, болезнь Крона, болезнь Уиппла, хронический язвенный колит или колит), обусловленные действием эндотоксина болезненные состояния (например, осложнения после шунтирования или хронические обусловленные действием эндотоксина состояния, способствующие возникновению хронической сердечной недостаточности) и сопутствующие заболевания, вовлекающие в патологический процесс хрящ, такие как заболевания суставов. В особенности термин относится к ревматоидному артриту, остеоартриту, аллергическому заболеванию дыхательных путей (например, астме), хроническому обструктивному заболеванию легких (ХОЗЛ) и воспалительным заболеваниям кишечника. Более конкретно, термин относится к ревматоидному артриту и воспалительным заболеваниям кишечника (например, болезни Крона, болезни Уиппла, хроническому язвенному колиту или колиту).

В контексте настоящей заявки термин "аутоиммунное заболевание(заболевания)" относится к группе заболеваний, включающих обструктивное заболевание дыхательных путей, в том числе такие заболевания, как ХОЗЛ, астма (например, наследственная (эндогенная) бронхиальная астма, приобретенная (экзогенная) бронхиальная астма, пылевая астма, детская астма), в особенности хроническая или заста-

релая астма (например, поздняя астма и гиперчувствительность дыхательных путей), бронхит, в том числе бронхиальная астма, системная эритематозная волчанка (SLE), кожная красная волчанка, волчаночный нефрит, дерматомиозит, синдром Шегрена, рассеянный склероз, псориаз, синдром сухого глаза, сахарный диабет типа I и связанные с ним осложнения, атопическая экзема (атопический дерматит), тиреоидит (тиреоидит Хашимото и аутоиммунный тиреоидит), контактный дерматит и дополнительные экзематозные дерматиты, воспалительное заболевание кишечника (например, болезнь Крона, болезнь Уиппла, хронический язвенный колит или колит), атеросклероз и амиотрофический латеральный склероз. Особенно термин относится к ХОЗЛ (хроническая обструктивное заболевание легких), астме, системной эритематозной волчанке, сахарному диабету типа I и воспалительному заболеванию кишечника.

В контексте настоящей заявки, термин "пролиферативное(ые) заболевание(заболевания)" относится к состояниям, таким как раковое заболевание (например, лейомиосаркома матки или рак предстательной железы), миелолиферативные расстройства (например, истинная полицитемия, эссенциальная тромбоцитемия и миелофиброз), лейкоз (например, острый миелоцитарный лейкоз, острый и хронический лимфобластный лейкоз), множественная миелома, псориаз, ретенноз, склеродермит или фиброз. В частности, термин относится к раку, лейкозу, множественной миеломе и псориазу.

В контексте настоящей заявки, термин "раковое заболевание" относится к злокачественному или доброкачественному росту клеток на коже или в органах тела, например, и без ограничения, в молочной (грудной) железе, предстательной железе, легком, почке, поджелудочной железе, желудке или кишечнике. Раковое заболевание имеет тенденцию инфильтрировать в смежную ткань и распространяться (метастазировать) в отдаленных органах, например, в кости, печени, легком или головном мозге. Используемый в этом документе термин "раковое заболевание" включает как типы клеток метастатической опухоли (такие как, но не ограничиваясь этим, меланома, лимфома, лейкоз, фибросаркома, рабдомиосаркома и мастоцитомы) и типы карциномы тканей (такие как, но не ограничиваясь этим, рак ободочной и прямой кишки, рак предстательной железы, мелкоклеточный рак легкого и немелкоклеточный рак легкого, рак молочной железы, рак поджелудочной железы, рак мочевого пузыря, рак почек, рак желудка, глиобластома, первичный рак печени, рак яичников, рак предстательной железы и лейомиосаркома матки). В частности, термин "рак" включает острый лимфобластный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, аденокарциному, рак анального канала, рак червеобразного отростка, астроцитомы, атипичную тератоидную/рабдоидную опухоль, базально-клеточный рак, рак желчного протока, рак мочевого пузыря, рак кости (остеосаркома и злокачественная фиброзная гистиоцитома), глиому ствола головного мозга, опухоли головного мозга, опухоли головного мозга и спинного мозга, рак молочной железы, бронхиальные опухоли, лимфомы Беркитта, рак шейки матки, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелобластный лейкоз, рак толстой кишки, рак ободочной и прямой кишки, краниофарингиому, кожную Т-клеточную лимфому, эмбриональные опухоли, рак эндометрия, эпендимобластома, эпендимому, рак пищевода, опухоли семейства саркомы Юинга, рак глаз, ретинобластома, рак желчного пузыря, желудочный рак (рак желудка), плоскоклеточную карциному желудочно-кишечного тракта, гастроинтестинальную стромальную опухоль (GIST), гастроинтестинальную стромальную клеточную опухоль, эмбрионально-клеточную опухоль, глиому, волосистоклеточный лейкоз, рак головы и шеи, гепатоцеллюлярный рак (рак печени), гипофарингеальный рак, внутриглазную меланому, опухоль островков поджелудочной железы (эндокринная ткань поджелудочной железы), саркому Капоши, рак почек, ганглиоклеточный гистиоцитоз, рак гортани, лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, острый миелоидный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз, хронический миелобластный лейкоз, волосистоклеточный лейкоз, рак печени, немелкоклеточный рак легкого, мелкоклеточный рак легкого, лимфому Беркитта, кожную Т-клеточную лимфому, лимфому Ходжкина, неходжкинскую лимфому, лимфому, макроглобулинемию Вальденстрема, медуллобластома, медуллоэпителиому, меланому, мезотелиому, рак рта, хронический миелобластный лейкоз, миелоидный лейкоз, множественную миелому, рак носоглотки, нейробластома, немелкоклеточный рак легкого, рак полости рта, рак ротоглотки, остеосаркому, злокачественную фиброзную гистиоцитому кости, рак яичников, эпителиальный рак яичников, герминогенные опухоли яичников, опухоль яичников с низким потенциалом злокачественности, рак поджелудочной железы, папилломатоз, рак паращитовидной железы, рак полового члена, рак глотки, опухоль паренхимы шишковидной железы промежуточной дифференцировки, пинеобластома и супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли, опухоль гипофиза, новообразования плазматических клеток/множественную миелому, плевропульмональную бластома, первичную лимфому центральной нервной системы, рак предстательной железы, ректальный рак, почечно-клеточный рак (рак почки), ретинобластома, рабдомиосаркому, рак слюнных желез, саркому, опухоли семейства саркомы Юинга, саркому, синдром Сезари, рак кожи, мелкоклеточный рак легкого, рак тонкого кишечника, саркому мягких тканей, плоскоклеточную карциному, рак желудка (желудочно-кишечного тракта), супратенториальные примитивные нейроэктодермальные опухоли, Т-клеточную лимфому, рак яичек, рак горла, тимому и рак тимуса, рак щитовидной железы, рак уретры, рак матки, саркому матки, рак влагалища, рак вульвы, макроглобулинемию Вальденстрема и опухоль Вильмса. Более конкретно, раковое заболевание выбрано из рака молочной железы, рака эндометрия и рака шейки матки, рака легких, рака яичников, рака предстательной железы, рака печени и рака поджелудочной железы.

В контексте настоящей заявки, термин "лейкоз" относится к неопластическим заболеваниям крови и кроветворных органов. Такие заболевания могут вызывать дисфункцию костного мозга и иммунной системы, что делает организм "хозяина" высокочувствительным к инфекции и кровотечению. В частности, термин лейкоз относится к острому миелоцитарному лейкозу (AML) и острому лимфобластному лейкозу (ALL) и хроническому лимфобластному лейкозу (CLL).

В контексте настоящей заявки термин "аллергии" относится к группе состояний, характеризующихся сверхчувствительностью иммунной системы, включающих аллергию дыхательных путей (например, астму, ринит), синусит, экзему и крапивницу, а также пищевые аллергии или аллергии на яд насекомых.

В контексте настоящей заявки, термин "астма" относится к любому расстройству легких, характеризующемуся изменениями потока газа в легких, связанному с сужением дыхательных путей по какой-либо причине (внутренней, внешней или обеими; аллергической или не-аллергической). Термин астма может быть использован с одним или несколькими прилагательными для указания причины.

В контексте настоящей заявки, термин "отторжение трансплантата" относится к острому или хроническому отторжению алло- или ксенотрансплантатов клеток, тканей или цельных органов, например, панкреатического островка, стволовых клеток, костного мозга, кожи, мышцы, роговичной ткани, нервной ткани, сердца, легких, объединенного аппарата сердце-легкие, почки, печени, кишечника, поджелудочной железы, трахеи или пищевода, или к заболеваниям "трансплантат против хозяина".

В контексте настоящей заявки термин "заболевания, связанные с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани" включает состояния, такие как остеоартрит, псориатический артрит, ювенильный ревматоидный артрит, подагрический артрит, септический или инфекционный артрит, реактивный артрит, рефлекторная симпатическая дистрофия, альгодистрофия, ахондроплазия, болезнь Педжета, синдромом Титце или реберный хондрит, фибромиалгия, остеохондрит, нейрогенный или нейропатический артрит, артропатия, саркоидоз, амилоз, гидрартроз, периодическая болезнь, ревматоидный спондилит, эндемичные формы артрита, такие как эндемический деформирующий остеоартрит, болезнь суставов Мселени и болезнь Хандигоду; дегенерация в результате фибромиалгии, системная эритематозная волчанка, склеродермит и анкилозирующий спондилит.

В контексте настоящей заявки термин "врожденная(ые) мальформация(мальформации) хряща" включает состояния, такие как наследственный хондроллиз, хондродисплазии и псевдохондродисплазии, в частности, но без ограничения, микроглия, аномия, метафизарная хондродисплазия и сопутствующие расстройства.

В контексте настоящей заявки термин "заболевание(заболевания), связанное с гиперсекрецией IL6" включает состояния, такие как болезнь Кастлемана, множественная миелома, псориаз, саркома Капоши и/или мезангиальный пролиферативный гломерулонефрит.

В контексте настоящей заявки термин "заболевание(заболевания), связанное с гиперсекрецией интерферонов" включает состояния, такие как системная и кожная красная волчанка, волчаночный нефрит, дерматомиозит, синдром Шегрена, псориаз, ревматоидный артрит.

Когда в настоящей заявке указаны диапазоны, например, но без ограничения, C₁₋₈алкил, то указание диапазона следует рассматривать как представление каждого члена указанного диапазона.

В контексте настоящей заявки, термин "изотопный вариант" относится к соединению, которое содержит неестественные пропорции изотопов на одном или нескольких атомах, которые составляют такое соединение. Например, "изотопный вариант" соединения может содержать один или несколько нерадиоактивных изотопов, таких как например, дейтерий (²H или D), углерод-13 (¹³C), азот-15 (¹⁵N) или подобные. Должно быть понятно, что в соединении, в котором имеет место такое изотопное замещение, следующие атомы, если они присутствуют, могут варьироваться, таким образом, что например, любой водород может быть ²H/D, любой углерод может быть ¹³C или любой азот может быть ¹⁵N, и что присутствие и размещение таких атомов может быть определено квалифицированным специалистом в данной области. Подобным образом, настоящее изобретение может включать получение изотопных вариантов с радиоизотопами, в случае, например, где полученные соединения можно использовать для исследований распределения лекарственного средства и/или субстрата в тканях.

Радиоактивные изотопы тритий, то есть ³H, и углерод-14, то есть ¹⁴C, являются особенно полезными для этой цели ввиду простоты их включения и легкости обнаружения. Кроме того, можно получить соединения, которые замещены позитрон-испускающими изотопами, такими как ¹¹C, ¹⁸F, ¹⁵O и ¹³N, и они могли бы быть полезны в исследованиях методом позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) для изучения степени занятости рецептора субстратом.

Все изотопные варианты соединений, представленных в настоящей заявке, радиоактивных или нерадиоактивных, предназначены для включения в объем настоящего изобретения.

"Таутомеры" относятся к соединениям, которые имеют взаимозаменяемые формы конкретной структуры соединения, и которые различаются по смещению атомов водорода и электронов. Так, две структуры могут находиться в равновесии посредством движения π-электронов и атома (обычно H). Например, енолы и кетоны являются таутомерами, так как они быстро взаимопревращаются в результате обработки либо кислотой, либо основанием. Другой пример таутомерии представляет собой аци- и нитроформы фенилнитрометана, которые подобным образом образуются в результате обработки кислотой

или основанием.

Таутомерные формы могут быть подходящими для достижения оптимальной химической реакционной способности и биологической активности соединения, представляющего интерес.

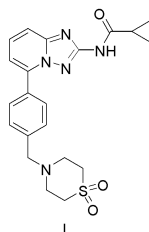
Следует понимать, что соли по настоящему изобретению могут метаболизироваться с образованием биологически активных метаболитов.

Изобретение

Настоящее изобретение относится к соли соединения {5-[4-(1,1-диоксотиоморфолин-4-илметил)-фенил]-[1,2,4]триазоло[1,5-a]пиридин-2-ил}амида циклопропанкарбоновой кислоты (соединение 1) и к способам для получения таких солей, которые являются полезными в профилактике и/или лечении воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденных дефектов хряща, и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов. В частности, соли по настоящему изобретению ингибируют JAK семейство тирозинкиназ, и более конкретно JAK1-киназу.

Настоящее изобретение также обеспечивает способы для профилактики и/или лечения заболеваний, включая воспалительные заболевания, аутоиммунные заболевания, пролиферативные заболевания, аллергию, отторжение трансплантата, заболевания, связанные с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденные дефекты хряща и/или заболевания, связанные с гиперсекрецией IL6 или интерферонов, путем введения соли по настоящему изобретению или фармацевтическую композицию, содержащую указанную соль.

Следовательно, в одном аспекте настоящее изобретение обеспечивает соль соединения в соответствии с формулой (I) (соединение 1) ниже:



где указанная соль образована с солеобразующим агентом, выбранным из бромистоводородной кислоты, хлористоводородной кислоты, серной кислоты, толуолсульфоновой кислоты, бензолсульфоновой кислоты, щавелевой кислоты, малеиновой кислоты, нафталин-2-сульфоновой кислоты, нафталин-1,5-дисульфоновой кислоты, 1-2-этандисульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты, 2-гидроксиэтансульфоновой кислоты, фосфорной кислоты, этансульфоновой кислоты, малоновой кислоты, 2-5-дигидроксibenзойной кислоты и L-винной кислоты.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой соль, образованную с солеобразующим агентом, выбранным из бромистоводородной кислоты и хлористоводородной кислоты, предпочтительно хлористоводородной кислоты.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой соль, образованную с солеобразующим агентом, выбранным из щавелевой кислоты, малеиновой кислоты или малоновой кислоты, предпочтительно малеиновой кислоты.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой соль, образованную с солеобразующим агентом, выбранным из толуолсульфоновой кислоты, бензолсульфоновой кислоты, нафталин-2-сульфоновой кислоты и этансульфоновой кислоты; предпочтительно, толуолсульфоновой кислоты и бензолсульфоновой кислоты, более предпочтительно толуолсульфоновой кислоты, и наиболее предпочтительно пара-толуолсульфоновой кислоты.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:солеобразующий агент] в соотношении от 3:1 до 1:3. В предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:солеобразующий агент] в соотношении 1:1. В более предпочтительном варианте осуществления солеобразующий агент выбран из бромистоводородной кислоты, хлористоводородной кислоты, толуолсульфоновой кислоты и малеиновой кислоты. В наиболее предпочтительном варианте осуществления солеобразующий агент представляет собой хлористоводородную кислоту.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой сольват. В предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой моно-, ди- или трисольват. В наиболее предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой трисольват. Альтернативно, соль по настоящему изобретению не является сольватом.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой гидрат. В более предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой моно-, ди- или тригидрат. В наиболее предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему

изобретению представляет собой тригидрат. Альтернативно, соль по настоящему изобретению представляет собой безводную соль.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:солеобразующий агент:растворитель]. В предпочтительном варианте осуществления, соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:солеобразующий агент:растворитель] в соотношении от 1:1:0 до 1:1:4. В более предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:солеобразующий агент:растворитель] в соотношении 1:1:0, 1:1:1, 1:1:1,5, 1:1:2 или 1:1:3. В наиболее предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:солеобразующий агент:растворитель] в соотношении 1:1:3.

В другом варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:растворитель]. В предпочтительном варианте осуществления, соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:растворитель] в соотношении от 1:1:0 до 1:1:4. В более предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:растворитель] в соотношении 1:1:0, 1:1:1, 1:1:1,5, 1:1:2 или 1:1:3. В наиболее предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:растворитель] в соотношении 1:1:3. В еще наиболее предпочтительном варианте осуществления растворитель выбран из H₂O, MeOH и HCO₂H.

В другом варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [Соединение 1:HCl:H₂O]. В предпочтительном варианте осуществления, соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:H₂O] в соотношении от 1:1:0 до 1:1:4. В более предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:H₂O] в соотношении 1:1:0, 1:1:1, 1:1:1,5, 1:1:2 или 1:1:3. В наиболее предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения 1:1:3 [соединение 1:HCl:H₂O].

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению демонстрирует пики на спектре порошковой рентгеновской дифракции.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представлена в кристаллической форме.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:H₂O] в соотношении 1:1:0 в твердой кристаллической форме, где кристаллическая форма отличается по меньшей мере дифракционным пиком порошковой рентгенограммы в любом одном или нескольких из следующих положений: 7,4, 8,9, 12,4, 14,8, 15,1, 16,9, 17,6, 19,4, 20,7, 21,1, 22,8, 24,9, 26,0, 28,6, 29,8 и 32,6° 2 θ ±0,2° 2 θ .

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:H₂O] в соотношении 1:1:0 в твердой кристаллической форме, где кристаллическая форма отличается по меньшей мере дифракционным пиком порошковой рентгенограммы по меньшей мере в 5, 10, 15 или более из следующих положений: 7,4, 8,9, 12,4, 14,8, 15,1, 16,9, 17,6, 19,4, 20,7, 21,1, 22,8, 24,9, 26,0, 28,6, 29,8 и 32,6° 2 θ ±0,2° 2 θ .

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:H₂O] в соотношении 1:1:0 в твердой кристаллической форме, где кристаллическая форма отличается по меньшей мере дифракционным пиком порошковой рентгенограммы во всех следующих значениях: 7,4, 8,9, 12,4, 14,8, 15,1, 16,9, 17,6, 19,4, 20,7, 21,1, 22,8, 24,9, 26,0, 28,6, 29,8 и 32,6° 2 θ ±0,2° 2 θ . В особом варианте осуществления соль по настоящему изобретению отличается порошковой рентгеновской дифрактограммой, выраженной в значениях углов 2 тета, как показано на фиг. 4.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:H₂O] в соотношении 1:1:3 в твердой кристаллической форме, где кристаллическая форма отличается по меньшей мере дифракционным пиком порошковой рентгенограммы в любом одном или нескольких из следующих положений: 7,3, 8,4, 8,8, 10,7, 12,0, 12,2, 13,2, 13,7, 14,5, 16,3, 16,7, 17,6, 19,3, 20,2, 20,6, 21,0, 21,4, 21,8, 22,8, 23,4, 23,9, 24,5, 25,2, 25,7, 25,9, 26,4, 27,2, 27,7, 28,3, 28,6, 28,9, 29,2, 29,6 и 32,7° 2 θ ±0,2° 2 θ .

В предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:H₂O] в соотношении 1:1:3 в твердой кристаллической форме, где кристаллическая форма отличается по меньшей мере дифракционным пиком порошковой рентгенограммы по меньшей мере в 5, 10, 15, 20, 25, 30 или более из следующих положений: 7,3, 8,4, 8,8, 10,7, 12,0, 12,2, 13,2, 13,7, 14,5, 16,3, 16,7, 17,6, 19,3, 20,2, 20,6, 21,0, 21,4, 21,8, 22,8, 23,4, 23,9, 24,5, 25,2, 25,7, 25,9, 26,4, 27,2, 27,7, 28,3, 28,6, 28,9, 29,2, 29,6 и 32,7° 2 θ ±0,2° 2 θ .

В одном варианте осуществления, соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:H₂O] в соотношении 1:1:3 в твердой кристаллической форме, где кри-

сталлическая форма отличается по меньшей мере дифракционным пиком порошковой рентгенограммы во всех следующих положениях: 7,3, 8,4, 8,8, 10,7, 12,0, 12,2, 13,2, 13,7, 14,5, 16,3, 16,7, 17,6, 19,3, 20,2, 20,6, 21,0, 21,4, 21,8, 22,8, 23,4, 23,9, 24,5, 25,2, 25,7, 25,9, 26,4, 27,2, 27,7, 28,3, 28,6, 28,9, 29,2, 29,6 и $32,7^\circ 2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$. В особом варианте осуществления соль по настоящему изобретению отличается порошковой рентгеновской дифрактограммой, выраженной в значениях углов 2θ , как показано на фиг. 5.

В одном варианте осуществления продукт присоединения [соединение 1:HCl:H₂O] в соотношении 1:1:3 в твердой кристаллической форме имеет размер частиц менее чем 1000 мкм, как измерено при помощи лазерной дифракции (табл. II). В предпочтительном варианте осуществления продукт присоединения [соединение 1:HCl:H₂O] в соотношении 1:1:3 в твердой кристаллической форме имеет размер частиц в пределах от 50 мкм до 800 мкм. В более предпочтительном варианте осуществления продукт присоединения [соединение 1:HCl:H₂O] в соотношении 1:1:3 в твердой кристаллической форме имеет размер частиц в пределах от 200 мкм до 600 мкм.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:MeOH] в соотношении 1:1:1 в твердой кристаллической форме, где кристаллическая форма отличается по меньшей мере дифракционным пиком порошковой рентгенограммы в любом одном или нескольких из следующих положений: 7,1, 14,4, 16,6, 17,3, 18,9, 23,4, 24,8 и $29,0^\circ 2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$.

В предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:MeOH] в соотношении 1:1:1 в твердой кристаллической форме, где кристаллическая форма отличается по меньшей мере дифракционным пиком порошковой рентгенограммы по меньшей мере в 3, 5, 7 или более из следующих положений: 7,1, 14,4, 16,6, 17,3, 18,9, 23,4, 24,8 и $29,0^\circ 2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:MeOH] в соотношении 1:1:1 в твердой кристаллической форме, где кристаллическая форма отличается по меньшей мере дифракционным пиком порошковой рентгенограммы во всех следующих положениях: 7,1, 14,4, 16,6, 17,3, 18,9, 23,4, 24,8 и $29,0^\circ 2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$. В особом варианте осуществления соль по настоящему изобретению отличается порошковой рентгеновской дифрактограммой, выраженной в значениях углов 2θ , как показано на фиг. 8.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:HCO₂H] в соотношении 1:1:1,5 в твердой кристаллической форме, где кристаллическая форма отличается по меньшей мере дифракционным пиком порошковой рентгенограммы в любом одном или нескольких из следующих положений: 7,1, 14,4, 14,8, 16,4, 17,4, 18,6, 20,8, 23,4, 24,5, 24,9 и $29,0^\circ 2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:HCO₂H] в соотношении 1:1:1,5 в твердой кристаллической форме, где кристаллическая форма отличается по меньшей мере дифракционным пиком порошковой рентгенограммы по меньшей мере в 3, 5, 7, 9 или более из следующих положений: 7,1, 14,4, 14,8, 16,4, 17,4, 18,6, 20,8, 23,4, 24,5, 24,9 и $29,0^\circ 2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению представляет собой продукт присоединения [соединение 1:HCl:HCO₂H] в соотношении 1:1:1,5 в твердой кристаллической форме, где кристаллическая форма отличается по меньшей мере дифракционным пиком порошковой рентгенограммы во всех следующих положениях: 7,1, 14,4, 14,8, 16,4, 17,4, 18,6, 20,8, 23,4, 24,5, 24,9 и $29,0^\circ 2\theta \pm 0,2^\circ 2\theta$. В особом варианте осуществления соль по настоящему изобретению отличается порошковой рентгеновской дифрактограммой, выраженной в значениях углов 2θ , как показано на фиг. 9.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению получают путем объединения соединения 1 с кислотой, выбранной из бромистоводородной кислоты, хлористоводородной кислоты, серной кислоты, толуолсульфоновой кислоты, бензолсульфоновой кислоты, щавелевой кислоты, малеиновой кислоты, нафталин-2-сульфоновой кислоты, нафталин-1,5-дисульфоновой кислоты, 1-2-этандисульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты, 2-гидроксиэтансульфоновой кислоты, фосфорной кислоты, этансульфоновой кислоты, малоновой кислоты, 2-5-дигидроксibenзойной кислоты и L-Винной кислоты, в инертном растворителе и осаждением указанной соли из указанного растворителя. В предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему изобретению получают путем добавления соединения 1 и солеобразующего агента в подходящий растворитель для того, чтобы добиться полного растворения, затем путем контролируемого выпаривания растворителя для достижения пересыщения и, следовательно, кристаллизации соответствующей соли.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению получают путем смешивания соединения 1 и кислоты в молярном соотношении соединение 1:кислота в пределах от 5:1 до 1:5. В предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему изобретению получают путем смешивания соединения 1 и кислоты в молярном соотношении соединение 1:кислота в пределах от 2:1 до 1:2. В более предпочтительном варианте осуществления соль по настоящему изобретению получают путем смешивания соединения 1 и кислоты в молярном соотношении 1:1.

В еще одном конкретном варианте осуществления растворитель для получения соли по настоящему изобретению выбирают из кетонов, спиртов, сложных эфиров, C_{1-10} алкила, C_{3-7} циклоалкила, C_{6-10} моноциклического или конденсированного бициклического арила, сульфоксида, C_{1-10} алкилнитрила, C_{1-10} линейных, разветвленных или циклических эфиров и C_{1-10} галогеналкила. В предпочтительном варианте осуществления растворитель для получения соли по настоящему изобретению выбирают из ацетона, анизола, бутанола, бутилацетата, TBME, DMSO, этанола, этилацетата, гептана, изопропилацетата, MEK, изопропилацетата, MeCN, циклогексана, DCM, диоксана, метанола, нитрометана, THF, метил THF, толуола, воды, 10% водного раствора ацетона, 10% водного раствора THF и 10% метанола. В предпочтительном варианте осуществления растворитель для получения соли по настоящему изобретению выбирают из диоксана, THF, ацетона, DCM и MeOH.

В другом аспекте представлен способ для получения соли по настоящему изобретению, включающий стадии:

- i) взаимодействие соединения 1, с кислотой, выбранной из бромистоводородной кислоты, хлористоводородной кислоты, серной кислот, толуолсульфоновой кислоты, бензолсульфоновой кислоты, щавелевой кислоты, малеиновой кислоты, нафталин-2-сульфоновой кислоты, нафталин-1,5-дисульфоновой кислоты, 1-2-этандисульфоновой кислоты, метансульфоновой кислоты, 2-гидроксиэтансульфоновой кислоты, фосфорной кислоты, этансульфоновой кислоты, малоновой кислоты, 2-5-дигидроксibenзойной кислоты и L-Винной кислоты, в инертном растворителе; и
- ii) осаждение указанной соли из указанного растворителя.

В следующем аспекте обеспечивается соль по настоящему изобретению, которую можно получить или которая получена указанным выше способом.

В одном варианте осуществления в отношении получения соли по настоящему изобретению, инертный растворитель выбран из диоксана, THF, ацетона, DCM и MeOH.

В одном варианте осуществления в отношении получения соли по настоящему изобретению, инертный растворитель представляет собой DCM.

В одном варианте осуществления в отношении получения соли по настоящему изобретению, инертный растворитель выбран из смеси iPrOH/вода, iPrOH, iBuOH и tBuOH.

В одном варианте осуществления представлен способ для получения продукта присоединения [соединение 1:HCl:3H₂O] в твердой кристаллической форме, включающий стадии:

- i) перемешивание соединения 1 с водой,
- ii) добавление водного раствора HCl,
- iii) дальнейшее перемешивание смеси, полученной на стадии ii),
- iv) охлаждение смеси, полученной на стадии iii) до 15°C,
- v) продолжение перемешивания в течение не более 24 ч при 15°C,
- vi) выделение полученного на предыдущей стадии v) твердого вещества при помощи фильтрации и
- vii) сушка в атмосфере азота в течение по меньшей мере 4 ч указанного полученного твердого вещества, полученного на предыдущей стадии vi).

В предпочтительном варианте осуществления представлен способ для получения продукта присоединения [соединение 1:HCl:3H₂O] в твердой кристаллической форме, включающий стадии:

- i) перемешивание соединения 1 с водой при 50°C,
- ii) добавление водного раствора HCl,
- iii) перемешивания смеси, полученной на стадии ii), далее при 50°C в течение 15 мин,
- iv) охлаждения смеси, полученной на стадии iii), до 15°C,
- v) продолжение перемешивания в течение промежутка времени от 12 до 24 ч при 15°C,
- vi) выделение полученного на предыдущей стадии v) твердого вещества при помощи фильтрации и
- vii) сушка в атмосфере азота в течение по меньшей мере 4 ч указанного полученного твердого вещества, полученного на предыдущей стадии vi).

В другом варианте осуществления представлен способ для получения продукта присоединения [соединение 1:HCl:3H₂O] в твердой кристаллической форме, включающий стадии:

- i) смешивание соединения 1, суспендированного в DCM, с MeOH,
- ii) добавление воды при перемешивании,
- iii) отделение органического слоя,
- iv) добавление раствора HCl к органическому слою, полученному на предыдущей стадии iii),
- v) выделение полученного на предыдущей стадии iv) твердого вещества при помощи фильтрации,
- vi) сушка указанного полученного твердого вещества, полученного на предыдущей стадии v),
- vii) добавление твердого вещества, полученного на предыдущей стадии vi), к раствору муравьиная кислота/вода, при перемешивании,
- viii) добавление воды к раствору, полученному на предыдущей стадии vii),
- ix) выделение при помощи фильтрации полученного твердого вещества, полученного на предыдущей стадии viii), и
- x) сушка полученного твердого вещества, полученного на предыдущей стадии ix).

В другом варианте осуществления представлен способ для получения продукта присоединения [со-

единение 1:HCl:3H₂O] в твердой кристаллической форме, включающий стадии:

- i) смешивание соединения 1, суспендированного в DCM, с MeOH при 35°C,
- ii) добавление воды при перемешивании при 35°C в течение по меньшей мере 15 мин
- iii) отделение органического слоя,
- iv) добавление 10% мас./мас. раствора HCl в MeOH к органическому слою, полученному на предыдущей стадии iii),
- v) выделение полученного на предыдущей стадии iv) твердого вещества при помощи фильтрации,
- vi) сушка указанного полученного твердого вещества, полученного на предыдущей стадии v),
- vii) добавление твердого вещества, полученного на предыдущей стадии vi), к раствору 1,6/0,4 муравьиная кислота/вода, при перемешивании при 55°C
- viii) добавление воды к раствору, полученному на предыдущей стадии vii),
- ix) выделение при помощи фильтрации полученного твердого вещества, полученного на предыдущей стадии viii), и
- x) сушка полученного твердого вещества, полученного на предыдущей стадии ix).

В другом варианте осуществления представлен способ для получения продукта присоединения [соединение 1:HCl:3H₂O] в твердой кристаллической форме, включающий стадии:

- i) взаимодействие соединения 1, суспендированного в DCM, с MeOH и тринатрий тримеркаптоп-риазинном,
- ii) фильтрование полученной суспензии,
- iii) добавление воды при перемешивании,
- iv) отделение органического слоя,
- v) добавление раствора HCl к органическому слою, полученному на стадии iv),
- vi) выделение полученного твердого вещества, полученного на стадии v), при помощи фильтрации,
- vii) сушка указанного полученного твердого вещества, полученного на стадии vi),
- viii) добавление твердого вещества, полученного на стадии vii), к раствору муравьиная кислота/вода при перемешивании,
- ix) добавление воды к раствору со стадии viii),
- x) выделение при помощи фильтрации твердого вещества, полученного на стадии ix), и
- xi) сушка полученного твердого вещества, полученного на стадии x).

В другом аспекте представлен способ для получения продукта присоединения [соединение 1:HCl:3H₂O] в твердой кристаллической форме, включающий стадии:

- i) взаимодействие соединения 1, суспендированного в DCM, с MeOH и тринатрий тримеркаптоп-риазинном при 35°C в течение по меньшей мере 5 ч,
 - ii) фильтрование полученной суспензии,
 - iii) добавление воды при перемешивании при 35°C в течение по меньшей мере 15 мин,
 - iv) отделение органического слоя,
 - v) добавление 10% мас./мас. раствора HCl в MeOH к органическому слою, полученному на стадии iv),
 - vi) выделение полученного твердого вещества, полученного на стадии v), при помощи фильтрации,
 - vii) сушка указанного полученного твердого вещества, полученного на стадии vi),
 - viii) добавление твердого вещества, полученного на стадии vii), к раствору 1,6/0,4 муравьиная кислота/вода при перемешивании при 55°C,
 - ix) добавление воды к раствору со стадии viii),
 - x) выделение при помощи фильтрации полученного твердого вещества, полученного на стадии ix),
- и
- xi) сушка полученного твердого вещества, полученного на стадии x).

Альтернативно, также предусматриваются настоящим изобретением исключение одного или нескольких из указанных переменных из группы или варианта осуществления или их комбинации.

Фармацевтические композиции

При использовании в качестве фармацевтического препарата соль по настоящему изобретению обычно вводят в форме фармацевтической композиции. Такие композиции можно получить способом, хорошо известным в области фармацевтики, и включают по меньшей мере одну активную соль по настоящему изобретению.

Обычно соль по настоящему изобретению вводят в фармацевтически эффективном количестве. Фактически вводимое количество соли по настоящему изобретению, как правило, будет определяться врачом в свете соответствующих обстоятельств, включая состояние, требующее лечения, выбранный путь введения, конкретную вводимую соль по настоящему изобретению, возраст, массу тела и реакцию конкретного пациента, тяжесть симптомов пациента и т.п.

Фармацевтические композиции по настоящему изобретению можно вводить различными путями, включая пероральный, ректальный, трансдермальный, подкожный, внутрисуставный, внутривенный, внутримышечный и интраназальный. В зависимости от предполагаемого пути доставки, соль по настоящему изобретению предпочтительно формулируют как в виде композиций для инъекций или перораль-

ных композиций, так и в виде мазей, в виде примочек или в виде патчей, все для трансдермального введения.

Композиции для перорального введения могут быть в форме нерасфасованных жидких растворов или суспензий или нерасфасованных порошков. Чаще всего, однако, композиции представлены в единичных лекарственных формах для облегчения точного дозирования. Термин "единичные лекарственные формы" относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных дозировок для человека и других млекопитающих, при этом каждая единица содержит заранее определенное количество активного вещества, рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта, в ассоциации с подходящим фармацевтическим эксципиентом, растворителем или носителем. Типичные единичные лекарственные формы включают предварительно заполненные заранее отмеренными жидкими композициями ампулы или шприцы или, в случае твердых композиций, пилюли, таблетки, капсулы или подобные. В таких композициях соль по настоящему изобретению обычно представляет собой минорный компонент (от около 0,1 до около 50% по массе или предпочтительно от около 1 до около 40% по массе), при этом остальное количество составляют различные наполнители или носители и вспомогательные вещества, полезные для формирования желаемой дозированной формы.

Жидкие формы, подходящие для перорального введения, могут включать подходящий водный или не-водный растворитель с буферами, суспендирующими и дисперсионными агентами, красителями, ароматизаторами и подобным. Твердые формы могут включать, например, любой из следующих ингредиентов или соль по настоящему изобретению аналогичной природы: связующее вещество, такое как микрокристаллическая целлюлоза, трагантовая камедь или желатин; эксципиент, такой как крахмал или лактоза, вещество для улучшения распадаемости таблеток, такое как альгиновая кислота, Primogel или кукурузный крахмал; смазывающее вещество, такое как стеарат магния; вещество, предотвращающие слипание, такое как коллоидный диоксид кремния; подсластитель, такой как сахароза или сахарин; или ароматизирующее вещество, такое как мятный или апельсиновый ароматизатор.

Композиции для инъекций обычно получают на основе инъекционного стерильного физраствора или фосфатно-солевого буферного раствора или других инъекционных носителей, известных в данной области. Также как описано выше, активная соль по настоящему изобретению в соответствии с формулой I в таких композициях обычно представляет собой минорный компонент, чаще всего от около 0,05 до 10% по массе, при этом остальное количество составляет инъекционный носитель и подобные вещества.

Трансдермальные композиции обычно формулируют в виде мази или крема для местного применения, содержащих активный ингредиент(ингредиенты), обычно в количестве в диапазоне от около 0,01 до около 20% по массе, предпочтительно от около 0,1 до около 20% по массе, предпочтительно от около 0,1 до около 10% по массе, и более предпочтительно от около 0,5 до около 15% по массе. Когда формулируют композицию в виде мази, активные ингредиенты обычно могут быть объединены либо с вазелиновой, либо с водорастворимой основой для мази. Альтернативно, активные ингредиенты могут быть сформулированы в виде крема с, например, основой для крема масло-в-воде. Такие трансдермальные композиции хорошо известны в данной области и обычно включают дополнительные ингредиенты для улучшения стабильности активных ингредиентов или композиции при проникновении в кожу. Все такие известные трансдермальные композиции и ингредиенты включены в объем настоящего изобретения.

Соль по настоящему изобретению также можно вводить при помощи трансдермального устройства. Соответственно, трансдермальное введение можно осуществлять с использованием патча типа резервуара или пористой мембраны, либо различных твердых матриц.

Вышеописанные компоненты для перорально вводимых, вводимых путем инъекции или местным путем композиций являются лишь репрезентативными. Другие вещества, а также технологии обработки и т.п. описаны в части 8 Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th edition, 1985, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania, который включен в настоящую заявку посредством ссылки.

Соль по настоящему изобретению также можно вводить в формах замедленного высвобождения или из систем доставки лекарственного средства замедленного высвобождения. Описание репрезентативных веществ для замедленного высвобождения можно найти в Remington's Pharmaceutical Sciences.

Следующие примеры получения композиций иллюстрируют репрезентативные фармацевтические композиции, которые можно получить в соответствии с настоящим изобретением. Настоящее изобретение, однако, не ограничено следующими фармацевтическими композициями.

Композиция 1. Таблетки

Соль по настоящему изобретению можно смешать в виде сухого порошка с сухим желатиновым связующим в массовом соотношении приблизительно 1:2. Незначительное количество стеарата магния можно добавить в качестве смазывающего вещества. Смесь можно сформировать в 240-270 мг в таблетки (80-90 мг активной соли по настоящему изобретению на таблетку) в таблетировочном прессе.

Композиция 2. Капсулы

Соль по настоящему изобретению можно смешать в виде сухого порошка с крахмальным разбавителем в массовом соотношении приблизительно 1:1. Смесь заполняют в 250 мг капсулы (125 мг активной соли по настоящему изобретению на капсулу).

Композиция 3. Жидкость

Соль по настоящему изобретению (125 мг) можно смешать с сахарозой (1,75 г) и ксантановой камедью (4 мг), и полученную смесь можно смешать, пропустить через сито № 10 меш США и затем смешать с предварительно приготовленным раствором микрокристаллической целлюлозы и натрийкарбоксиметилцеллюлозы (11:89, 50 мг) в воде. Бензоат натрия (10 мг), отдушку и краситель можно разбавить водой и добавить при перемешивании. Затем при перемешивании можно добавить достаточное количество воды. Затем можно еще добавить достаточное количество воды для получения общего объема 5 мл.

Композиция 4. Таблетки

Соль по настоящему изобретению можно смешать в виде сухого порошка с сухим желатиновым связующим в массовом соотношении приблизительно 1:2. Незначительное количество лубриканта можно добавить в качестве смазывающего вещества. Смесь можно сформировать в 25-900 мг таблетки (8-300 мг активной соли по настоящему изобретению) в таблетировочном прессе.

Композиция 5. Инъекция

Соль по настоящему изобретению можно растворить или суспендировать в водной среде для инъекций с буферизованным стерильным физраствором до концентрации приблизительно 5 мг/мл.

Композиция 6. Местное нанесение

Стеариловый спирт (250 г) и белый вазелин (250 г) можно расплавить при температуре около 75°C и затем добавить смесь соли по настоящему изобретению (50 г), метилпарабена (0,25 г), пропилпарабена (0,15 г), лаурилсульфата натрия (10 г) и пропиленгликоля (120 г), растворенных в воде (около 370 г), и перемешивать полученную смесь вплоть до ее застывания.

Способы лечения

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для применения в медицине. В предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для использования в профилактике и/или лечении воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденных дефектов хряща, и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает применение солей по настоящему изобретению или фармацевтических композиций, включающих соль по настоящему изобретению, в медицине. В предпочтительном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для применения в профилактике и/или лечении воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденных дефектов хряща, и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для использования в получении лекарственного средства для применения в профилактике и/или лечении воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденных дефектов хряща, и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов.

В дополнительном способе аспектов лечения данное изобретение обеспечивает способы профилактики и/или лечения млекопитающего, страдающего воспалительными заболеваниями, аутоиммунными заболеваниями, пролиферативными заболеваниями, аллергией, отторжением трансплантата, заболеваниями, связанными с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденными дефектами хряща, и/или заболеваниями, связанными с гиперсекрецией IL6 или интерферонов, где способы включают введение эффективного количества соли по настоящему изобретению или одной или нескольких фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке, для лечения или профилактики указанного состояния.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению и другое терапевтическое средство. В предпочтительном варианте осуществления, другое терапевтическое средство представляет собой средство для лечения воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденных дефектов хряща и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для применения в профилактике и/или лечении воспалительных заболеваний. В предпочтительном варианте осу-

ществления воспалительное заболевание выбрано из ревматоидного артрита, остеоартрита, аллергии дыхательных путей (например, астмы), хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ) и воспалительных заболеваний кишечника (например, болезни Крона, болезни Уиппла, хронического язвенного колита или колита). Более конкретно, воспалительное заболевание выбрано из ревматоидного артрита и воспалительных заболеваний кишечника (например, болезни Крона, болезни Уиппла, хронического язвенного колита или колита).

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает применение солей по настоящему изобретению или фармацевтических композиций, включающих соль по настоящему изобретению, в профилактике и/или лечении воспалительных заболеваний. В предпочтительном варианте осуществления воспалительное заболевание выбрано из ревматоидного артрита, остеоартрита, аллергии дыхательных путей (например, астмы), хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ) и воспалительных заболеваний кишечника (например, болезни Крона, болезни Уиппла, хронического язвенного колита или колита). Более конкретно воспалительное заболевание выбрано из ревматоидного артрита и воспалительных заболеваний кишечника (например, болезни Крона, болезни Уиппла, хронического язвенного колита или колита).

В другом варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для использования в получении лекарственного средства для применения в профилактике и/или лечении воспалительных заболеваний. В предпочтительном варианте осуществления воспалительное заболевание выбрано из ревматоидного артрита, остеоартрита, аллергии дыхательных путей (например, астмы), хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ) и воспалительных заболеваний кишечника (например, болезни Крона, болезни Уиппла, хронического язвенного колита или колита). Более конкретно, воспалительное заболевание выбрано из ревматоидного артрита и воспалительных заболеваний кишечника (например, болезни Крона, болезни Уиппла, хронического язвенного колита или колита).

В дополнительном способе аспектов лечения, данное изобретение обеспечивает способы профилактики и/или лечения млекопитающего, страдающего воспалительными заболеваниями, где способы включают введение эффективного количества соли по настоящему изобретению или одной или нескольких фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке, для лечения или профилактики указанного состояния. В предпочтительном варианте осуществления воспалительное заболевание выбрано из ревматоидного артрита, остеоартрита, аллергии дыхательных путей (например, астмы), хронического обструктивного заболевания легких (ХОЗЛ) и воспалительных заболеваний кишечника (например, болезни Крона, болезни Уиппла, хронического язвенного колита или колита). Более конкретно воспалительное заболевание выбрано из ревматоидного артрита и воспалительных заболеваний кишечника (например, болезни Крона, болезни Уиппла, хронического язвенного колита или колита).

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для применения в профилактике и/или лечении аутоиммунных заболеваний. В предпочтительном варианте осуществления аутоиммунное заболевание выбрано из ХОЗЛ, астмы (например, наследственной (эндогенной) бронхиальной астмы, приобретенной (экзогенной) бронхиальной астмы, пылевой астмы, детской астмы) в особенности хронической или застарелой астмы (например, поздней астмы и гиперчувствительности дыхательных путей), бронхита, в том числе бронхиальной астмы, системной эритематозной волчанки (SLE), кожной красной волчанки, волчаночного нефрита, дерматомиозита, синдрома Шегрена, рассеянного склероза, псориаза, синдрома сухого глаза, сахарного диабета типа I и связанных с ним осложнений, атопической экземы (атопического дерматита), тиреоидита (тиреоидита Хашимото и аутоиммунного тиреоидита), контактного дерматита и дополнительных экзематозных дерматитов, воспалительного заболевания кишечника (например, болезни Крона, болезни Уиппла, хронического язвенного колита или колита), атеросклероза и амиотрофического латерального склероза. Предпочтительно, аутоиммунное заболевание выбрано из ХОЗЛ, астмы, системной эритематозной волчанки, сахарного диабета типа I и воспалительного заболевания кишечника.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает применение солей по настоящему изобретению или фармацевтических композиций, включающих соль по настоящему изобретению, в профилактике и/или лечении аутоиммунных заболеваний. В предпочтительном варианте осуществления аутоиммунное заболевание выбрано из ХОЗЛ, астмы (например, наследственной (эндогенной) бронхиальной астмы, приобретенной (экзогенной) бронхиальной астмы, пылевой астмы, детской астмы), в особенности хронической или застарелой астмы (например, поздней астмы и гиперчувствительности дыхательных путей), бронхита, в том числе бронхиальной астмы, системной эритематозной волчанки (SLE), кожной красной волчанки, волчаночного нефрита, дерматомиозита, синдрома Шегрена, рассеянного склероза, псориаза, синдрома сухого глаза, сахарного диабета типа I и связанных с ним осложнений, атопической экземы (атопического дерматита), тиреоидита (тиреоидита Хашимото и аутоиммунного тиреоидита), контактного дерматита и дополнительных экзематозных дерматитов, воспалительного заболевания кишечника (например, болезни Крона, болезни Уиппла, хронического язвенного колита или колита), атеросклероза и амиотрофического латерального склероза. Предпочтительно аутоиммунное заболе-

вание выбрано из ХОЗЛ, астмы, системной эритематозной волчанки, сахарного диабета типа I и воспалительного заболевания кишечника.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для использования в получении лекарственного средства для применения в профилактике и/или лечении аутоиммунных заболеваний. В предпочтительном варианте осуществления аутоиммунное заболевание выбрано из ХОЗЛ, астмы (например, наследственной (эндогенной) бронхиальной астмы, приобретенной (экзогенной) бронхиальной астмы, пылевой астмы, детской астмы) в особенности хронической или застарелой астмы (например, поздней астмы и гиперчувствительности дыхательных путей), бронхита, в том числе бронхиальной астмы, системной эритематозной волчанки (SLE), кожной красной волчанки, волчаночного нефрита, дерматомиозита, синдрома Шегрена, рассеянного склероза, псориаза, синдрома сухого глаза, сахарного диабета типа I и связанных с ним осложнений, атопической экземы (атопического дерматита), тиреоидита (тиреоидита Хашимото и аутоиммунного тиреоидита), контактного дерматита и дополнительных экзематозных дерматитов, воспалительного заболевания кишечника (например, болезни Крона, болезни Уиппла, хронического язвенного колита или колита), атеросклероза и амиотрофического латерального склероза. Предпочтительно, аутоиммунное заболевание выбрано из ХОЗЛ, астмы, системной эритематозной волчанки, сахарного диабета типа I и воспалительного заболевания кишечника.

В дополнительном способе аспектов лечения данное изобретение обеспечивает способы профилактики и/или лечения млекопитающего, страдающего аутоиммунными заболеваниями, где способы включают введение эффективного количества соли по настоящему изобретению или одной или нескольких фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке, для лечения или профилактики указанного состояния. В предпочтительном варианте осуществления, аутоиммунное заболевание выбрано из ХОЗЛ, астмы (например, наследственной (эндогенной) бронхиальной астмы, приобретенной (экзогенной) бронхиальной астмы, пылевой астмы, детской астмы) в особенности хронической или застарелой астмы (например, поздней астмы и гиперчувствительности дыхательных путей), бронхита, в том числе бронхиальной астмы, системной эритематозной волчанки (SLE), кожной красной волчанки, волчаночного нефрита, дерматомиозита, синдрома Шегрена, рассеянного склероза, псориаза, синдрома сухого глаза, сахарного диабета типа I и связанных с ним осложнений, атопической экземы (атопического дерматита), тиреоидита (тиреоидита Хашимото и аутоиммунного тиреоидита), контактного дерматита и дополнительных экзематозных дерматитов, воспалительного заболевания кишечника (например, болезни Крона, болезни Уиппла, хронического язвенного колита или колита), атеросклероза и амиотрофического латерального склероза. Предпочтительно, аутоиммунное заболевание выбрано из ХОЗЛ, астмы, системной эритематозной волчанки, сахарного диабета типа I и воспалительного заболевания кишечника.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для применения в профилактике и/или лечении пролиферативных заболеваний. В предпочтительном варианте осуществления пролиферативное заболевание выбрано из рака и лейкоза. В более предпочтительном варианте осуществления пролиферативное заболевание выбранного из рака молочной железы, рака эндометрия и шейки матки, рака легких, рака яичников, рака простаты, рака печени и рака поджелудочной железы.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает применение солей по настоящему изобретению или фармацевтических композиций, включающих соль по настоящему изобретению, в профилактике и/или лечении пролиферативных заболеваний. В предпочтительном варианте осуществления пролиферативное заболевание выбрано из рака и лейкоза. В более предпочтительном варианте осуществления, пролиферативное заболевание выбранного из рака молочной железы, рака эндометрия и шейки матки, рака легких, рака яичников, рака простаты, рака печени и рака поджелудочной железы.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для использования в получении лекарственного средства для применения в профилактике и/или лечении пролиферативных заболеваний. В предпочтительном варианте осуществления пролиферативное заболевание выбрано из рака и лейкоза. В более предпочтительном варианте осуществления пролиферативное заболевание выбранного из рака молочной железы, рака эндометрия и шейки матки, рака легких, рака яичников, рака простаты, рака печени и рака поджелудочной железы.

В дополнительном способе аспектов лечения, данное изобретение обеспечивает способы профилактики и/или лечения млекопитающего, страдающего пролиферативными заболеваниями, где способы включают введение эффективного количества соли по настоящему изобретению или одной или нескольких фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке, для лечения или профилактики указанного состояния. В предпочтительном варианте осуществления пролиферативное заболевание выбрано из рака и лейкоза. В более предпочтительном варианте осуществления пролиферативное заболевание выбранного из рака молочной железы, рака эндометрия и шейки матки, рака легких, рака яичников, рака

простаты, рака печени и рака поджелудочной железы.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для применения в профилактике и/или лечении аллергии. В предпочтительном варианте осуществления аллергия выбрана из аллергии дыхательных путей (например, астмы, ринита), синусита, экземы и крапивницы, а также пищевых аллергий или аллергии на яд насекомых.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает применение солей по настоящему изобретению или фармацевтических композиций, включающих соль по настоящему изобретению, в профилактике и/или лечении аллергии. В предпочтительном варианте осуществления аллергия выбрана из аллергии дыхательных путей (например, астмы, ринита), синусита, экземы и крапивницы, а также пищевых аллергий или аллергии на яд насекомых.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для использования в получении лекарственного средства для применения в профилактике и/или лечении аллергии. В предпочтительном варианте осуществления, аллергия выбрана из аллергии дыхательных путей (например, астмы, ринита), синусита, экземы и крапивницы, а также пищевых аллергий или аллергии на яд насекомых.

В дополнительном способе аспектов лечения, данное изобретение обеспечивает способы профилактики и/или лечения млекопитающего, страдающего аллергией, где способы включают введение эффективного количества соли по настоящему изобретению или одной или нескольких фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке, для лечения или профилактики указанного состояния. В предпочтительном варианте осуществления аллергия выбрана из аллергии дыхательных путей (например, астмы, ринита), синусита, экземы и крапивницы, а также пищевых аллергий или аллергии на яд насекомых.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для применения в профилактике и/или лечении отторжения трансплантата.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает применение солей по настоящему изобретению или фармацевтических композиций, включающих соль по настоящему изобретению, в профилактике и/или лечении отторжения трансплантата.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для использования в получении лекарственного средства для применения в профилактике и/или лечении отторжения трансплантата.

В дополнительном способе аспектов лечения данное изобретение обеспечивает способы профилактики и/или лечения млекопитающего, страдающего отторжением трансплантата, где способы включают введение эффективного количества соли по настоящему изобретению или одной или нескольких фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке, для лечения или профилактики указанного состояния.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для применения в профилактике и/или лечении заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани. В предпочтительном варианте осуществления заболевания, связанные с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, выбраны из остеоартрита, псориатического артрита, ювенильного ревматоидного артрита, подагрического артрита, септического или инфекционного артрита, реактивного артрита, рефлекторной симпатической дистрофии, альгодистрофии, ахондроплазии, болезни Педжета, синдрома Титце или реберного хондрита, фибромиалгии, остеохондрита, нейрогенного или нейропатического артрита, артропатии, саркоидоза, амилоза, гидрартроза, периодической болезни, ревматоидного спондилита, эндемичных форм артрита, таких как эндемический деформирующий остеоартрит, болезнь суставов Мселени и болезнь Хандигоду; дегенерации в результате фибромиалгии, системной эритематозной волчанки, склеродермита и анкилозирующего спондилита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает применение солей по настоящему изобретению или фармацевтических композиций, включающих соль по настоящему изобретению, в профилактике и/или лечении заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани. В предпочтительном варианте осуществления, заболевания, связанные с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, выбраны из остеоартрита, псориатического артрита, ювенильного ревматоидного артрита, подагрического артрита, септического или инфекционного артрита, реактивного артрита, рефлекторной симпатической дистрофии, альгодистрофии, ахондроплазии, болезни Педжета, синдрома Титце или реберного хондрита, фибромиалгии, остеохондрита, нейрогенного или нейропатического артрита, артропатии, саркоидоза, амилоза, гидрартроза, периодической болезни, ревматоидного спондилита, эндемичных форм артрита, таких как эндемический деформирующий остеоартрит, болезнь суставов Мселени и болезнь Хандигоду; дегенерации в результате фибромиалгии,

системной эритематозной волчанки, склеродермита и анкилозирующего спондилита.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для использования в получении лекарственного средства для применения в профилактике и/или лечении заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани. В предпочтительном варианте осуществления заболевания, связанные с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, выбраны из остеоартрита, псориатического артрита, ювенильного ревматоидного артрита, подагрического артрита, септического или инфекционного артрита, реактивного артрита, рефлекторной симпатической дистрофии, альгодистрофии, ахондроплазии, болезни Педжета, синдрома Титце или реберного хондрита, фибромиалгии, остеохондрита, нейрогенного или нейропатического артрита, артропатии, саркоидоза, амилоза, гидрартроза, периодической болезни, ревматоидного спондилита, эндемичных форм артрита, таких как эндемический деформирующий остеоартрит, болезнь суставов Мселени и болезнь Хандигоду; дегенерации в результате фибромиалгии, системной эритематозной волчанки, склеродермита и анкилозирующего спондилита.

В дополнительном способе аспектов лечения, данное изобретение обеспечивает способы профилактики и/или лечения млекопитающего, страдающего заболеваниями, связанными с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, где способы включают введение эффективного количества соли по настоящему изобретению или одной или нескольких фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке, для лечения или профилактики указанного состояния. В предпочтительном варианте осуществления заболевания, связанные с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, выбраны из остеоартрита, псориатического артрита, ювенильного ревматоидного артрита, подагрического артрита, септического или инфекционного артрита, реактивного артрита, рефлекторной симпатической дистрофии, альгодистрофии, ахондроплазии, болезни Педжета, синдрома Титце или реберного хондрита, фибромиалгии, остеохондрита, нейрогенного или нейропатического артрита, артропатии, саркоидоза, амилоза, гидрартроза, периодической болезни, ревматоидного спондилита, эндемичных форм артрита, таких как эндемический деформирующий остеоартрит, болезнь суставов Мселени и болезнь Хандигоду; дегенерации в результате фибромиалгии, системной эритематозной волчанки, склеродермита и анкилозирующего спондилита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для применения в профилактике и/или лечении врожденной(ых) мальформации(ий) хряща. В предпочтительном варианте осуществления, врожденная(ые) мальформация(ии) хряща выбрана из наследственного хондролита, хондродисплазии и псевдохондродисплазии, в частности, но без ограничения, микротии, анотии, метафизарной хондродисплазии и связанных с этими заболеваниями расстройств.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает применение солей по настоящему изобретению или фармацевтических композиций, включающих соль по настоящему изобретению, в профилактике и/или лечении врожденной(ых) мальформации(ий) хряща. В предпочтительном варианте осуществления, врожденная(ые) мальформация(ии) хряща выбрана из наследственного хондролита, хондродисплазии и псевдохондродисплазии, в частности, но без ограничения, микротии, анотии, метафизарной хондродисплазии и связанных с этими заболеваниями расстройств.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для использования в получении лекарственного средства для применения в профилактике и/или лечении врожденной(ых) мальформации(ий) хряща. В предпочтительном варианте осуществления, врожденная(ые) мальформация(ии) хряща выбрана из наследственного хондролита, хондродисплазии и псевдохондродисплазии, в частности, но без ограничения, микротии, анотии, метафизарной хондродисплазии и связанных с этими заболеваниями расстройств.

В дополнительном способе аспектов лечения, данное изобретение обеспечивает способы профилактики и/или лечения млекопитающего, страдающего врожденной(ыми) мальформацией(ями) хряща, где способы включают введение эффективного количества соли по настоящему изобретению или одной или нескольких фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке, для лечения или профилактики указанного состояния. В предпочтительном варианте осуществления, врожденная(ые) мальформация(ии) хряща выбрана из наследственного хондролита, хондродисплазии и псевдохондродисплазии, в частности, но без ограничения, микротии, анотии, метафизарной хондродисплазии связанных с этими заболеваниями расстройств.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для применения в профилактике и/или лечении заболевания(й), связанного(ых) с гиперсекрецией IL6. В предпочтительном варианте осуществления, заболевание(я), связанное(ые) с гиперсекрецией IL6, выбрано из болезни Кастлемана, множественной миеломы, псориаса, саркомы Капоши и/или мезангиального пролиферативного гломерулонефрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает применение солей по на-

стоящему изобретению или фармацевтических композиций, включающих соль по настоящему изобретению, в профилактике и/или лечении заболевания(й), связанного(ых) с гиперсекрецией IL6. В предпочтительном варианте осуществления заболевание(я), связанное(ые) с гиперсекрецией IL6, выбрано из болезни Кастлемана, множественной миеломы, псориаза, саркомы Капоши и/или мезангиального пролиферативного гломерулонефрита.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для использования в получении лекарственного средства для применения в профилактике и/или лечении заболевания(й), связанного(ых) с гиперсекрецией IL6. В предпочтительном варианте осуществления, заболевание(я), связанное(ые) с гиперсекрецией IL6, выбрано из болезни Кастлемана, множественной миеломы, псориаза, саркомы Капоши и/или мезангиального пролиферативного гломерулонефрита.

В дополнительном способе аспектов лечения данное изобретение обеспечивает способы профилактики и/или лечения млекопитающего, страдающего заболеванием(ями), связанным(ыми) с гиперсекрецией IL6, где способы включают введение эффективного количества соли по настоящему изобретению или одной или нескольких фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке, для лечения или профилактики указанного состояния. В предпочтительном варианте осуществления заболевание(я), связанное(ые) с гиперсекрецией IL6, выбрано из болезни Кастлемана, множественной миеломы, псориаза, саркомы Капоши и/или мезангиального пролиферативного гломерулонефрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для применения в профилактике и/или лечении заболевания(й), связанного(ых) с гиперсекрецией интерферонов. В предпочтительном варианте осуществления заболевание, связанное с гиперсекрецией интерферонов, выбрано из системной и кожной красной волчанки, волчаночного нефрита, дерматомиозита, синдрома Шегрена, псориаза и ревматоидного артрита.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает применение солей по настоящему изобретению или фармацевтических композиций, включающих соль по настоящему изобретению, в профилактике и/или лечении заболевания(й), связанного(ых) с гиперсекрецией интерферонов. В предпочтительном варианте осуществления заболевание, связанное с гиперсекрецией интерферонов, выбрано из системной и кожной красной волчанки, волчаночного нефрита, дерматомиозита, синдрома Шегрена, псориаза и ревматоидного артрита.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает соли по настоящему изобретению или фармацевтические композиции, включающие соль по настоящему изобретению, для использования в получении лекарственного средства для применения в профилактике и/или лечении заболевания(й), связанного(ых) с гиперсекрецией интерферонов. В предпочтительном варианте осуществления, заболевание, связанное с гиперсекрецией интерферонов, выбрано из системной и кожной красной волчанки, волчаночного нефрита, дерматомиозита, синдрома Шегрена, псориаза и ревматоидного артрита.

В дополнительном способе аспектов лечения данное изобретение обеспечивает способы профилактики и/или лечения млекопитающего, страдающего заболеванием(ями), связанным(ыми) с гиперсекрецией интерферонов, где способы включают введение эффективного количества соли по настоящему изобретению или одной или нескольких фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке, для лечения или профилактики указанного состояния. В предпочтительном варианте осуществления заболевание, связанное с гиперсекрецией интерферонов, выбрано из системной и кожной красной волчанки, волчаночного нефрита, дерматомиозита, синдрома Шегрена, псориаза и ревматоидного артрита.

Особый режим способа по настоящему изобретению включает введение субъекту, страдающему воспалительными заболеваниями, аутоиммунными заболеваниями, пролиферативными заболеваниями, аллергией, отторжением трансплантата, заболеваниями, связанными с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденными дефектами хряща и/или заболеваниями, связанными с гиперсекрецией IL6 или интерферонов, эффективного количества соли по настоящему изобретению в течение периода времени, достаточного для уменьшения степени тяжести указанных выше заболеваний у субъекта, и предпочтительно остановки процессов, ответственных за указанные заболевания.

С использованием этих протоколов введения, каждая доза обеспечивает от около 1 до около 500 мг соли по настоящему изобретению, при этом предпочтительные дозы обеспечивают каждая от около 10 до около 300 мг, более конкретно от около 25 до около 250 мг и в особенности 10 мг, 20 мг, 25 мг, 50 мг, 75 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг, 250 мг или 300 мг.

Уровни доз для инъекций находятся в диапазоне от около 0,1 до по меньшей мере 10 мг/кг/ч, все в течение периода времени от около 1 до около 120 ч, и в особенности от 24 до 96 ч. Предварительно нагружающий болюс от около 0,1 до около 10 мг/кг или более также можно вводить для достижения адекватных уровней стабильной концентрации. Максимальная общая доза, как предполагают, не должна превышать приблизительно 1 г/день для пациента-человека с массой тела от 40 до 80 кг.

Для профилактики и/или лечения длительных состояний, таких как дегенеративные состояния, программа лечения растягивается на многие месяцы или годы, поэтому пероральное введение является

предпочтительным для удобства пациентов и для переносимости пациентами. При пероральном введении одна-четыре (1-4) ежедневные регулярные дозы, в особенности одна-три (1-3) ежедневные регулярные дозы, обычно одна-две (1-2) ежедневные регулярные дозы и наиболее предпочтительно одна (1) ежедневная регулярная доза представляют собой репрезентативные схемы введения. Альтернативно, для лекарственных средств с длительным эффектом, при пероральном введении, репрезентативные схемы включают введение один раз в две недели, раз в неделю и один раз в день. В частности, схема может включать введение через каждые 1-14 дней, более конкретно 1-10 дней, еще более предпочтительно 1-7 дней, и наиболее предпочтительно 1-3 дня.

С использованием этих протоколов введения каждая доза обеспечивает от около 1 до около 500 мг соли по настоящему изобретению, при этом предпочтительные дозы обеспечивают каждая от около 10 до около 300 мг, более конкретно от около 25 до около 250 мг и в особенности 10 мг, 20 мг, 25 мг, 50 мг, 75 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг, 250 мг или 300 мг.

Дозы для трансдермального введения, как правило, выбирают для обеспечения аналогичных или более низких уровней в крови, чем те, которые достигаются при введении путем инъекции.

При применении для профилактики развития определенного состояния соединения по настоящему изобретению следует вводить пациенту с риском развития такого состояния, обычно по рекомендации или под наблюдением лечащего врача, при уровнях доз, описанных выше. Пациенты с риском развития конкретного состояния, как правило, включают пациентов, которые имеют семейный анамнез этого состояния, или пациентов, которые были идентифицированы с помощью генетического тестирования или скрининга как особенно предрасположенные к развитию этого состояния.

Соль по настоящему изобретению можно вводить в качестве единственного активного вещества или можно вводить в комбинации с другими терапевтическими средствами, включая другие соли по настоящему изобретению, которые демонстрируют аналогичную или сходную терапевтическую активность и которые, как определено, являются безопасными и эффективными для такого совместного введения. В конкретном варианте осуществления совместное введение двух (или более) средств предусматривает значительно более низкие дозы каждого средства, которое должно быть применено, посредством чего снижаются видимые побочные эффекты.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению или фармацевтическую композицию, включающую соль по настоящему изобретению, вводят в качестве лекарственного средства. В конкретном варианте осуществления указанная фармацевтическая композиция дополнительно включает дополнительный активный ингредиент.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению вводят совместно с другим терапевтическим средством для лечения и/или профилактики заболевания, включающего воспаление, конкретные средства включают, но не ограничиваются этим, иммунорегулирующие средства, например, азатиоприн, кортикостероиды (например, преднизолон или дексаметазон), циклофосфамид, циклоспорин А, такролимус, микофенолат, мофетил, муромонаб-CD3 (ОКТ3, например, Orthocolone®), ATG, аспирин, ацетаминофен, ибупрофен, напроксен и пироксикам.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению вводят совместно с другим терапевтическим средством для лечения и/или профилактики артрита (например, ревматоидного артрита), конкретные средства включают, но не ограничиваются этим, анальгетики, нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (NSAIDs), стероиды, синтетические базовые противоревматические препараты, модифицирующие течение болезни (DMARDS), например, но без ограничения, метотрексат, лефлуномид, сульфасалазин, ауранофин, ауриотомалат натрия, пеницилламин, хлорокин, гидроксихлорокин, азатиоприн, тофацитиниб, барацитиниб, фостаматиниб и циклоспорин, и биологические DMARDS (например, но без ограничения, инфликсимаб, этанерцепт, адалимумаб, ритуксимаб и абатацепт).

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению вводят совместно с другим терапевтическим средством для лечения и/или профилактики пролиферативных расстройств, конкретные средства включают, но не ограничиваются этим: метотрексат, леуковорин, адриамицин, пренизон, блеомицин, циклофосфамид, 5-фторурацил, паклитаксел, доцетаксел, винкристин, винбластин, винорелбин, доксорубицин, таксифен, торемифен, мегестрол-ацетат, анастрозол, гозерелин, моноклональное анти-HER2-антитело (например, Герцептин™), капецитабин, ралоксифен-гидрохлорид, ингибиторы рецепторов эпидермального фактора роста EGFR (например Iressa®, Tarceva™, Erbitux™), ингибиторы факторов роста эндотелия сосудов VEGF (например Avastin™), ингибиторы протеасомы (например, Velcade™), Glivec® или ингибиторы hsp90 (например, 17-AAG), но не ограничиваются этим. Кроме того, соединение по настоящему изобретению можно вводить в комбинации с другими методами лечения, включающими лучевую терапию или хирургию, но не ограничивающимися этим. В конкретном варианте осуществления пролиферативное расстройство выбрано из ракового заболевания, миелопролиферативного заболевания или лейкоза.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению вводят совместно с другим терапевтическим средством для лечения и/или профилактики аутоиммунных заболеваний, конкретные

средства включают, но не ограничиваются этим: глюкокортикоиды, цитостатические вещества (например, пуриновые аналоги), алкилирующие агенты (например, азотистые иприты (циклофосфамид), нитрозомочевины, соли платины по настоящему изобретению и другие), антиметаболиты (например, метотрексат, азатиоприн и меркаптопурин), цитотоксические антибиотики (например, дактиномицин, антрациклины, митомицин С, блеомицин и митрамицин), антитела (например, моноклональные анти-CD20-, анти-CD25- или анти-CD3- (ОТКЗ) антитела, Atgam® и Thymoglobuline®), циклоспорин, такролимус, рапамицин (сиролимус), интерфероны (например, IFN- β), TNF-связывающие белки (например, инфликсимаб, этанерцепт или адалимумаб), микофенолат, финголимод и мириоцин.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению вводят совместно с другим терапевтическим средством для лечения и/или профилактики отторжения трансплантата, конкретные средства включают, но не ограничиваются этим: ингибиторы кальциневрина (например, циклоспорин или такролимус (FK506)), ингибиторы mTOR (например, сиролимус, эверолимус), антипролиферативные препараты (например, азатиоприн, микофенольная кислота), кортикостероиды (например, преднизолон, гидрокортизон), антитела (например, моноклональные анти-IL-2R α -рецептор-антитела, базиликсимаб, даклизумаб), поликлональные анти-T-клеточные антитела (например, антителимоцит-глобулин (ATG), антилимфоцит-глобулин (ALG)).

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению вводят совместно с другим терапевтическим средством для лечения и/или профилактики астмы и/или ринита и/или ХОЗЛ, конкретные средства включают, но не ограничиваются этим: антагонисты β 2-адреноцепторов (например, салбутамол, левалбутерол, тербуталин и битолтерол), эпинефрин (в виде ингаляций или в таблетках), антихолинергические средства (например, ипратропий-бромид), глюкокортикоиды (пероральные или в виде ингаляций), длительно действующие β 2-агонисты (например, салметерол, формотерол, бамбутерол и перорально вводимый албутерол замедленного высвобождения), комбинации ингалируемых стероидов и длительно действующих бронхолитических средств (например, флутиказон/салметерол, будезонид/формотерол), антагонисты и ингибиторы синтеза лейкотриенов (например, монтелукаст, зафирлукаст и zileuton), ингибиторы высвобождения медиаторов (например, кромогликат и кетотифен), биологические регуляторы IgE ответа (например, омализумаб), антигистаминные препараты (например, цетиризин, циннаризин, фексофенадин), вазоконстрикторы (например, оксиметазолин, ксилометазолин, нафазолин и трамазолин).

Кроме того, соль по настоящему изобретению можно вводить в комбинации с методами неотложной терапии астмы и/или хронического обструктивного заболевания легких, где такие терапии включают введение кислорода или гелиево-кислородной дыхательной среды, введение распыляемого салбутамола или тербуталина (необязательно в комбинации с антихолинергическим средством (например, ипратропий)), системных стероидов (пероральных или внутривенных, например преднизон, преднизолон, метилпреднизолон, дексаметазон или гидрокортизон), внутривенного салбутамола, неспецифических бета-агонистов, препаратов для инъекции или ингаляции (например, эпинефрин, изоэтарин, изопротеренол, метапротеренол), антихолинергических средств (внутривенных или распыляемых, например, гликопирролат, атропин, ипратропий), метилксантинов (теофиллин, аминофиллин, бамифиллин), вводимых путем ингаляции анестетиков, которые имеют бронхолитический эффект (например, изофлуран, галотан, энфлуран), кетамина, внутривенного сульфата магния.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению вводят совместно с другим терапевтическим средством для лечения и/или профилактики воспалительного заболевания кишечника (IBD), конкретные средства включают, но не ограничиваются этим: глюкокортикоиды (например, преднизон, буденосид), синтетические модифицирующие заболевание иммуномодулирующие средства (например, метотрексат, лефлуномид, сульфасалазин, мезаламин, азатиоприн, 6-меркаптопурин и циклоспорин) и биологические модифицирующие заболевание иммуномодулирующие средства (инфликсимаб, адалимумаб, ритуксимаб и абатацепт).

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению вводят совместно с другим терапевтическим средством для лечения и/или профилактики SLE (системной эриматозной волчанки), конкретные средства включают, но не ограничиваются этим моноклональные человеческие антитела (бели-мумаб (Benlysta)), базовые противоревматические препараты, модифицирующие течение болезни (DMARDs), такие как противомаларийные препараты (например, плакенил, гидроксихлорокин), иммунодепрессанты (например, метотрексат и азатиоприн), циклофосфамид и микофенольная кислота;

иммуносупрессанты и анальгетики, такие как нестероидные противовоспалительные лекарственные средства, опиаты (например, декстропропаксифен и кокодамон), опиоиды (например, гидрокодон, оксикодон, МС-контин или метадон) и фентаниловый трансдермальный пластырь.

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению вводят совместно с другим терапевтическим средством для лечения и/или профилактики псориаза, конкретные средства включают, но не ограничиваются этим: препараты для местного применения, такие как омывающие жидкости, увлажняющие средства, лекарственные кремы и мази, содержащие деготь, дитранол (антралин), кортикостероиды, например дезоксиметазон (Topicort™), флуоцинонид, аналоги витамина D3 (например, кальци-

потриол), ретиноиды на основе масла арганы (этретинат, ацитретин, тазаротен), препараты для системного лечения, такие как метотрексат, циклоспорин, ретиноиды, тиогуанин, гидроксимочевина, сульфасалазин, микофенолат мофетил, азатиоприн, такролимус, сложные эфиры фумаровой кислоты, или биологические препараты, такие как Amevive™, Enbrel™, Humira™, Remicade™, Raptiva™ и устекинумаб (блокаторы IL-12 и IL-23). Кроме того, соль по настоящему изобретению можно вводить в комбинации с другими терапиями, включающими, но не ограничивающимися этим, фототерапию или фотохимиотерапию (например, сочетание фототерапии и ПУФА (псорален + УФ-излучение А)-терапии).

В одном варианте осуществления соль по настоящему изобретению вводят совместно с другим терапевтическим средством для лечения и/или профилактики аллергической реакции, конкретные средства включают, но не ограничиваются этим: антигистаминные средства (например, цетиризин, дифенгидрамин, фексофенадин, левоцетиризин), глюкокортикоиды (например, преднизон, бетаметазон, беклометазон, дексаметазон), эпинефрин, теофиллин или антилейкотриены (например, монтелукаст или зафирлукаст), антихолинергические средства и противоотечные средства.

Термин "совместное введение" включают любое средство доставки двух или более терапевтических средств пациенту в рамках одной и той же программы лечения, что будет очевидно для специалиста в данной области. Хотя два или более средства можно вводить одновременно в одном препарате, то есть как единая фармацевтическая композиция, это не является решающим фактором. Средства можно вводить в виде разных препаратов в разное время.

Процедуры химического синтеза

Общие процедуры

Соединение в соответствии с формулой I и соли по настоящему изобретению можно получить из легкодоступных исходных веществ с использованием следующих общих способов и методик. Должно быть понятно, что в том случае, когда даны обычные или предпочтительные условия процессов (то есть температуры реакций, время, молярные соотношения реагентов, растворители, параметры давления и так далее), другие условия процесса также могут быть использованы, если не указано иное. Оптимальные реакционные условия могут варьироваться в зависимости от конкретных используемых реагентов или растворителей, но такие условия могут быть определены специалистом в данной области с помощью общепринятых алгоритмов оптимизации.

Кроме того, как будет ясно специалистам в данной области, для предотвращения нежелательных реакций некоторых функциональных групп могут потребоваться обычно применяемые защитные группы. Подбор подходящей защитной группы для конкретной функциональной группы, а также подходящих условий для введения защитных групп и удаления защитных групп хорошо известен в данной области. (Greene, T W; Wuts, P G M.; 1991).

Далее подробно представлены следующие способы, касающиеся получения соли по настоящему изобретению, определенной ранее в настоящей заявке, и сравнительные примеры. Соль по настоящему изобретению может получить специалист в области органического синтеза из известных или коммерчески доступных исходных веществ и реагентов.

Все реагенты являются реагентами технического сорта и используются в том виде, как были получены, без дополнительной очистки, если не указано иное. Коммерчески доступные безводные растворители используют в реакциях, осуществляемых в инертной атмосфере. Растворители химически чистого сорта используют во всех случаях, если не указано иное. Колонную хроматографию осуществляют на силикагеле 60 (35-70 мкм). Тонкослойную хроматографию выполняют с использованием пластинок, предварительно покрытых слоем силикагеля F-254 (толщина 0,25 мм). ¹H ЯМР-спектры записывают на ЯМР-спектрометре Bruker DPX 400 (400 МГц или ЯМР-спектрометре Bruker Advance 300 (300 МГц). Химические сдвиги (δ) для ¹H ЯМР спектра представлены в миллионных долях (млн.д.) относительно пика тетраметилсилана (δ 0,00) или соответствующего остаточного растворителя, то есть, CHCl₃ (δ 7,27), в качестве внутреннего стандарта.

Мультиплетности сигналов представлены как синглет (с), дублет (д), триплет (т), квадруплет (кв.), мультиплет (м) и широкий сигнал (шир.). Масс-спектрометрию с ионизацией электрораспылением осуществляют на спектрометре Waters с платформой для проведения анализа методами жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии ЖХ/МС или с Waters Acquity H-Class СВЭЖХ (сверхэффективная жидкостная хроматография), соединенной с Waters Mass детектором 3100. Используемые колонки: Waters Acquity UPLC BEH C18 1,7 мкм, 2,1 мм в.д. × 50 мм дл., Waters Acquity UPLC BEH C18 1,7 мкм, 2,1 мм в.д. × 30 мм дл., или Waters Xterra MS 5 мкм C18, 100×4,6 мм. Все анализы осуществляют с использованием либо MeCN/H₂O градиентов (H₂O содержит или 0,1% TFA или 0,1% NH₃), либо MeOH/H₂O градиентов (H₂O содержит 0,05% TFA). Микроволновой нагрев осуществляют при помощи Biotage Initiator.

Таблица I. Перечень сокращений, используемых в экспериментальном разделе

Сокращения	Определение
APMA	4-аминофенилртуть-ацетат
app t	кажущийся триплет
АТФ	Аденозин-5'-трифосфат
AUC	Площадь под кривой
шир.д	Широкий дублет
шир.с	Широкий синглет
BSA	Бычий сывороточный альбумин
шир.т	Широкий триплет
Cat.	Каталитическое количество
кДНК	копия дезоксирибонуклеиновой кислоты
д	дублет
DCM	Дихлорметан
Desc'd	Описан подробно
DLM	Модуль регистрации данных
DMSO	Диметилсульфоксид
ДСК	Дифференциальная сканирующая калориметрия
ДТТ	Дитиотреитол
DVS	Динамическая сорбция паров
EDTA	Этилендиаминтетрауксусная кислота
экв.	Эквивалент
Et ₂ O	Диэтиловый эфир
EtOAc	Этилацетат
EtOH	Этанол
FBS	Фетальная бычья сыворотка
FT-IR	инфракрасная спектrophотометрия с преобразованием Фурье
г	грамм
грамм	Гравиметрическая сорбция паров (ГСП)
ч	час
ВЭЖХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография
HP-β-CD	2-Гидроксипропил-бета-циклодекстрин
HRP	пероксидаза хрена
IL	Интерлейкин
Int	Промежуточный
кг	килограмм
л	литр
ЖХ-МС	Жидкостная хроматография-Масс-спектрометрия
LPC	Лизофосфатидилхолин
м	мультиплет
MeCN	Ацетонитрил
MEK	Метилэтилкетон
MeOH	Метанол
мг	миллиграмм
мин	минута
мл	миллилитр
ммоль	миллимоль
MMP	Матричная металлопротеиназа
MS Ms'd	Масса, измеренная при помощи ЖХ-МС
MW	Молекулярная масса
N.A.	не определяли

NBS	N-Бромсукцинимид
nBuOH	n-Бутанол
ЯМР	Ядерный магнитный резонанс
ONPG	Орто-нитрофенил-β-галактозид
Patt	Образец
PBF	фосфатный буферизованный формалин
PBS	забуференный фосфатом физиологический раствор
ПЦР	полимеразная цепная реакция
Pd(PPh ₃) ₄	Тетракис (трифенилфосфин) палладий (0)
Pd/C	Палладий на углероде 10%
Pd ₂ (dba) ₃	Трис (дибензилиденацетон) дипалладий (0)
PdCl ₂ dppf	[1,1'-бис (дифенилфосфино) ферроцен] дихлорпалладий (II)
PEG	Полиэтиленгликоль
млн.д.	миллионные доли
XRPD	порошковая рентгеновская дифракция
кв.	квадруплет
QrtПЦР	Количественная ПЦР в реальном времени
QTL	локусы количественных признаков
rel vol	относительный объем
RH	Относительная влажность
РНК	Рибонуклеиновая кислота
с	синглет
септ	септет
ТТ-ЯМР	Ядерный магнитный резонанс твердого тела
СДТА	Синхронный дифференциальный термический анализ
т	триплет
ТВМЕ	трет-Бутилметилловый эфир
TEA	триэтиламин
TFA	Трифторуксусная кислота
ТГА	термогравиметрический анализ
мкл	микролитр
THF	Тетрагидрофуран

Таблица II. Оборудование для анализа соли

Химическая чистота, определение при помощи СВЭЖХ	Анализ определения чистоты выполняли на системе Waters Acquity, оснащенной детектором на диодной матрице и масс-спектрометром Micromass ZQ, с использованием программы MassLynx.
ТГА	Данные ТГА получали на Mettler TGA/SDTA 851e, оборудованном автоматическим пробоотборником с 34 положениями. Прибор откалиброван по температуре с использованием сертифицированного индия. Обычно 5–30 мг каждого образца загружают на предварительно взвешенный алюминиевый тигель и нагревают при скорости 10°C/мин от температуры окружающей среды до 400°C. Над образцом поддерживают продувку азотом со скоростью 50 мл/мин. Использовали программу контроля оборудования и анализа данных STARe v9.10.
Термодинамическая растворимость в воде, определение методом ВЭЖХ	Растворимость в воде определяли путем суспендирования достаточного количества соединения в воде или буфере с получением максимальной конечной концентрации ≥ 1 мг.мл ⁻¹ исходного соединения в свободной форме. Количественное определение осуществляли при помощи ВЭЖХ со ссылкой на стандартную калибровочную кривую. Растворимость вычисляли с использованием площадей пиков, определенных путем интегрирования пика, обнаруженного при таком же времени удерживания, как основной пик в стандартной инъекции.
ГСП	Изотермы сорбции получали с использованием анализатора сорбции влаги SMS DVS Intrinsic, контролируемого программой SMS Analysis Suite. Температуру образца поддерживали при 25°C при помощи контроля оборудования. Влажность контролировали путем смешивания потоков сухого и влажного азота, при общей скорости потока 200 мл/минута. Относительную влажность измеряли при помощи калиброванного зонда Rotronic (динамический диапазон 0,1–100% % RH), расположенного вблизи образца. Изменение массы (релаксация массы) образца как функцию % относительной влажности постоянно контролировали с использованием микровесов (точность $\pm 0,005$ мг). Обычно 5–20 мг образца помещали в предварительно взвешенную проволочную корзину из нержавеющей стали в условиях окружающей среды. Образец загружали и выгружали при 40% относительной влажности и 25°C (типичные комнатные условия). Изотерму сорбции влаги получали как описано ниже (2 скана, дающие 1 полный цикл). Стандартную изотерму получали при 25°C при 10% RH интервалах в диапазоне 0,5–90% RH.

Микроскопия в поляризованном свете (PLM)	Образцы исследовали при помощи Leica DLM поляризационного микроскопа с цифровой видеокамерой для получения изображений. Небольшое количество каждого образца помещали на предметное стекло, фиксировали в иммерсионном масле и накрывали стеклянной полоской, при этом отдельные частицы разделялись насколько это возможно. Образец рассматривали при соответствующем увеличении и частично поляризованном свете, с использованием при этом λ фильтра искаженного цвета.
ДСК	Perkin Elmer DSC 7. Закрытые Au тигли, скорость нагрева: 10 или 20°C/минута, диапазон: -50°C до 250°C, или ДСК данные собирали на Mettler DSC 823e, снабженном автоматическим пробоотборником с 34 положениями. Прибор был откалиброван по энергии и температуре с использованием сертифицированного индия. Обычно 0,5-3 мг каждого образца, в алюминиевой чаше, нагревали при 10°C/мин от 25°C до 300°C. Над образцом поддерживали продувку азотом со скоростью 50 мл/мин. Использовали программу контроля оборудования и анализа данных STARe v9.10.
FT-IR	Данные собирали на Nicolet Avatar FT-IR спектрометре с вспомогательным устройством Smart DurasamplIR и контролировали с использованием программы Omnic.
ЯМР	^1H и ^{13}C спектры получали с использованием Varian Unity Inova 400 NMR спектрометра с 5мм инверсным тройным резонансным зондом, работающим при 400,12 МГц для протона. Образцы получали в d_6 -DMSO, если не указано иное. Инверсные ^{13}C ЯМР спектры получали с использованием спектрометра со стробированием Bruker DPX300 с использованием двойного $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ зонда, работающего при 75,46 МГц для углерода. Образец получали путем растворения ~50мг материала в d_6 -DMSO. D1 тридцать секунд использовали с 7168 сканами.
ТТ-ЯМР	Спектры ^{13}C ЯМР твердого тела записывали с использованием Varian VNMRS спектрометра, работающего при 100,56 МГц для ^{13}C , и с 6 мм (внешний диаметр) вращающегося под магическим углом (MAS) зонда. Их получали с использованием кроссполяризации и MAS с 30 сек задержкой повторного цикла, 1 мсек временем контакта и при скорости вращения образца 6,8 кГц. Спектры соотносили с внешним образцом чистого тетраметилсилана, путем настройки высокочастотной линии от адамантана до 38,5 млн.д. Измерения осуществляли на воздухе и при температуре окружающей среды (~25°C). Образцы анализировали в том виде, как их получали.

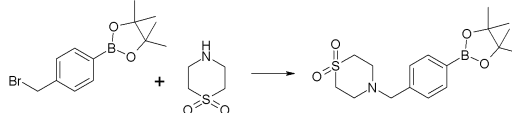
Распределение частиц по размерам (PSD) Лазерная дифракция	PSD определяли с использованием лазерной дифракции Sympatec с устройством для определения размера частиц HELOS/BF, снабженным устройством для диспергирования сухих веществ RODOS/ASPIROS, работающим при 2,5 бар, со скоростью скольжения 25 мм/сек, использовали комбинацию R1 0,1/0,18 мкм - 35 мкм и R3 0,5/0,9 мкм - 175 мкм линз для определения. Условия триггера: 1 мсек, 0,2%.
Рентгеновская порошковая дифракция	Bruker D2 Phaser Порошковые рентгеновские дифрактограммы получали на Bruker AXS D2 дифрактометре с использованием Cu K излучения (30 кВ, 10 мА), θ - θ геометрии, с использованием детектора Lynxeye 5-42° 2 θ . Для сбора данных использовали программу DIFFRAC.SUITE, и данные анализировали и представляли с использованием Diffrac Plus EVA v 13.0.0.2. Сбор данных: Угловой диапазон: 5 до 42° 2 θ ; размер шага: 0,012° 2 θ ; время сбора: 0,15 сек на шаг. <u>Подготовка образца:</u> Образцы, анализируемые в условиях окружающей среды, получали в форме плоских пластин с использованием порошка в том виде, как он был получен, без помола. Приблизительно 1-2 мг образца слегка прессовали на кремниевой подложке с получением плоской поверхности.

Синтез соли по настоящему изобретению

Пример 1. Получение соединения 1

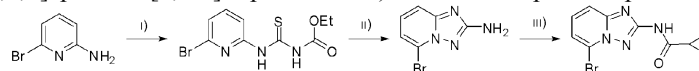
1.1 Путь 1

1.1.1 4-[4-(4,4,5,5-Тетраметил-[1,3,2]диоксаборолан-2-ил)бензил]тиоморфолин-1,1-диоксид



2-(4-Бромметил-фенил)-4,4,5,5-тетраметил-[1,3,2]диоксаборолан (1 экв.) и DIPEA (2 экв.) растворяли в смеси DCM/MeOH (5:1 об:об) в атмосфере N₂ и порциями добавляли тиоморфолин 1,1-диоксид (2 эквив.). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. По прошествии этого времени реакция завершалась. Растворитель выпаривали. Соединение экстрагировали при помощи EtOAc и воды, промывали насыщенным соевым раствором и сушили над безводным MgSO₄. Органические слои фильтровали и упаривали. Конечное соединение выделяли без дополнительной очистки.

1.1.2 (5-Бром-[1,2,4]триазоло[1,5-a]пиридин-2-ил)амид циклопропанкарбонической кислоты



1.1.2.1.

Стадия i): 1-(6-Бромпиридин-2-ил)-3-карбозтокси тиомочевина

К раствору 2-амино-6-бромпиридина (соединение 1) (253,8 г, 1,467 моль) в DCM (2,5 л), охлажденному до 5°C, добавляли по каплям этоксикарбонилзотиоцианат (173,0 мл, 1,467 моль) в течение 15 мин. Реакционную смесь затем оставляли нагреваться до комнатной температуры (20°C) и перемешивали в течение 16 ч. Выпаривание в вакууме давало твердое вещество, которое собирали при помощи фильтрации, тщательно промывали бензином (3×600 мл) и сушили на воздухе с получением желаемого продукта. Тиомочевину можно использовать непосредственно на следующей стадии без какой-либо очистки.

¹H (400 МГц, CDCl₃) δ 12,03 (1H, шир.с), 8,81 (1H, д), 8,15 (1H, шир.с), 7,60 (1H, т), 7,32 (1H, дд), 4,31 (2H, кв.), 1,35 (3H, т).

1.1.2.2.

Стадия ii): 5-Бром-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиридин-2-иламин

К суспензии гидроксиламингидрохлорида (101,8 г, 1,465 моль) в смеси EtOH/MeOH (1:1, 900 мл) добавляли N,N-диизопропилэтиламин (145,3 мл, 0,879 моль) и смесь перемешивали при комнатной температуре (20°C) в течение 1 ч. Затем добавляли 1-(6-бромпиридин-2-ил)-3-карбозтокситиомочевину (соединение 2) (89,0 г, 0,293 моль) и смесь медленно нагревали до кипения с обратным холодильником (Примечание: требуется осветляющий газопоглотитель, чтобы загасить выделяемый H₂S). Через 3 ч при кипении с обратным холодильником смеси давали охладиться и фильтровали для сбора осажденного твердого вещества. Далее продукт собирали при помощи упаривания фильтрата в вакууме, добавления H₂O (250 мл) и фильтрации. Объединенные твердые вещества промывали последовательно при помощи H₂O (250 мл), смеси EtOH/MeOH (1:1, 250 мл) и Et₂O (250 мл), затем сушили в вакууме с получением триазолопиридинового производного (соединение 3) в виде твердого вещества. Соединение можно использовать непосредственно на следующей стадии без какой-либо очистки.

¹H (400 МГц, DMSO-d₆) δ 7,43-7,34 (2H, м, 2× ароматический-H), 7,24 (1H, дд, J 6,8 и 1,8 Гц, ароматический-H), 6,30 (2H, шир., NH₂) ; m/z 213/215 (1:1, M+H⁺, 100%).

1.1.2.3.

Стадия iii): (5-Бром-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиридин-2-ил)амид циклопропанкарбоновая кислота

К раствору 2-аминотриазолопиридина, полученному на предыдущей стадии (7,10 г, 33,3 ммоль), в безводном MeCN (150 мл) при 5°C добавляли Et₃N (11,6 мл, 83,3 ммоль), с последующим добавлением циклопропанкарбонилхлорида (83,3 ммоль).

Реакционную смесь затем оставляли нагреваться до температуры окружающей среды и перемешивали, пока все исходное вещество не израсходовалось. При необходимости, добавляли дополнительное количество Et₃N (4,64 мл, 33,3 ммоль) и циклопропанкарбонилхлорида (33,3 ммоль) для обеспечения завершения реакции. После выпаривания растворителя в вакууме полученное твердое вещество обрабатывали 7 N раствором аммиака в метаноле (50 мл) и перемешивали при температуре окружающей среды (в течение 1-16 ч) для гидролиза любого бис-ацилированного продукта. Выделение продукта осуществляли путем удаления летучих веществ в вакууме с последующей обработкой при помощи Et₂O (50 мл). Твердые вещества собирали при помощи фильтрации, промывали H₂O (2×50 мл), ацетоном (50 мл) и Et₂O (50 мл), затем сушили в вакууме с получением желаемого соединения. 1.1.3.

Соединение 1



Соединение 1

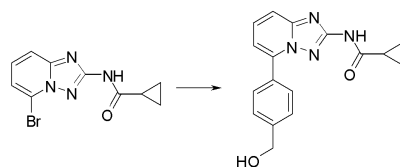
4-[4-(4,4,5,5-Тетраметил-[1,3,2]диоксаборолан-2-ил)бензил]тиоморфолин-1,1-диоксид (1,1 экв.) добавляли к раствору (5-бром-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиридин-2-ил)амида циклопропанкарбоновой кислоты в смеси 1,4-диоксан/вода (4:1). K₂CO₃ (2 экв.) и к раствору добавляли PdCl₂dppf (0,03 экв.). Полученную смесь затем нагревали в масляной бане при 90°C в течение 16 ч в атмосфере N₂. Добавляли воду и раствор экстрагировали этилацетатом. Органические слои сушили над безводным MgSO₄ и упаривали в вакууме.

Конечное соединение получали после очистки при помощи флэш-хроматографии.

Альтернативно, после завершения реакции добавляли поглотитель палладия, такой как 1,2-бис(дифенилфосфино)этан, реакционную смесь оставляли остывать и осуществляли фильтрацию. Фильтровальный слой повторно суспендировали в подходящем растворителе (например, ацетоне), твердое вещество отделяли при помощи фильтрации, промывали дополнительным количеством ацетона и сушили. Полученное твердое вещество повторно суспендировали в воде, добавляли водный раствор HCl и после перемешивания при комнатной температуре полученный раствор фильтровали на целите (Celite R300). Затем к фильтрату добавляли водный раствор NaOH и полученную суспензию перемешивали при комнатной температуре, твердое вещество отделяли при помощи фильтрации, промывали водой и сушили при помощи отсоса воздуха. В завершение, слой повторно солюбилизировали в смеси THF/H₂O, обрабатывали поглотителем палладия (например, SMOPEX 234) при 50°C, суспензию фильтровали, органический растворитель удаляли при помощи выпаривания и полученную суспензию промывали водой и метанолом, сушили и просеивали, с получением желаемого соединения в виде свободного основания.

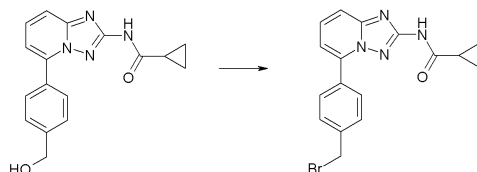
1.2. Маршрут 2

1.2.1 Стадия 1: [5-(4-гидроксиметилфенил)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиридин-2-ил]амид циклопропанкарбоновой кислоты



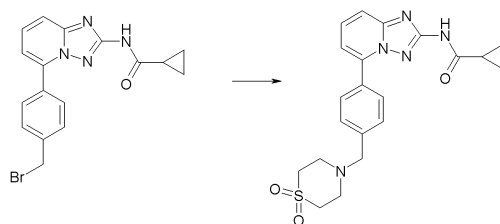
4-(Гидроксиметил)фенилбороновую кислоту (1,1 экв.) добавляли к раствору (5-бром-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиридин-2-ил)амида циклопропанкарбоновой кислоты в смеси 1,4-диоксан/вода (4:1). К раствору добавляли K_2CO_3 (2 экв.) и $PdCl_2dppf$ (0,03 экв.). Полученную смесь затем нагревали в масляной бане при $90^\circ C$ в течение 16 ч в атмосфере N_2 . Добавляли воду и раствор экстрагировали этилацетатом. Органические слои сушили над безводным $MgSO_4$ и упаривали в вакууме. Полученную смесь использовали без дополнительной очистки.

1.2.2. Стадия 2: [5-(4-Бромметилфенил)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиридин-2-ил]амид циклопропанкарбоновой кислоты



К раствору [5-(4-гидроксиметилфенил)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиридин-2-ил]амида циклопропанкарбоновой кислоты (1,0 экв.) в хлороформе медленно добавляли трибромид фосфора (1,0 экв.). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 20 ч, гасили льдом и водой (20 мл) и экстрагировали дихлорметаном. Органический слой сушили над безводным $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали досуха. Полученный белый остаток растирали в порошок в смеси дихлорметан/диэтиловый эфир 2:1 с получением желаемого продукта.

1.2.3. Стадия 3:



[5-(4-Бромметилфенил)-[1,2,4]триазоло[1,5-а]пиридин-2-ил]амид циклопропанкарбоновой кислоты (1 экв.) и DIPEA (2 экв.) растворяли в смеси DCM/MeOH (5:1 об:об) в атмосфере N_2 и добавляли по каплям тиоморфолин 1,1-диоксид (1,1 экв.). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 16 ч. По прошествии этого времени реакция завершалась. Растворитель выпаривали. Соединение растворяли в DCM, промывали водой и сушили над безводным $MgSO_4$. Органические слои фильтровали и упаривали. Конечное соединение выделяли при помощи колоночной хроматографии с использованием EtOAc с получением желаемого продукта.

Пример 2. Получение солей соединения 1.

2.1. Протокол 1

Растворитель добавляли к образцам соединения 1 (приблизительно 5 мг) в относительных объемах 10, 15 и 20 объемов и после каждого добавления образцы встряхивали при $50^\circ C$ в шейкере в течение 20 мин для стимуляции растворения, перед охлаждением до комнатной температуры для последующего добавления растворителя. Растворитель выбирали из изопропанола, этанола, метанола, изопропилацетата, THF, TBME, ацетона, метилэтилкетона, DCM и MeCN.

В этих условиях практически полное растворение соединения 1 происходило только в DCM.

После добавления 20 относительных объемов растворителя, к каждому образцу добавляли HCl (1 M раствор в THF) (12 мкл ~1 экв.) и осуществляли наблюдения. Образцы хранили в шейкере, с циклом нагрев - охлаждение ($50^\circ C$ /комнатная температура, 4 ч при каждой температуре) в течение 16 ч. Полученные твердые вещества выделяли при помощи вакуумной фильтрации, сушили под вакуумом и анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа.

Образование соли HCl наблюдали только в этаноле, метаноле, THF, ацетоне, метилэтилкетоне и MeCN.

2.2. Протокол 2

Соединение 1 (~20 мг) обрабатывали при помощи 400 мкл (20 объемов) растворителя (THF, ацетон) и обрабатывали водными растворами кислоты при комнатной температуре (см. табл. III ниже). Отобранные образцы помещали в камеру для созревания с циклическим изменением температуры от температуры окружающей среды до $50^\circ C$ с 4-часовым периодом в каждом температурных условиях. Через три дня твердые вещества выделяли при помощи фильтрации и любые растворы оставляли упариваться. Любые

образовавшиеся далее твердые вещества выделяли, или оставшиеся масла обрабатывали при помощи EtOAc и помещали обратно в камеру для созревания на четыре дня. Любые образовавшиеся далее твердые вещества выделяли при помощи фильтрации.

Твердые вещества анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа.

При использовании этого протокола, соли образовывались только в серной кислоте, рTSA, 1,2-этанedisульфоновой кислоте, 2-гидроксиэтансyльфоновой кислоте, нафталин 2-сyльфоновой кислоте и малеиновой кислоте.

Таблица III. Кислоты, используемые в протоколе 2

Кислота	Растворитель	Эквив. Кислоты
1-5-Нафталиндисульфоновая кислота	Вода	2, 1
серная кислота	Вода	2, 1
1-2-Этандисульфоновая кислота	Вода	2, 1
пара-Толуолсyльфоновая кислота	Вода	2, 1
Метансyльфоновая кислота	Вода	2, 1
1-5-Нафталиндисульфоновая кислота	Вода	1, 1
серная кислота	Вода	1, 1
1-2-Этандисульфоновая кислота	Вода	1, 1
пара-Толуолсyльфоновая кислота	Вода	1, 1
Метансyльфоновая кислота	Вода	1, 1
Нафталин-2-сyльфоновая кислота	Вода	1, 1
Бензолсyльфоновая кислота	Вода	1, 1
Щавелевая кислота	Вода	1, 1
2-Гидроксиэтансyльфоновая кислота	Вода	1, 1
Малеиновая кислота	Вода	1, 1
Фосфорная кислота	Вода	1, 1
Этансyльфоновая кислота	Вода	1, 1
Малоновая кислота	Вода	1, 1
2-5-Дигидроксибензойная кислота	THF	1, 1
L-Винная кислота	Вода	1, 1

2.3. Протокол 3

К суспензии соединения 1 (~25 мг) и растворителя (MeOH, THF, ацетон или DCM) (20 относительных объемов) при приблизительно 40°C добавляли 1,05 или 2,1 экв. кислоты (HCl, HBr, H₂SO₄, Ph-SO₃H, щавелевой кислоты, малеиновой кислоты или рTSA.H₂O) и визуально производили наблюдения. Образцы хранили в шейкере при 26°C в течение 14 ч. Отбирали аликвоту и твердое вещество выделяли при помощи вакуумной фильтрации, сушили под вакуумом и анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа. Смеси затем хранили в шейкере при 26°C в течение следующих 31 ч. Оставшееся твердое вещество из этих образцов, демонстрирующее порошковые рентгеновские дифрактограммы кристаллического вещества, отличные от свободного основания, выделяли при помощи вакуумной фильтрации и далее осуществляли анализ (ДСК, ЯМР, Стабильность).

Остаток каждого образца хранили в шейкере с циклом нагрев/охлаждение (50°C/комнатная температура, 4 ч при каждой из температуре) в течение 136 ч. Затем снова отбирали аликвоту каждого образца и твердое вещество выделяли при помощи вакуумной фильтрации, сушили под вакуумом и анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа. Оставшееся твердое вещество из этих образцов, демонстрирующее порошковые рентгеновские дифрактограммы кристаллического вещества, отличные от свободного основания, выделяли при помощи вакуумной фильтрации и далее осуществляли анализ (ДСК, ЯМР, Стабильность).

Образцы, которые остались в растворе, оставляли медленно упариваться при температуре окру-

жающей среды до испарения растворителя, и любое из образованных твердых веществ выделяли и анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа.

При использовании этого протокола, соли образовывались только в HBr, HCl, серной кислоте, pTSA и малеиновой кислоте.

2.4. Протокол 4

2.4.1. HCl

HCl (1 М раствор в THF) (655 мкл, 0,65 ммоль, 1,1 экв.) добавляли к перемешиваемой суспензии соединения 1 (252,6 мг, 0,59 ммоль, 1 экв.) и метанола (5,05 мл, 20 объемов) при 50°C. Смесь охлаждали до 25°C со скоростью 1°C/мин и перемешивали при 25°C в течение 22 ч.

Твердое вещество выделяли при помощи вакуумной фильтрации и сушили под вакуумом.

Порошковый рентгеноструктурный анализ подтвердил образование стабильной негигроскопичной соли, содержащей 4-5% воды, имеющей растворимость в воде, измеренную при 1,9 мг/мл.

2.4.2. Малеиновая кислота

Соединение 1 (246,4 мг, 0,58 ммоль, 1 экв.) суспендировали в растворе 5% воды в ацетоне (4,95 мл, 20 объемов) при 25°C и образец нагревали до 50°C. Малеиновую кислоту (1 М раствор в THF) (1,2 мл, 1,22 ммоль, 2,1 экв.) добавляли к перемешиваемой суспензии при 50°C. Смесь охлаждали до 25°C при скорости 1°C/мин и перемешивали при 25°C в течение 22 ч.

Твердое вещество выделяли при помощи вакуумной фильтрации и сушили под вакуумом.

Порошковый рентгеноструктурный анализ подтвердил образование стабильной негигроскопичной соли, имеющей растворимость в воде, измеренную при 0,4 мг/мл.

2.4.3. pTSA

pTSA (1 М раствор в EtOH) (1,3 мл, 1,3 ммоль, 2,2 экв.) добавляли к перемешиваемой суспензии соединения 1 (250,7 мг, 0,59 ммоль, 1 экв.) и THF (5 мл, 20 объемов) при 50°C. Смесь охлаждали до 25°C при скорости 1°C/мин и перемешивали при 25°C в течение 22 ч.

Твердое вещество выделяли при помощи вакуумной фильтрации и сушили под вакуумом.

Порошковый рентгеноструктурный анализ подтвердил образование соли, которая оказалась нестабильной.

2.5. Комплементарный анализ соли

Твердые вещества, выделенные с использованием этого протокола, также подвергали анализу для определения чистоты, эквивалента соли (IC), ЯМР (остаточный растворитель), ДСК, ТГА (сольваты) и оценке стабильности (1 неделя при 40°C/75% относительной влажности).

2.5.1. Определение pKa

Данные собирали на устройстве Sirius GlpKa с приложением D-PAS. Измерения производили при 25°C в водном растворе при помощи УФ и в смесях метанол-вода методом потенциометрии. Ионную силу среды для титрования регулировали при помощи 0,15 М раствора KCl (водный раствор). Значения, найденные в смесях метанол-вода, корректировали до 0% соразтворителя методом экстраполяции Ясуда-Шедловски.

Данные уточняли с использованием программы Refinement Pro.

Следуя этой процедуре, получали следующие значения: 1,58±0,01, 3,68±0,02 и 12,02±0,01.

2.5.2. Определение pH

Измерения уровня pH осуществляли на испытываемом веществе в виде суспензии. Обычно 1 мл диминерализованной воды добавляли к около 300 мг испытываемого вещества и суспензию затем перемешивали. Если получали недостаточно жидкости или слишком высокую вязкость для измерения уровня pH с использованием pH электрода, то количество воды увеличивали до возможности измерения с порциями 1 мл. pH Электрод откалибровывали с использованием трехточечной калибровки.

В завершение, pH регистрировали на момент начала (= по прошествии 2 мин, чтобы учитывать относительно стабильные измерения pH).

2.5.3. Исследование растворимости

2.5.3.1. Протокол

Растворимость соединения определяли в различных растворителях путем уравнивания избытка продукта в течение по меньшей мере 24 ч при 20°C на ротационном шейкере. Перенасыщенный раствор затем фильтровали и концентрацию продукта в фильтрате определяли с использованием УФ-спектрометрии.

В воде pH доводили до уровня pH 2, pH 7 и pH 9. HCl и NaOH использовали для регулирования pH.

2.5.3.2. Результаты

Например, при использовании этого протокола, полученные показатели растворимости свободного основания и соответствующей HCl соли приведены ниже в табл. IV. Неожиданно, переход от соединения 1 к соединению 1.HCl.3H₂O не приводит систематически к улучшению растворимости.

Таблица IV. Растворимость соединения 1 в виде свободного основания и соответствующей HCl соли в различных растворителях

Растворитель	Соединение 1 Растворимость (мг/мл)	Соединение 1.HCl.3H ₂ O Растворимость (мг/мл)
Ацетон	0,420	0,415
Ацетонитрил	0,605	7,36
Ацетонитрил/вода (1/1)	1,57	25,6
Ацетонитрил/вода (4/1)	3,11	7,81
Дихлорметан	5,66	0,388
Этанол	0,151	0,764
0,005M HCl	0,252	3,10
0,01M HCl	0,288	2,34
0,01M HCl + 2,0% Tween 80	0,313	2,79
HP-β-CD 40% pH2	0,577	7,88
HP-β-CD 40% pH3	0,550	9,33
HP-β-CD 40% pH4	0,520	2,79
Метанол	0,432	0,743
PEG400	1,53	36,6
Пропанол	0,134	0,663
Пропиленгликоль	0,464	11,7
трет-бутилметилловый эфир	<0,00239	0,0263
Тетрагидрофуран	0,740	0,208
Вода (очищенная)	0,00384	3,17
Вода pH2	0,291	8,05
Вода pH7	0,00432	2,26
Вода pH9	0,00429	2,68
Вода/этанол 1/1	0,327	8,68

2.5.4. Выводы

Как продемонстрировано выше, растворимость соединения 1 сильно изменяется в зависимости от используемого растворителя, и образование соли необязательно происходит с каждой кислотой, иллюстрируя сложность выбора удовлетворительного сочетания растворителя и кислоты, которое является специфическим для соединения 1.

Пример 3. Исследование полиморфизма

3.1. Соединение 1

3.1.1. Образование аморфного соединения 1

Соединение 1 (38 мг) нагревали в устройстве для анализа ДСК в атмосфере азота в соответствии со следующей процедурой:

- 1) Нагревали от 30°C до 250°C при скорости 10°C/мин;
- 2) Поддерживали изотермический режим в течение 1 мин;
- 3) Охлаждали от 250 до 30°C при скорости 100°C/мин и
- 4) Поддерживали изотермический режим в течение 4 мин.

При помощи порошкового рентгеноструктурного анализа подтверждали, что полученное твердое вещество является аморфным.

3.1.2. Исследование полиморфизма

Аморфное соединение подвергали воздействию сорока различных растворителей (этилформиат, ТВМЕ, ацетон, метилацетат, метанол, тетрагидрофуран, диизопропиловый эфир, этилацетат, этанол, метилэтилкетон, ацетонитрил, t-BuOH, 2-пропанол, 1-2-диметоксиэтан, изопропилацетат, 1-пропанол, 2-бутанол, нитрометан, 1-4-диоксан, пропилацетат, 2-пентанон, 2-метил-1-пропанол, толуол, изобутилацетат, метилизобутилкетон, 1-бутанол, 2-метоксиэтанол, бутилацетат, метилбутилкетон, 3-метил-1-бутанол, 2-этоксизетанол, 1-пентанол, анизол, бензонитрил, нитробензол, IPA + 5% вода, EtOH + 5% вода, MeCN + 5% вода, THF + 5% вода и ацетон + 5% вода), с циклическим изменением температуры от температуры окружающей среды до 50°C по 4 ч в каждом состоянии. Через пять дней твердые вещества собирали при помощи фильтрации и сначала анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа.

3.1.3. Результаты анализа полиморфизма соединения 1

При использовании этого протокола, полученные твердые вещества анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа, и следующие наиболее стабильные образцы перечислены в

табл. V, табл. VI и табл. VII ниже.

Таблица V. Образец 1 порошковой рентгеновской дифрактограммы соединения 1 (фиг. 1)

Угол ($2\theta^\circ$)	Интенсивность (%)
16,8	100,0
9,4	30,4
9,6	14,0
13,1	26,2
14,3	12,2
17,3	12,4
18,4	9,5
18,7	13,0
19,0	43,8
20,6	9,1
20,8	15,3
21,3	20,5
23,8	18,0
24,6	14,3
25,2	5,8
29,7	8,7

Таблица VI. Образец 3 порошковой рентгеновской дифрактограммы соединения 1 (фиг. 2)

Угол ($2\theta^\circ$)	Интенсивность (%)
8,6	52
9,7	24,6
10,6	35,5
13,0	39,4
15,3	61,7
16,9	40
17,3	45,6
17,7	50,3
17,9	14,1
18,3	10,9
18,9	100
19,3	21,4
19,6	12,6
19,8	28,1
20,0	28,7
20,3	13,9
20,8	52,2
23,0	37
23,5	15,4
23,9	50,1
24,4	23,8
25,0	14,1
29,1	15
33,5	32,3
34,9	23,6

Таблица VII. Образец 4 порошковой рентгеновской дифрактограммы соединения 1 (фиг. 3)

Угол ($2\theta^\circ$)	Интенсивность (%)
7,2	100
8,2	56,9
10,9	85
14,4	23,5
15,3	13,3
16,4	26,4
17,4	61,3
18,4	75,7
18,5	89,6
18,8	69,6
19,2	32,3
19,9	58,6
20,2	46,1
20,5	42,9
21,8	18,4
22,7	24,7
25,4	55,2
27,5	47,6
28,2	18,6
30,7	13,9
32,5	16,3

3.2. Полиморфизм HCl соли соединения 1 и ее сольватов

3.2.1. Образование аморфной HCl соли соединения 1

Соединение 1 (25,47 мг) смешивали с водой (70 мл, ~2750 относительных объемов) и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 мин. Смесь фильтровали через 0,45 мм шприцевой фильтр с ПВДФ (поливинилиденфторид) мембраной и замораживали в бане с температурой -78°C . Растворитель удаляли с использованием сублимационной сушилки с получением моно-HCl соли аморфного соединения 1 (подтверждали при помощи XRPD, температура стеклования 149°C (модулированной ДСК анализ)).

3.2.2. Протоколы исследования

Объемы 25 различных растворителей (ацетон, анизол, бутанол, бутилацетат, TBME, DMSO, этанол, этилацетат, гептан, изопропилацетат, MEK, изопропилацетат, MeCN, циклогексан, DCM, диоксан, метанол, нитрометан, THF, метил THF, толуол, вода, 10% водный раствор ацетона, 10% водный раствор THF и 10% метанол), добавляли к аморфной моно-HCl соли соединения 1, при этом указанные объемы находились в диапазоне от 125 мкл (5 относительных объемов) до 1 мл (40 относительных объемов), или пока не наблюдали подвижную суспензию или практически полное растворение. Образец хранили в шейкере с циклом нагрев/охлаждение (50°C /комнатная температура, 4 ч) в течение 23 ч.

Через 23 ч, когда образовывалось твердое вещество, отбирали аликвоту и твердое вещество выделяли при помощи вакуумной фильтрации, а оставшуюся суспензию выдерживали в шейкере с циклом нагрев/охлаждение (50°C /комнатная температура, 4 ч). Твердое вещество из аликвоты сушили под вакуумом в течение 30 мин и анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа, затем сушили дополнительно в вакуумной печи при 30°C и 5 мбар в течение 34 ч и повторно анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа. В завершение, высушенный образец хранили при $40^\circ\text{C}/75\%$ относительной влажности в течение 72 ч и повторно анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа.

Через 47 ч, когда образовывалось твердое вещество в суспензии, отбирали аликвоту и твердое вещество выделяли при помощи вакуумной фильтрации, а оставшуюся суспензию выдерживали в шейкере с циклом нагрев/охлаждение (50°C /комнатная температура, 4 ч). Твердое вещество из аликвоты хранили в условиях окружающей среды в течение 72 ч и 14 дней с осуществлением XRPD анализа в каждой точке времени. Твердое вещество, которое хранили в условиях окружающей среды в течение 14 дней, затем хранили при $40^\circ\text{C}/75\%$ относительной влажности в течение 43 ч и повторно анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа.

Через 143 ч, когда образовывалось твердое вещество, отбирали аликвоту из оставшейся суспензии, хранящейся в шейкере с циклом нагрев/охлаждение (50°C /комнатная температура, 4 ч), и твердое вещество выделяли при помощи вакуумной фильтрации, сушили под вакуумом в течение 2 ч, затем анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа. Выделенное твердое вещество сушили в вакуумной печи при 30°C и 5 мбар в течение 20 ч и повторно анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа. Высушенный образец хранили при $40^\circ\text{C}/75\%$ относительной влажности в течение 114 часов и повторно анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа.

3.2.3. Результаты

В результате этого исследования были выявлены две стабильные формы.

3.2.3.1. Соединение 1.HCl

HCl (3,6 М раствор в диоксане) (2,5 мл, 9,05 ммоль, 1,1 экв.) порциями добавляли к перемешиваемой суспензии аморфного соединения 1 (3,499 г, 8,22 ммоль, 1 экв.) и метанола (70 мл, 20 относительных объемов) при 50°C в течение 2 мин. Смесь охлаждали до 20°C при скорости 0,1°C/мин и перемешивали при 20°C в течение следующих 10 ч. Смесь охлаждали до 15°C при скорости 0,5°C/мин и перемешивали в течение 30 мин. Полученное твердое вещество выделяли при помощи вакуумной фильтрации, промывали метанолом (2×3,5 мл, 1×7 мл) и сушили под вакуумом с получением соединения 1.HCl.

3.2.3.2. Соединение 1.HCl.3H₂O

HCl (1 М раствор в THF) (250 мкл, 0,25 ммоль, 1,05 экв.) добавляли к суспензии аморфного соединения 1 (100,37 мг, 0,24 ммоль, 1 экв.) и DCM (2 мл, 20 относительных объемов) при 40°C. Смесь хранили в шейкере с циклом нагрев/охлаждение (40°C/комнатная температура, 4 ч) в течение 70 ч. Твердое вещество выделяли при помощи вакуумной фильтрации и сушили под вакуумом с получением соединения 1.HCl.3H₂O.

3.2.3.3. Анализ

Дифракционные рентгенограммы раскрыты ниже в табл. VIII и табл. IX.

Таблица VIII. Порошковая рентгеновская дифрактограмма соединения 1.HCl (фиг. 4)

Угол (2θ°)	Интенсивность (%)
7,4	100,0
8,9	15,6
12,4	21,3
14,8	61,1
15,1	31,7
16,9	15,9
17,6	27,7
19,4	11,4
20,7	43,4
21,1	11,9
22,8	14,6
24,9	12,3
26,0	12,3
28,6	14,2
29,8	27,3
32,6	10,2

Таблица IX. Порошковая рентгеновская дифрактограмма соединения 1.HCl.3H₂O (фиг. 5)

Угол (2θ°)	Интенсивность (%)
7,3	61,4
8,4	35,3
8,8	62,8
10,7	26,3
12,0	22,5
12,2	18,1
13,2	23,6
13,7	16,1
14,5	14,0
16,3	31,0
16,7	100,0
17,6	11,3
19,3	20,8
20,2	87,5
20,6	16,4
21,0	18,0
21,4	52,0
21,8	58,8
22,8	45,0
23,4	57,5
23,9	10,6
24,5	10,8
25,2	21,7
25,7	35,3
25,9	33,1
26,4	11,7
27,2	13,0
27,7	16,6
28,3	10,8
28,6	19,3
28,9	17,2
29,2	20,2
29,6	47,6
32,7	26,1

3.2.3.4. Рентгеноструктурный анализ соединения 1.HCl.3H₂O (фиг. 11)

Соединение 1.HCl.3H₂O перекристаллизовывали из смеси ацетон:вода (1:1). Результаты показаны ниже в табл. X.

Таблица X. Монокристаллическая структура соединения 1.HCl.3H₂O

Молекулярная формула	C ₂₁ H ₂₄ N ₅ O ₃ S·Cl·3 (H ₂ O)				
Молекулярная масса	516,02				
Кристаллическая система	Моноклиная				
Группа симметрии кристаллической решетки	P2 ₁ /n	a	13,1388 (4) Å	α	102,089 (2) °
		b	8,9437 (3) Å	β	
		c	21,6376 (9) Å	γ	
V	2486,24 (15) Å ³				
Z	4				
D _c	1,379 мг/м ³				
μ	0,284 мм ⁻¹				
Источник	Mo-Kα, 0,71073 Å				
F(000)	1088				
T	120(2) К				
Кристалл	бесцветная призма, 0,39×0,16×0,12 мм				
Диапазон θ для сбора данных	2,982–27,483°				
Полнота	99,3%				
Отражения	21028				
Уникальные отражения	5649				
R _{int}	0,0307				

Метод обработки данных основан на методе наименьших квадратов в полноматричном приближении по F^2 .

$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0,0377$ и $wR(F^2) = 0,0837$. Точность приближения (S) = 1,109. В методе обработки данных использовали 5649 отражений, 339 параметров и 0 ограничений. Все положения водорода идентифицировали с использованием разностной карты, и те атомы, которые присоединены к атомам C & атомам N, затем помещали в расчетные положения и уточняли с использованием модели движения. Те водороды, которые связаны с кислородом воды и азотом, легко уточняли. Конечные значения $\Delta_{\text{pmax}} = 0,314 \text{ e \AA}^{-3}$ и $\Delta_{\text{pmin}} = -0,368 \text{ e \AA}^{-3}$.

Кристаллическая структура соединения $1.\text{HCl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (фиг. 11) показывает неожиданное включение молекул воды в кристаллической решетке, которые могут обеспечить дальнейшую стабилизацию системы.

Пример 4. Крупномасштабное получение соединения $1.\text{HCl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

4.1. Протокол 1

К соединению 1 (44 кг, 1,0 экв.) в инертной атмосфере добавляли воду (15 относительных объемов, 1000 л) и смесь перемешивали при 50°C. 3,5 экв. водного раствора HCl (5 относительных объемов) добавляли в течение 10-15 мин, при максимальной температуре 55°C. После завершения добавления перемешивание продолжали при 50°C в течение 15 мин и реакционную смесь затем охлаждали до 15°C и перемешивали при этой температуре в течение по меньшей мере 12 ч, но не более чем 24 ч.

Полученное твердое вещество выделяли при помощи фильтрации и фильтровальный слой промывали водой (2,0 относительных объема) и фильтровальный слой сушили в атмосфере азота в течение по меньшей мере 4 ч с получением желаемого продукта.

4.2. Протокол 2

К соединению 1 (45 г, 106 ммоль, 1 экв.) в инертной атмосфере добавляли DCM (675 мл) и метанол (225 мл). Полученную суспензию нагревали до 35°C при перемешивании и добавляли 15% водный раствор тримеркаптотриазин тринариевой соли (22,5 г, 14 ммоль, 0,13 экв.) и полученный раствор перемешивали в течение 5 ч, после этого раствор фильтровали на фильтровальной бумаге 0,45 мкм в атмосфере азота.

К фильтрату добавляли воду (50 мл) и полученную двухфазную смесь перемешивали при 35°C в течение 15 мин, после этого фазы разделяли и органический слой оставляли остывать до 20°C и промывали еще два раза 50 мл воды.

Органический слой охлаждали до 15-20°C, затем в течение 30 мин добавляли 10% раствор HCl в метаноле (42,4 г, 116 ммоль, 1,10 экв.), вызывающий осаждение твердого вещества. Суспензию далее перемешивали при 20°C в течение 3 ч, затем осадок выделяли при помощи фильтрации, фильтровальный слой промывали метанолом (2×50 мл) с получением желаемого соединения, которое сушили под вакуумом при 45°C в течение 3 ч. Фильтровальный слой затем ресуспендировали в воде (220 мл) и перемешивали в течение 6 ч при 50°C и затем охлаждали до 15-20°C. Полученное твердое вещество отделяли при помощи фильтрации и фильтровальный слой промывали водой (2×30 мл) и сушили при 45°C в течение 3 ч с получением желаемого продукта.

4.3. Протокол 3

4.3.1. Стадия 1: Соединение $1.\text{HCl} \cdot \text{MeOH}$

К соединению 1 (100 г, 235 ммоль, 1 экв.), суспендированному в DCM (1,5 л), добавляли MeOH (0,5 л) и полученный раствор нагревали до 35°C. Добавляли 85% раствор тримеркаптотриазин тринария (8,7 г, 3 ммоль, 0,13 экв.) в воде (42 мл) и полученную смесь перемешивали при 35°C в течение по меньшей мере 5 ч. Раствор затем фильтровали на фильтровальной бумаге 0,45 мкм в атмосфере азота.

К полученному раствору добавляли воду (150 г), перемешивали при 35°C в течение 15-30 мин и двухфазную смесь разделяли. Органический слой снова два раза промывали водой (2×150 г).

В завершение, добавляли раствор HCl в MeOH (10% мас./мас.) (141 г) и суспензию перемешивали при 20°C в течение 3 ч и полученное твердое вещество выделяли при помощи фильтрации, фильтровальный слой промывали при помощи MeOH (2×118 г), сушили под вакуумом в течение 3 ч при 45°C с получением соединения $1.\text{HCl} \cdot \text{MeOH}$, которое анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа. (табл. XI).

4.3.2. Стадия 2: Соединение $1.\text{HCl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

К муравьиной кислоте (200 г, 1,6 эквив.) в воде (36 г, 0,4 экв.) добавляли соединение $1.\text{HCl} \cdot \text{MeOH}$ (100 г, 1 экв.), полученное на стадии 1 выше. Полученную смесь нагревали до 55°C при перемешивании и раствор фильтровали через 0,45 мкм фильтровальный картридж. Добавляли 85% водный раствор муравьиной кислоты (200 г) и смесь охлаждали до 28-32°C при осторожном перемешивании.

Затем добавляли воду (100 г), с последующим добавлением соединения $1.\text{HCl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (1 г), вызывая осаждение соединения $1.\text{HCl} \cdot 1,5\text{HCO}_2\text{H}$, которое анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа (табл. XII).

При перемешивании при 28-32°C, добавляли порциями воду (2 л), 8 порций по 100 мл, 1 порцию 200 мл и 2 порции по 500 мл.

Полученную суспензию затем фильтровали, фильтровальный слой промывали водой (2×100 мл) и сушили при 30-35°C с получением соединения 1.HCl.3H₂O, которое анализировали при помощи порошкового рентгеноструктурного анализа и ДСК. (фиг. 5 и фиг. 7)

Таблица XI. Порошковая рентгеновская дифрактограмма соединения 1.HCl.MeOH (фиг. 8)

Угол (2θ°)	Интенсивность (%)
7,1	100
14,4	37,9
16,6	8,9
17,3	5,1
18,9	4,3
23,4	4,8
24,8	5,1
29,0	10,4

Таблица XII. Порошковая рентгеновская дифрактограмма соединения 1.HCl.HCOOH (фиг. 9)

Угол (2θ°)	Интенсивность (%)
7,1	100
14,4	76,4
14,8	17,1
16,4	25,1
17,4	42,8
18,6	20,6
20,8	13,1
23,4	14,1
24,5	16,1
24,9	13,4
29,0	39,8

Пример 5. Испытание стабильности соединения 1.HCl.3H₂O

5.1. Ускоренное испытание стабильности

5.1.1. Протокол

Образцы соединения 1.HCl.3H₂O хранили в условиях для оценки химической стабильности и физической стабильности, как описано в табл. XIII.

Таблица XIII. Условия для определения стабильности

Условия для определения химической стабильности	Условия для определения физической стабильности
25°C/60% относительная влажность/Открытый реципиент	Комнатная температура/<5% относительная влажность/Открытый реципиент
40°C/75% относительная влажность/Открытый реципиент	Комнатная температура/56% относительная влажность/Открытый реципиент
50°C/Закрытый реципиент	RT/75% относительная влажность/Открытый реципиент

Образцы отбирали при T₀, затем каждый месяц в течение трех месяцев и анализировали при помощи FT-IR, ДСК и XRPD.

5.2. Длительное испытание стабильности

5.2.1. Протокол

Образцы испытываемых соединений хранили в условиях для оценки химической стабильности и физической стабильности, как описано ниже в табл. XIV:

Таблица XIV. Условия испытания стабильности

Модель	Температура (°C)/относительная влажность (%) /реципиент
Холодные условия	5°C/ _/Закрытый реципиент
Длительное хранение	25°C/60% относительная влажность/Открытый реципиент
Промежуточные условия	30°C/65% относительная влажность/Открытый реципиент
Ускоренные условия	40°C/75% относительная влажность/Открытый реципиент

Образцы отбирали при T0, затем каждый месяц в течение 12 месяцев, затем в точках времени 18, 24 и 36 месяцев; и каждую из аликвот затем анализировали при помощи ВЭЖХ, титрования по методу Карла Фишера, FT-IR, ДСК и XRPD.

5.3. ГСП анализ соединения 1.HCl.3H₂O

ГСП анализ осуществляли в целях оценки стабильности соединения 1.HCl.3H₂O, и он представлен на фиг. 6. Эволюцию вещества отслеживали при помощи XRPD в разные точки времени.

При повышенной относительной влажности не наблюдали никаких изменений в форме. Соединение 1.HCl.3H₂O претерпевало дегидратацию до безводного соединения 1.HCl при нагревании выше 60°C или при относительной влажности менее чем 10%. Регидратация до соединения 1.HCl.3H₂O происходила при охлаждении до температуры окружающей среды или под воздействием относительной влажности 20% или более.

5.3.1. Выводы

К удивлению, Соединение 1.HCl.3H₂O может подвергаться дегидратации до соединения 1.HCl, но преобразуется обратно в более стабильную форму тригидрата соединения 1.HCl.3H₂O в обычных условиях. Это не могло быть предсказано специалистом в данной области.

Биологические примеры

Пример 6. Анализы in vitro

6.1. Анализ ингибирования JAK1-киназы

Каталитический домен рекомбинантной человеческой JAK1-киназы (аминокислоты 850-1154; каталожный номер 08-144) закупают у компании Cerna Biosciences. 10 нг JAK1-киназы инкубируют с 12,5 мкг субстрата polyGT (Sigma, каталожный номер P0275) в буферном растворе для киназной реакции (конечные концентрации: 15 мМ Трис-HCl pH 7,5, 1 мМ ДТТ, 0,01% Твин-20, 10 мМ MgCl₂, 2 мкМ нерадиоактивного АТФ), 0,25 мкКи 33P-γ-АТФ (GE Healthcare, каталожный номер AN9968)) с или без 5 мкл, содержащими испытываемое соединение или носитель (DMSO, конечная концентрация 1%), в общем объеме 25 мкл, в полипропиленовом 96-луночном планшете (Greiner, V-образная форма дна). По истечении 45 мин при 30°C реакции останавливают посредством добавления 25 мкл/луночка 150 мМ фосфорной кислоты. Все остановленные киназные реакции переносят на предварительно промытые (75 мМ раствор фосфорной кислоты) 96-луночные фильтр-планшеты (Perkin Elmer, каталожный номер 6005177) с использованием харвестера клеток (Perkin Elmer). Планшеты промывают 6 раз при помощи 300 мкл/луночка 75 мМ раствора фосфорной кислоты и дно планшетов герметизируют. Добавляют 40 мкл/луночка сцинтилляционной жидкости Microscint-20, верхнюю часть планшетов герметизируют и выполняют считывание с использованием сцинтилляционного счетчика Topcount (Perkin Elmer). Киназную активность рассчитывают путем вычитания числа импульсов в минуту (срм), полученного в присутствии ингибитора положительного контроля (10 мкМ стауроспорина) из числа импульсов в минуту (срм), полученного в присутствии носителя. Способность испытываемого соединения ингибировать эту активность определяют следующим образом:

Ингибирование, выраженное в %=((срм, определенное для образца в присутствии испытываемого соединения - срм, определенное для образца с ингибитором положительного контроля)/(срм, определенное в присутствии носителя - срм, определенное для образца с ингибитором положительного контроля))-100%.

Осуществляют серийные разведения для получения доз соединений, которые могут быть испытаны для определения эффектов доза-ответ в анализе JAK1-киназы и расчета IC₅₀ для каждого соединения. Каждое соединение обычно испытывают при концентрации 20 мкМ с последующим серийным разведением 1/3, 8 точек (20 мкМ - 6,67 мкМ - 2,22 мкМ - 740 нМ - 247 нМ - 82 нМ - 27 нМ - 9 нМ) в конечной концентрации DMSO 1%. При повышении активности серийных разведений соединения осуществляют дальнейшие разведения и/или снижают верхнюю концентрацию (например, 5 мкМ, 1 мкМ).

Следующие соединения были испытаны на их активность против JAK1-киназы, и значения IC₅₀ значения, определенные в описанных анализах, представлены ниже в табл. XV.

Таблица XV. Значения IC₅₀ для соединений в отношении JAK1-киназы

G#	Соединение №	JAK1 IC ₅₀ (нМ)
G146034	1	47,07, 55,66, 50,1, 48,29

6.2. Анализ определения Ki JAK1

Для определения значения Ki различные количества соединения смешивают с ферментом, и затем следует ферментная реакция как функция концентрации АТФ. Ki определяют при помощи графика двойной обратной зависимости Km от концентрации соединения (график Лайнвивера и Берка). В анализе используют 1 нг JAK1-киназы (Invitrogen, PV4774). Субстрат представляет собой 50 нМ Ulight-JAK-1 (Tyr1023) Пептид (Perkin Elmer, TRF0121). Реакцию осуществляют в 25 мМ MOPS pH 6,8, 0,01%, 2 мМ ДТТ, 5 мМ MgCl₂ Brij-35, с различными концентрациями АТФ и соединения. Фосфорилированный субстрат измеряют с использованием Eu-меченого анти-фосфотирозин антитела PT66 (Perkin Elmer, AD0068). Считывание данных осуществляют на приборе Envision (Perkin Elmer) с возбуждением при 320 нм и эмиссией при 615 и 665 нм.

Например, когда Соединение 1 испытывали в этом анализе, то измеренное значение K_i составляло 39 нМ.

6.3. Анализ ингибирования JAK2

Каталитический домен рекомбинантного человеческого JAK2 (аминокислоты 808-1132; каталожный номер PV4210) закупают у компании Invitrogen. 0,025 мЕд. JAK2 инкубируют с 2,5 мкг субстрата polyGT (Sigma, каталожный номер P0275) в буфере для киназной реакции (конечные концентрации: 5 мМ MOPS (3-N-морфолинпропансульфоновая кислота) pH 7,5, 9 мМ MgAc, 0,3 мМ EDTA, 0,06% Brij (неионное ПАВ) и 0,6 мМ ДТТ, 1 мкМ нерадиоактивного АТФ, 0,25 мКи 33Р-γ-АТФ (GE Healthcare, каталожный номер АН9968)) с или без 5 мкл, содержащими испытываемое соединение или носитель (DMSO, конечная концентрация 1%), в общем объеме 25 мкл, в полипропиленовом 96-луночном планшете (Greiner, V-образная форма дна). По истечении 90 мин при 30°C реакции останавливают посредством добавления 25 мкл/лунока 150 мМ фосфорной кислоты. Все остановленные киназные реакции переносят на предварительно промытые (75 мМ раствор фосфорной кислоты) 96-луночные фильтр-планшеты (Perkin Elmer, каталожный номер 6005177) с использованием харвестера клеток (Perkin Elmer). Планшеты промывают 6 раз при помощи 300 мкл/лунока 75 мМ раствора фосфорной кислоты и дно планшетов герметизируют. Добавляют 40 мкл/лунока сцинтилляционной жидкости Microscint-20, верхнюю часть планшетов герметизируют и выполняют считывание с использованием сцинтилляционного счетчика Topcount (Perkin Elmer). Киназную активность рассчитывают путем вычитания числа импульсов в минуту (cpm), полученного в присутствии ингибитора положительного контроля (10 мкМ стауроспорина), из числа импульсов в минуту (cpm), полученного в присутствии носителя. Способность испытываемого соединения ингибировать эту активность определяют следующим образом:

Ингибирование, выраженное в % = $\frac{(\text{cpm, определенное для образца в присутствии испытываемого соединения} - \text{cpm, определенное для образца с ингибитором положительного контроля})}{(\text{cpm, определенное в присутствии носителя} - \text{cpm, определенное для образца с ингибитором положительного контроля})} \cdot 100\%$.

Осуществляют серийные разведения для получения доз соединений, которые могут быть испытаны для определения эффектов доза-ответ в анализе JAK2-киназы и расчета IC_{50} для каждого соединения. Каждое соединение обычно испытывают при концентрации 20 мкМ с последующим серийным разведением 1/3, 8 точек (20 мкМ - 6,67 мкМ - 2,22 мкМ - 740 нМ - 247 нМ - 82 нМ - 27 нМ - 9 нМ) в конечной концентрации DMSO 1%. При повышении активности серийных разведений соединения осуществляют дальнейшие разведения и/или снижают верхнюю концентрацию (например, 5 мкМ, 1 мкМ).

Следующие соединения были испытаны на их активность против JAK2-киназы, и значения IC_{50} значения, определенные в описанных анализах, представлены ниже в табл. XVI.

Таблица XVI. Значения IC_{50} для соединений в отношении JAK2

G#	Соединение №	JAK2 IC_{50} (нМ)
G146034	1	31, 37, 41, 16, 55, 49, 167, 34

6.4. Анализ определения K_d JAK2

JAK2 (Invitrogen, PV4210) используют в конечной концентрации 5 нМ. Анализ связывания осуществляют в 50 мМ Hepes pH 7,5, 0,01% Brij-35, 10 мМ $MgCl_2$, 1 мМ EGTA с использованием 25 нМ киназной метки 236 (Invitrogen, PV5592) и 2 нМ Eu-анти-GST (Invitrogen, PV5594) с варьированием концентраций соединения. Детекцию метки осуществляют в соответствии с процедурой, указанной изготовителем.

Например, когда соединение 1 испытывали в этом анализе, то измеренное значение K_d составляло 205 нМ.

6.5. Анализ ингибирования JAK3

Каталитический домен рекомбинантного человеческого JAK3 (аминокислоты 781-1124; каталожный номер PV3855) закупают у компании Invitrogen. 0,025 мЕд. JAK3-киназы инкубируют с 2,5 мкг субстрата polyGT (Sigma, каталожный номер P0275) в буфере для киназной реакции (конечные концентрации: 2 5 мМ Трис-HCl pH 7,5, 0,5 мМ EGTA (этиленгликольтетрауксусная кислота), 0,5 мМ Na_3VO_4 , 5 мМ β-глицерилфосфата, 0,01% Triton X-100, 1 мкМ нерадиоактивного АТФ, 0,25 мКи 33Р-γ-АТФ (GE Healthcare, каталожный номер АН9968)) с с или без 5 мкл, содержащими испытываемое соединение или носитель (DMSO, конечная концентрация 1%), в общем объеме 25 мкл, в полипропиленовом 96-луночном планшете (Greiner, V-образная форма дна). По истечении 105 мин при 30°C реакции останавливают посредством добавления 25 мкл/лунока 150 мМ фосфорной кислоты. Все остановленные киназные реакции переносят на предварительно промытые (75 мМ раствор фосфорной кислоты) 96-луночные фильтр-планшеты (Perkin Elmer, каталожный номер 6005177) с использованием харвестера клеток (Perkin Elmer). Планшеты промывают 6 раз при помощи 300 мкл/лунока 75 мМ раствора фосфорной кислоты и дно планшетов герметизируют. Добавляют 40 мкл/лунока сцинтилляционной жидкости Microscint-20, верхнюю часть планшетов герметизируют и выполняют считывание с использованием сцинтилляционного счетчика Topcount (Perkin Elmer). Киназную активность рассчитывают путем вычитания числа импульсов в минуту (cpm), полученного в присутствии ингибитора положительного контроля (10 мкМ

стауропорина), из числа импульсов в минуту (срм), полученного в присутствии носителя. Способность испытываемого соединения ингибировать эту активность определяют следующим образом:

Ингибирование, выраженное в $\% = ((\text{срм, определенное для образца в присутствии испытываемого соединения} - \text{срм, определенное для образца с ингибитором положительного контроля}) / (\text{срм, определенное в присутствии носителя} - \text{срм, определенное для образца с ингибитором положительного контроля})) \cdot 100\%$.

Осуществляют серийные разведения для получения доз соединений, которые могут быть испытаны для определения эффектов доза-ответ в анализе JAK3 и расчета IC_{50} для каждого соединения. Каждое соединение обычно испытывают при концентрации 20 мкМ с последующим серийным разведением 1/3, 8 точек (20 мкМ - 6,67 мкМ - 2,22 мкМ - 740 нМ - 247 нМ - 82 нМ - 27 нМ - 9 нМ) в конечной концентрации DMSO 1%. При повышении активности серийных разведений соединения осуществляют дальнейшие разведения и/или снижают верхнюю концентрацию (например, 5 мкМ, 1 мкМ).

Следующие соединения были испытаны на их активность против JAK3, и значения IC_{50} значения, определенные в описанных анализах, представлены ниже в табл. XVII.

Таблица XVII. Значения IC_{50} для соединений в отношении JAK3

G#	Соединение №	JAK3 IC_{50} (нМ)
G146034	1	149,35, 187,3, 189,3, 194,7

6.6. Анализ определения значения K_i для JAK3-киназы

Для определения значения K_i различные количества соединения смешивают с ферментом, и затем следует ферментная реакция как функция концентрации АТФ. K_i определяют при помощи графика двойной обратной зависимости K_m от концентрации соединения (график Лайнвивера и Берка). JAK3 (Carna Biosciences, 09CBS-0625B) используют в конечной концентрации 10 нг/мл. Субстрат представляет собой Poly(Glu,Tyr)натриевую соль (4:1), MW 20000-50000 (Sigma, P0275). Реакцию осуществляют в 25мМ Tris pH 7,5, 0,01% Triton X-100, 0,5 мМ EGTA, 2,5 мМ ДТТ, 0,5 мМ Na_3VO_4 , 5 мМ б-глицеролфосфат, 10 мМ $MgCl_2$ с варьированием концентраций АТФ и соединения и остановки реакции путем добавления 150 мМ фосфорной кислоты. Измерение включенного фосфата в субстрат polyGT осуществляют путем загрузки образцов в фильтр-планшет (с использованием харвестера, Perkin Elmer) и последующей промывки. Включенный ^{33}P в polyGT измеряют с использованием сцинтилляционного счетчика Topcount после добавления сцинтилляционной жидкости на фильтр-планшеты (Perkin Elmer).

Например, когда соединение 1 испытывали в этом анализе, то измеренное значение K_i составляло 353 нМ.

6.7. Анализ ингибирования ТЫК2

Каталитический домен рекомбинантного человеческого ТЫК2-(аминокислоты 871-1187; каталожный номер 08-147) закупают у компании Carna Biosciences. 5 нг ТЫК2 инкубируют с 12,5 мкг polyGT субстрата (Sigma, каталожный номер P0275) в буфере для киназной реакции (конечные концентрации: 25 мМ Hepes (N-2-гидроксиэтилпиперазин-N-2-этансульфоновая кислота) pH 7,5, 100 мМ NaCl, 0,2 мМ Na_3VO_4 , 0,1% NP-40, 0,1 мкМ нерадиоактивного АТФ, 0,125 мкКи ^{33}P -γ-АТФ (GE Healthcare, каталожный номер AN9968)) с или без 5 мкл, содержащими испытываемое соединение или носитель (DMSO, конечная концентрация 1%), в общем объеме 25 мкл, в полипропиленовом 96-луночном планшете (Greiner, V-образная форма дна). По истечении 90 мин при 30°C реакции останавливают посредством добавления 25 мкл/лунока 150 мМ фосфорной кислоты. Все остановленные киназные реакции переносят на предварительно промытые (75 мМ раствор фосфорной кислоты) 96-луночные фильтр-планшеты (Perkin Elmer, каталожный номер 6005177) с использованием харвестера клеток (Perkin Elmer). Планшеты промывают 6 раз при помощи 300 мкл/лунока 75 мМ раствора фосфорной кислоты и дно планшетов герметизируют. Добавляют 40 мкл/лунока сцинтилляционной жидкости Microscint-20, верхнюю часть планшетов герметизируют и выполняют считывание с использованием сцинтилляционного счетчика Topcount (Perkin Elmer). Киназную активность рассчитывают путем вычитания числа импульсов в минуту (срм), полученного в присутствии ингибитора положительного контроля (10 мкМ стауропорина), из числа импульсов в минуту (срм), полученного в присутствии носителя. Способность испытываемого соединения ингибировать эту активность определяют следующим образом:

Ингибирование, выраженное в $\% = ((\text{срм, определенное для образца в присутствии испытываемого соединения} - \text{срм, определенное для образца с ингибитором положительного контроля}) / (\text{срм, определенное в присутствии носителя} - \text{срм, определенное для образца с ингибитором положительного контроля})) \cdot 100\%$.

Осуществляют серийные разведения для получения доз соединений, которые могут быть испытаны для определения эффектов доза-ответ в анализе ТЫК2 и расчета IC_{50} для каждого соединения. Каждое соединение обычно испытывают при концентрации 20 мкМ с последующим серийным разведением 1/3, 8 точек (20 мкМ - 6,67 мкМ - 2,22 мкМ - 740 нМ - 247 нМ - 82 нМ - 27 нМ - 9 нМ) в конечной концентрации DMSO 1%. При повышении активности серийных разведений соединения осуществляют дальнейшие разведения и/или снижают верхнюю концентрацию (например, 5 мкМ, 1 мкМ).

Следующие соединения были испытаны на их активность против ТЫК2; и значения IC_{50} значения,

определенные в описанных анализах, представлены ниже в табл. XVIII.

Таблица XVIII. Значения IC₅₀ для соединений в отношении ТУК2

G#	Соединение №	ТУК2 IC ₅₀ (нМ)
G146034	1	72,7, 73,75, 79,07, 86,77

6.8. Анализ определения значения Kd для ТУК2-киназы

ТУК2-киназу (Carna Biosciences, 09CBS-0983D) используют в конечной концентрации 5 нМ. Анализ связывания осуществляют в 50 мМ Hepes pH 7,5, 0,01% Brij-35, 10 мМ MgCl₂, 1 мМ EGTA с использованием 25 нМ киназной метки 236 (Invitrogen, PV5592) и 2 нМ Eu-анти-GST (Invitrogen, PV5594) с варьированием концентраций соединения. Детекцию метки осуществляют в соответствии с процедурой, указанной изготовителем.

Например, когда соединение 1 испытывали в этом анализе, то измеренное значение Kd составляло 376 нМ.

Пример 7. Клеточные анализы

7.1. Анализ передачи сигнала JAK-STAT.

Клетки Hela поддерживают в модифицированной Дульбекко среде Игла (DMEM), содержащей 10% термоинактивированной фетальной телячьей сыворотки, 100 ед./мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина. Клетки Hela используют при 70%-ной конfluентности для трансфекции. 20000 клеток в 87 мкл клеточной культуральной среды временно трансфицируют посредством 40 нг рSTAT1(2)-люциферазного репортера (Panomics), 8 нг LacZ репортера в качестве репортера внутреннего контроля и 52 нг pBSK с использованием 0,32 мкл Jet-PEI (Polyplus) в качестве реагента для трансфекции на лунку в формате 96-луночного планшета. После инкубации в течение ночи при 37°C 10% CO₂ среду для трансфекции удаляют. Добавляют 75 мкл DMEM + 1,5% термоинактивированной фетальной телячьей сыворотки. В течение 60 мин добавляют 15 мкл соединения в концентрации 6,7 × и затем 10 мкл человеческого OSM (цитокин онкостатин) (Peprotech) в конечной концентрации 33 нг/мл.

Все соединения испытывают в двух повторях, начиная с 20 мкМ с последующим серийным разведением 1/3, всего 8 доз (20 мкМ - 6,6 мкМ - 2,2 мкМ - 740 нМ - 250 нМ - 82 нМ - 27 нМ - 9 нМ) в конечной концентрации DMSO 0,2%.

После инкубации в течение ночи при 37°C 10% CO₂ клеток подвергают лизису в 100 мкл лизисного буфера/лунка (PBS (забуференный фосфатом физиологический раствор), 0,9 мМ CaCl₂, 0,5 мМ MgCl₂, 5% трегалозы, 0,025% Tergitol NP9, 0,15% BSA (бычий сывороточный альбумин)).

40 мкл клеточного лизата используют для считывания активности β-галактозидазы посредством добавления 180 мкл βGal раствора (30 мкл ONPG (о-нитрофенил-β-D-галактопиранозид) в концентрации 4 мг/мл + 150 мкл β-галактозидазного буфера (0,06 М Na₂HPO₄, 0,04 М NaH₂PO₄, 1 мМ MgCl₂)) в течение 20 мин. Реакцию останавливают путем добавления 50 мкл Na₂CO₃ (1М). Поглощение считывают на длине волны 405 нм.

Люциферазную активность измеряют с использованием 40 мкл клеточного лизата плюс 40 мкл Steadylite®, как описано изготовителем (Perkin Elmer), на приборе Envision (Perkin Elmer).

В качестве положительного контроля (100% ингибирование) используют 10 мкМ ингибитора rap-JAK. В качестве отрицательного контроля используют 0,5% DMSO (0% ингибирования). Положительный контроль и отрицательный контроль используют для определения "численных" значений (z) и "процента ингибирования" (PIN).

Выраженное в процентах ингибирование=((интенсивность флуоресценции, определенная в присутствии носителя интенсивность флуоресценции, определенная для образца в присутствии испытываемого соединения)/(интенсивность флуоресценции, определенная в присутствии носителя интенсивность флуоресценции, определенная для образца без триггера))·100%.

Значения PIN наносят на график для соединений, испытанных в доза-ответ, получают значения EC₅₀, которые представлены ниже в табл. XIX.

Таблица XIX. JAK-STAT EC₅₀ значения

G#	Соединение №	EC ₅₀ (нМ)
G146034	1	922,5, 625,6, 987,7, 1767

7.2. Анализ передачи сигнала OSM/IL-1β

Показано, что OSM и IL-1β синергистически повышают уровни металлопротеиназы MMP13 в человеческой клеточной линии SW1353 хондросаркомы. Производят посев клеток в 96-луночные планшеты в количестве 15000 клеток/лунка в объеме 120 мкл DMEM (модифицированная Дульбекко среда Игла, Invitrogen), содержащей 10% (объем/объем) FBS (фетальная бычья сыворотка) и 1% пенициллина/стрептомицина (Invitrogen), инкубированной при 37°C, 5% CO₂. Клетки предварительно инкубируют с 15 мкл соединения в среде M199 с 2% DMSO за 1 ч до активации посредством 15 мкл OSM и IL-1β для достижения концентрации OSM 25 нг/мл и концентрации IL-1β 1 нг/мл, и уровни MMP13 измеряют в кондиционированной среде через 48 ч после активации. Активность MMP13 измеряют с использованием анализа активности с захватом антител. Для этой цели 384-луночные планшеты (NUNC, 460518, Max-

iSorb black) покрывают 35 мкл 1,5 мкг/мл античеловеческого MMP13 (R&D Systems, MAB511) в течение 24 ч при 4°C. После промывки лунок 2 раза при помощи PBS (забуференный фосфатом физиологический раствор) + 0,05% Твин остальные сайты связывания блокируют при помощи 100 мкл 5%-ного нежирного сухого молока (Santa Cruz, sc-2325, Blotto) в PBS в течение 24 ч при 4°C. Затем лунки промывают 2 раза при помощи PBS + 0,05% Твин и добавляют 35 мкл 1/10 разведения культурального супернатанта, содержащего MMP13 в 100-кратно разбавленном блокирующем буфере, и инкубируют в течение 4 ч при комнатной температуре. Затем лунки промывают дважды при помощи PBS + 0,05% Твин с последующими активацией MMP13 путем добавления 35 мкл 1,5 мМ раствора ацетата 4-аминофенилртути (AP-MA) (Sigma, A9563) и инкубацией при 37°C в течение 1 ч. Лунки промывают вновь при помощи PBS + 0,05% Твин и добавляют 35 мкл MMP13 субстрата (Biomol, P-126, флуорогенный субстрат OmniMMP). После инкубации в течение 24 ч при 37°C измеряют интенсивность флуоресценции преобразованного субстрата на планшет-ридере Perkin Elmer Wallac Envision 2102 Multilabel Reader (возбуждение на длине волны: 320 нм, испускание на длине волны: 405 нм).

Выраженное в процентах ингибирование=((интенсивность флуоресценции, определенная в присутствии носителя интенсивность флуоресценции, определенная для образца в присутствии испытываемого соединения)/(интенсивность флуоресценции, определенная в присутствии носителя интенсивность флуоресценции, определенная для образца без триггера))·100%.

Например, когда соединение 1 испытывали в этом анализе, то измеренное значение EC₅₀ составило 2242,5 (±1098,5) нМ.

7.3. Анализ пролиферации PBL

Лимфоциты периферической крови человека (PBL) стимулируют при помощи IL-2 и измеряют пролиферацию с использованием анализа инкорпорации BrdU (бромдезоксидеоксиридин). Сначала PBL стимулируют в течение 72 ч при помощи РНА (фитогемагглютинин) для индукции IL-2 рецептора, фиксируют в течение 24 ч для прекращения клеточной пролиферации с последующей стимуляцией IL-2 в течение последующих 72 ч (включая 24 ч BrdU мечения). Клетки предварительно инкубируют с испытываемыми соединениями в течение 1 ч перед добавлением IL-2. Клетки культивируют в среде RPMI 1640, содержащей 10% (объем/объем) FBS.

Пример 8. Анализы in vivo

8.1. Фармакокинетическое(РК)/фармакодинамическое(РД) испытание

8.1.1. Анализ биодоступности у собак

8.1.1.1. Подготовка эксперимента

Целью этого эксперимента является сравнение РК у здоровых самцов собак породы бигль (3 собак на группу) после разового перорального введения соединения 1 или в виде Соединения 1.HCl.3H₂O, формулированного в виде капсул двух разных дозировок (25 и 100 мг).

Собаки не голодали перед введением соединения и имели свободный доступ к воде. Каждый день обработки обеспечивали половинный рацион питания после T₀ взятия крови, 8-17 мин до обработки, и вторую половину рациона давали сразу после введения или через 1 ч после обработки в течение периода 2. Между обработками обеспечивали период вымывания 3 дня.

Соединение 1 или соединение 1.HCl.3H₂O вводили до целевой дозы 10 мг/кг в капсулах (либо 4×25 мг либо 1×100 мг капсула). Композиция капсул описана в табл. XX ниже.

Таблица XX. Композиция капсул 25 и 100 мг

Компонент	25 мг капсула	100 мг капсула
Соединение 1	25,325 мг	101,3 мг
Acdisol	4 мг	4 мг
Aerosil	1 мг	1 мг
Avicel	243,1 мг	71 мг
Стеарат магния	1 мг	1 мг

Капсулы вводили перорально с водой (5-10 мл) для обеспечения быстрого прохода через пищевод. Каждое животное контролировали по меньшей мере раз в день.

Кровь брали из яремной вены и собирали в пробирки с литий-гепарином во время T₀ (до приема пищи) и затем во время 1, 2, 4, 6, 8, 10 и 24 ч после обработки.

Затем получали плазму из крови путем центрифугирования (2500 g в течение 10 мин при 4°C) и хранили при -20°C до использования в анализе.

8.1.1.2 Анализ плазмы

Репрезентативные аликвоты плазмы разбавляли контрольной плазмой собак, при необходимости, для обеспечения концентраций в диапазоне калибровочной кривой и экстрагировали путем осаждения белка 2 объемами подкисленного (0,1% муравьиной кислоты) ацетонитрила, содержащего дейтерированное Соединение 1 в качестве внутреннего стандарта (при 150 нг/мл).

После перемешивания с завихрением и центрифугирования при 4°C супернатанты разбавляли 0,5 объемом воды для ВЭЖХ в миди-пробирках Эппендорфа в 96-луночном планшете. Планшет герметично закрывали и встряхивали для обеспечения гомогенности образца перед анализом. Образцы анализирова-

ли на соединение 1 методом ЖХ-МС/МС с использованием Waters TQS масс-спектрометра, против ряда калибровочных стандартов с согласованной матрицей и стандартов контроля качества.

Waters TQS метод включает диапазон стандартной кривой от 100 нг/мл (нижний предел количественного определения для неразбавленных образцов) до максимально 4000 нг/мл для соединения 1.

Фармакокинетический анализ осуществляли с использованием WinNonlin™ программы версия 5.3, с использованием концентраций от индивидуальных животных. Не-компарментный анализ применяли для определения РК параметров ($C_{\max}$, $T_{\max}$, $AUC_{0-\text{last}}$, $t_{1/2}$ и т.п....)

Концентрации ниже пределов детекции устанавливали на 0 для описательной статистики и расчета РК параметров.

Фактические дозы соединения 1, вводимые каждой собаке, использовали для дозо-нормализации РК параметров ($C_{\max}$ и AUC). результаты представлены в табл. XXI ниже и на фиг. 10.

Таблица XXI. Результаты анализа биодоступности у собак

Форма соединения	Свободное основание		HCl . тригидрат	
	4x25 мг/кг	100 мг/кг	4x25 мг/кг	100 мг/кг
Доза (разовое пероральное введение)	4x25 мг/кг	100 мг/кг	4x25 мг/кг	100 мг/кг
Представление AUC (мкг. час/мл)	10,4	11,1	33,6	21,7
$T_{\max}$ (час)	6,0	8,0	2,0	2,0
$C_{\max}$ (мкг/мл)	0,894	0,797	3,05	2,63
$T_{1/2}$ (час)	Диапазон 4,43-8,96			

Соединение 1 (в виде свободного основания) вводится перорально и поэтому проходит через HCl-содержащую кислотную желудочную среду, где должно образовываться соединение 1.HCl. Поэтому специалист не мог бы ожидать какой-либо разницы между двумя вводимыми формами.

Однако, как проиллюстрировано на фиг. 10, в среднем и при 2 дозах в форме капсул соединение 1.HCl.3H₂O более быстро абсорбируется и показывает лучшее действие in vivo по сравнению с соединением 1, в результате чего можно уменьшить вводимые дозы и, таким образом, обеспечить лучшее соблюдение пациентом режима лечения и потенциально уменьшить токсичность или проблемы межлекарственного взаимодействия.

Резюме

Специалистам в данной области будет понятно, что представленное выше описание является иллюстративным и пояснительным по своей природе и предназначено для иллюстрации изобретения и его предпочтительных вариантов осуществления. Путем рутинного экспериментирования специалист сможет определить очевидные модификации и изменения, которые можно осуществить без отступления от сути настоящего изобретения. Все такие модификации охватываются объемом прилагаемой формулы изобретения и предусматриваются как включенные в нее. Таким образом, изобретение должно определяться не представленным выше описанием, а следующей далее формулой изобретения и ее эквивалентами.

Все публикации, включая, но не ограничиваясь этим, патенты и патентные заявки, на которые имеются ссылки в настоящей заявке, включены в настоящую заявку посредством ссылки, как если бы каждая отдельная публикация была специально и индивидуально указана как включенная в настоящую заявку посредством ссылки во всей полноте.

Должно быть понятно, что факторы, такие как способность к дифференциальной клеточной пенетрации различных соединений, могут приводить к несоответствию между активностью соединений в in vitro биохимических и клеточных анализах.

По меньшей мере, некоторые из химических названий солей по настоящему изобретению, как они указаны и описаны в настоящей заявке, могут быть получены автоматически с использованием коммерчески доступной программы химического наименования, и они не были независимо выверены. Репрезентативные программы, осуществляющие эту функцию, включают Lexichem naming tool от компании Open Eye Software, Inc. и Autonom Software tool от компании MDL, Inc. В случае, если указанное химическое название и представленная структура различаются, преимущество имеет представленная структура.

Литература

(CHMP), C. f. (18 November 2004). *Guideline on Clinical Investigation of Medicinal Products indicated for the treatment of Psoriasis*.

Berishaj, M., Gao, S. P., Ahmed, S., Leslie, K., Al-Ahmadie, H., Gerald, W. L., et al. (2007). Stat3 is tyrosine-phosphorylated through the interleukin-6/glycoprotein 130/Janus kinase pathway in breast cancer. *Breast Cancer Research*, 9(3), 1-9.

Constantinescu, S. N., Girardot, M., & Pecquet, C. (2007). Mining for JAK-STAT mutations in cancer. *Trends in Biochemical Sciences*, 33(3), 122-131.

Dolgin, E. (2011). Companies hope for kinase inhibitor JAKpot. *Nat Rev Drug Discov*, 10(10), 717-8.

Greene, T W; Wuts, P G M; . (1991). *Protecting Groups in Organic Synthesis, Second Edition*. New York: Wiley.

Hilfiker, R., Blatter, F., & von Raumer, M. (2006). Relevance of Solid-state Properties. In *Polymorphism: in the Pharmaceutical Industry* (pp. 1-20). Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Ingersoll, K. S., & Cohen, J. (2008). The impact of medication regimen factors on adherence to chronic. *J Behav Med*, 31(3), 213-224.

Kopf, M., Bachmann, M. F., & Marsland, B. J. (2010). Averting inflammation by targeting the cytokine environment. *Nat Rev: Drug Disc*, 9, 703-718.

Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate. *Advanced Drug Delivery Reviews solubility and permeability in drug discovery and development settings*, 46, 3-26.

Menet, C. J. (2010). Патент No. WO 2010/149769. PCT.

Mullighan, C. G. (2009). JAK mutations in high-risk childhood acute lymphoblastic leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 106(23), 9414-9418.

Naka, T., Nishimoto, N., & Kishimoto, T. (2002). The

paradigm of IL-6: from basic science to medicine. *Arthritis Res*, 4 (suppl 3), S233-S242.

O'Sullivan, L. A., Liongue, C., Lewis, R. S., Stephenson, S. E., & Ward, A. C. (2007). Cytokine receptor signaling through the Jak-Stat-Socs pathway in disease. *Mol Immuno*, 44(10), 2497-506.

O'Dell, J. R. (2004). Therapeutic Strategies for Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med*, 350, 2591-602.

Punwani, N., Scherle, P., Flores, R., Shi, J., Liang, J., Yeleswaram, S., et al. (2012). Preliminary clinical activity of a topical JAK1/2 inhibitor in the treatment of psoriasis. *J Am Acad Dermatol*, 67, 658-64.

Smolen, J. S., & Steiner, G. (2003). Therapeutic strategies for rheumatoid arthritis. *Nat Rev: Drug Disc*, 2, 473-488.

Tam, L., McGlynn, L. M., Traynor, P., Mukherjee, R., Bartlett, J. M., & Edwards, J. (2007). Expression levels of the JAK/STAT pathway in the transition from hormone-sensitive to hormone-refractory prostate cancer. *British Journal of Cancer*, 97, 378-383.

Vainchenker, W., Dusa, A., & Constantinescu, S. N. (2008). JAKs in pathology: Role of Janus kinases in hematopoietic malignancies and immunodeficiencies. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 19, 385-393.

Verstovsek, S. (2009). Therapeutic potential of JAK2 inhibitors. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 636-42.

Xiang, Z., Zhao, Y., Mitaksov, V., Fremont, D. H., Kasai, Y., Molitoris, A., et al. (2008). Identification of somatic JAK1 mutations in patients with acute myeloid leukemia. *Blood*, 111, 4809-4812.

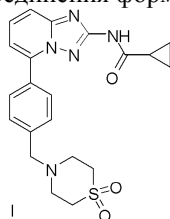
Zenz, R., Eferl, R., Florin, L., Hummerich, L., Mehic, D., Scheuch, H., et al. (2005). Psoriasis-like skin disease and arthritis caused by inducible epidermal deletion of Jun proteins. *Nature*, 437(7057), 369-75.

Zhang, Q. (1996). Activation of JAK/STAT proteins involved in signal transduction pathway mediated by receptor for interleukin 2 in malignant T lymphocytes derived from cutaneous anaplastic large T-cell lymphoma and Sezary syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 93, 9148-9153.

Zikherman, j., & Weiss, A. (2011). Unraveling the functional implications of GWAS: how T cell protein tyrosine phosphatase drives autoimmune disease. *J Clin Invest*, 121(12), 4618-21.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтически приемлемая соль соединения формулы (I)



где соль представляет собой продукт присоединения свободное основание/HCl/H₂O 1:1:3 в кристаллической форме, которая характеризуется по меньшей мере дифракционным пиком на порошковой рентгенограмме в любом одном или нескольких из следующих положений: 7,25, 8,31, 8,78, 10,69, 11,96, 12,25, 13,17, 13,74, 16,23, 16,71, 19,26, 19,64, 20,15, 20,57, 20,95, 21,38, 21,69, 22,77, 23,37, 25,14, 25,71, 25,89, 27,66, 28,57, 28,81, 29,17, 29,58, 30,63, 30,94, 32,06, 32,63, 34,14, 36,22, 36,67 и 37,12° 2θ ± 0,2° 2θ.

2. Фармацевтически приемлемая соль по п.1, которая характеризуется следующими параметрами дифракции:

Молекулярная формула	C ₂₁ H ₂₄ N ₅ O ₃ S·Cl·3 (H ₂ O)				
Молекулярная масса	516,02				
Кристаллическая система	Моноклинная				
Группа симметрии кристаллической решетки	P2 ₁ /n	a	13,1388 (4) Å	α	102,089 (2) °
		b	8,9437 (3) Å	β	
		c	21,6376 (9) Å	γ	
V	2486,24 (15) Å ³				
Z	4				
Dc	1,379 мг /м ³				
μ	0,284 мм ⁻¹				
Источник	Mo-Kα, 0,71073 Å				
F(000)	1088				
T	120 (2) К				
Кристалл	бесцветная призма, 0,39×0,16×0,12 мм				
θ диапазон для сбора данных	2,982-27,483°				
Полнота	99,3%				
Отражения	21028				
Уникальные отражения	5649				
R _{int}	0,0307				

3. Фармацевтическая композиция, включающая фармацевтически приемлемую соль по п.1 или 2 и фармацевтически приемлемый носитель, эксципиент или разбавитель.

4. Фармацевтическая композиция по п.3, включающая дополнительное терапевтическое средство.

5. Применение фармацевтически приемлемой соли по п.1 или 2 или фармацевтической композиции по п.3 или 4 для профилактики и/или лечения воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденных дефектов хряща и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов.

6. Применение по п.5, где фармацевтически приемлемую соль по п.1 или 2 или фармацевтическую композицию по п.3 или 4 вводят в комбинации с другим терапевтическим средством.

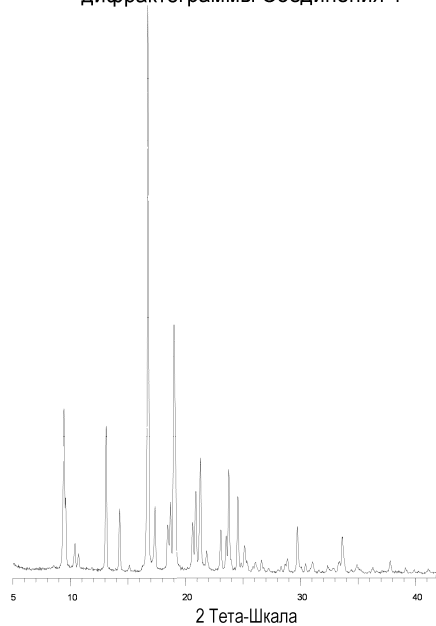
7. Фармацевтическая композиция по п.4 или применение по п.6, где дополнительное терапевтическое средство представляет собой средство для профилактики и/или лечения воспалительных заболеваний, аутоиммунных заболеваний, пролиферативных заболеваний, аллергии, отторжения трансплантата, заболеваний, связанных с разрушением и/или нарушением гомеостаза хрящевой ткани, врожденных дефектов хряща и/или заболеваний, связанных с гиперсекрецией IL6 или интерферонов.

8. Способ получения фармацевтически приемлемой соли по п.1 в твердой кристаллической форме, включающий стадии:

- i) смешивание соединения формулы (I), суспендированного в DCM, с MeOH при 35°C,
- ii) добавление воды при перемешивании при 35°C в течение по меньшей мере 15 мин,
- iii) отделение органического слоя,
- iv) добавление 10% мас./мас. раствора HCl в MeOH к органическому слою, полученному на предыдущей стадии iii),
- v) выделение полученного на предыдущей стадии iv) твердого вещества при помощи фильтрации,
- vi) сушка твердого вещества, полученного на предыдущей стадии v),
- vii) добавление твердого вещества, полученного на предыдущей стадии vi), к раствору 1,6/0,4 муравьиная кислота/вода при перемешивании при 55°C,
- viii) добавление воды к раствору, полученному на предыдущей стадии vii),
- ix) выделение при помощи фильтрации полученного твердого вещества, полученного на предыдущей стадии viii), и
- x) сушка твердого вещества, полученного на предыдущей стадии ix).

041895

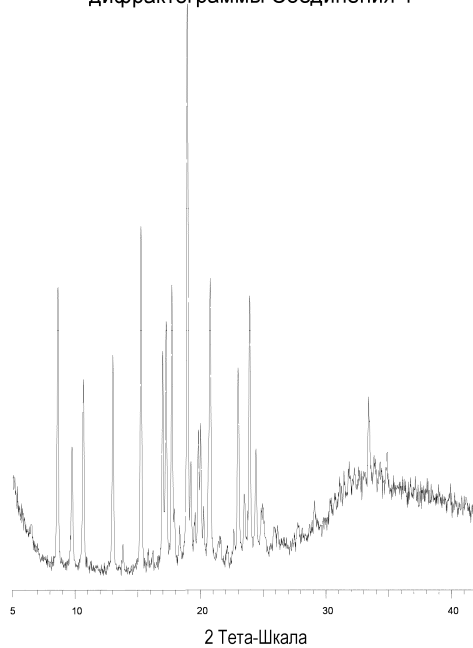
Образец 1 порошковой рентгеновской
дифрактограммы Соединения 1



Тип: закрытый объединенный - Комментарии: 5-42 2-тета, размер
шага 0,024, 0,1 сек/шаг

Фиг. 1

Образец 3 порошковой рентгеновской
дифрактограммы Соединения 1

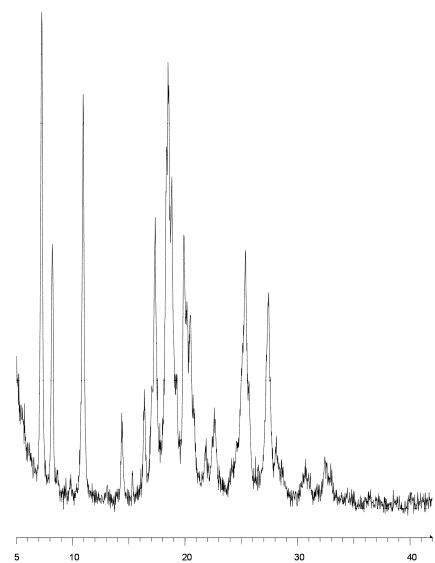


Тип: закрытый объединенный - Комментарии: 5-42 2-тета, размер
шага 0,024, 0,1 сек/шаг

Фиг. 2

041895

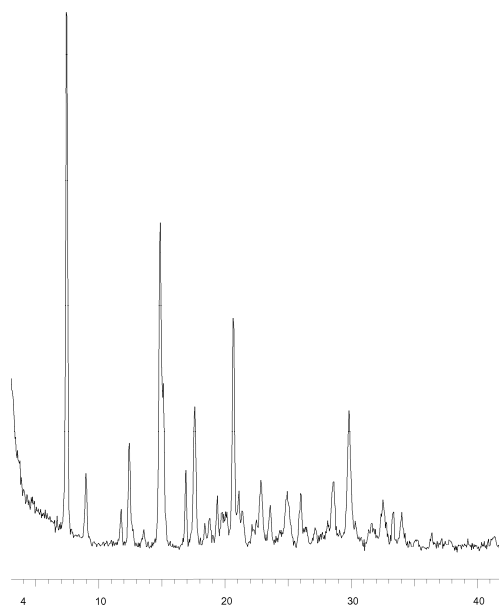
Образец 4 порошковой рентгеновской
дифрактограммы Соединения 1



2 Тета-Шкала
Тип: закрытый объединенный - Комментарии: 5-42 2-тета, размер
шага 0,024, 0,1 сек/шаг

Фиг. 3

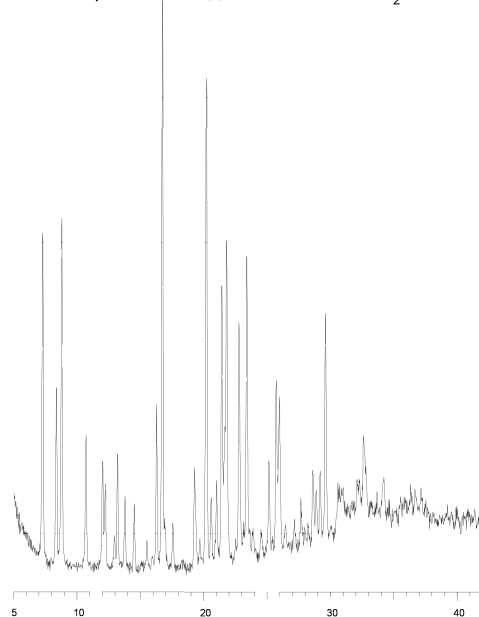
Порошковая рентгеновская дифракто-
грамма Соединения 1.HCl



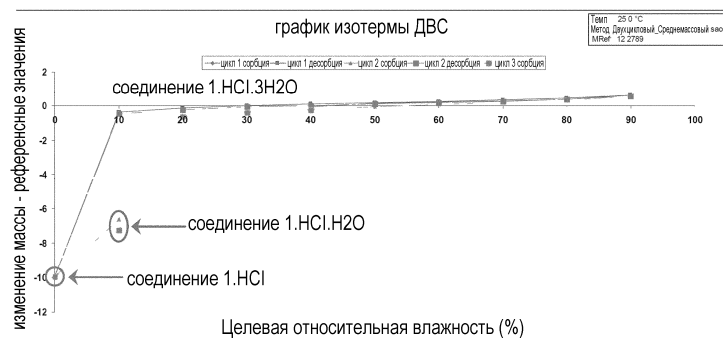
2 Тета-Шкала
2-42 градусы; размер шага 0,05; 0,5 сек/шаг - Влажность: не
определяли

Фиг. 4

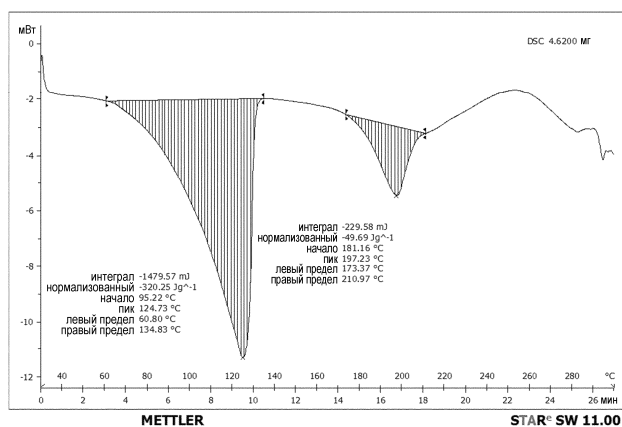
Порошковая рентгеновская дифракто-
грамма Соединения 1.HCl.3H₂O

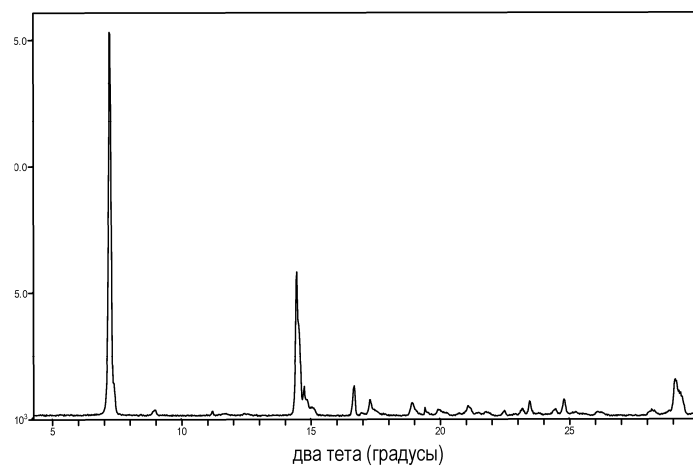


Фиг. 5

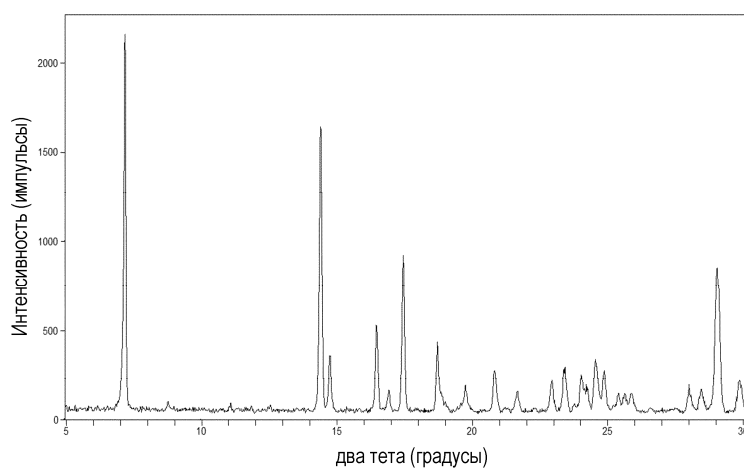


Фиг. 6

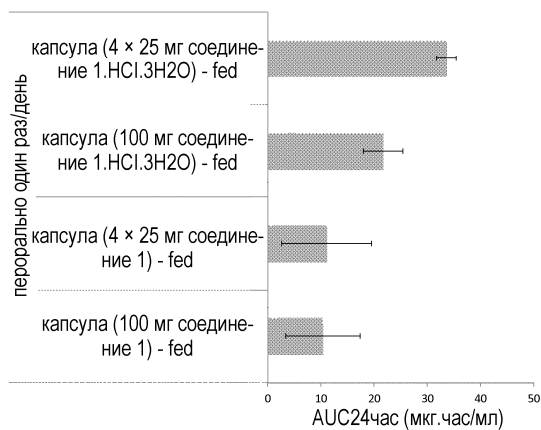
Фиг. 7 Анализ ДСК соединения 1. HCl.3H₂O



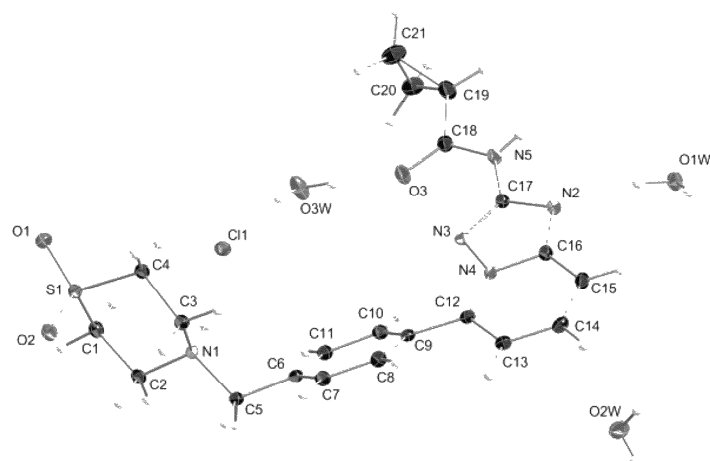
Фиг. 8 Рентгеновская порошковая дифрактограмма соединения 1. HCl.MeOH

Фиг. 9 Рентгеновская порошковая дифрактограмма соединения 1.HCl.1,5H₂O

Значения AUC для Соединение 1 после перорального введения один раз в день



Фиг. 10



Фиг. 11 Кристаллическая структура соединения 1.HCl.3H₂O.

