

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202193249 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.10.26

(51) Int. Cl. C07D 487/04 (2006.01)
C07D 519/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.06.05

(54) СОЕДИНЕНИЕ НА ОСНОВЕ ПИРРОЛОПИРИМИДИНА И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 201910487056.7

(72) Изобретатель:

(32) 2019.06.05

Цянь Вэньюань, Вэй Чанцин, Ху
Гопин, Ли Цзянь, Чэнь Шухуэй (CN)

(33) CN

(86) PCT/CN2020/094534

(74) Представитель:

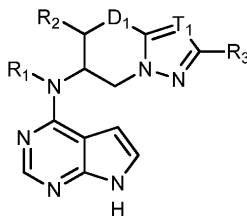
(87) WO 2020/244614 2020.12.10

Носырева Е.Л. (RU)

(71) Заявитель:

ГУАНЧЖОУ ДЖОЙО ФАРМАТЕК
КО., ЛТД; МЕДШАЙН ДИСКАВЕРИ
ИНК. (CN)

(57) Изобретение относится к соединению на основе пирролопиримидина, используемому в качестве ингибитора JAK, и его применению в получении лекарственного средства для лечения заболевания, ассоциированного с JAK1 и/или JAK2, и конкретно относится к соединению, представленному формулой (I), его изомеру или его фармацевтически приемлемой соли.



A1

202193249

202193249

A1

СОЕДИНЕНИЕ НА ОСНОВЕ ПИРРОЛОПИРИМИДИНА И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ

Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно

[0001] заявке на патент Китая № CN201910487056.7, поданной 5 июня 2019 г.

Область техники

[0002] Настоящее соединение относится к соединению на основе пирролопиримидина в качестве ингибитора JAK и его применению в получении лекарственного препарата для лечения заболевания, связанного с JAK1 и/или JAK2 и, в частности, к соединению, представленному формулой (I), его изомеру или его фармацевтически приемлемой соли.

Предпосылки изобретения

[0003] Янус-киназы (JAK) представляют собой группу цитоплазматических тирозинкиназ, которые передают сигналы цитокинов от мембранных рецепторов к факторам транскрипции STAT. Семейство JAK включает четыре представителя, JAK1, JAK2, JAK3 и TYK2. Сигнальный путь JAK-STAT передает внеклеточные сигналы от различных цитокинов, факторов роста и гормонов к ядру и отвечает за экспрессию тысяч генов, кодирующих белки. Сигнальный путь JAK-STAT, преобразующий внеклеточные сигналы в транскрипционные ответы, включает несколько стадий: 1) конформация рецепторов цитокинов на поверхности клетки изменяется, если они связываются с их соответствующими цитокиновыми лигандами, вызывая димеризацию рецепторных молекул; сопряженные с рецептором киназы JAK находятся в непосредственной близости с димеризованными рецепторами и активируются посредством взаимного фосфорилирования тирозина. 2) Активированные JAK катализируют фосфорилирование остатков тирозина на рецепторах; затем фосфорилированные тирозины и окружающие аминокислотные последовательности

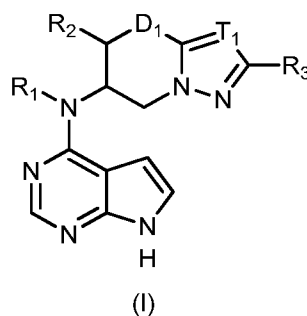
образуют сайт докинга, и белки STAT, содержащие домен SH2, рекрутируются в сайт докинга. 3) Наконец, киназы JAK катализируют фосфорилирование белков STAT, связанных с рецепторами; активированные белки STAT покидают рецепторы и образуют димеры, которые затем переносятся в ядро для регуляции транскрипции конкретных генов. Передача внутриклеточного сигнала JAK-STAT функционирует в случае интерферонов, большинства интерлейкинов, а также различных цитокинов и эндокринных факторов, таких как EPO, TPO, GH, OSM, LIF, CNTF, GM-CSF и PRL (Vainchenker W. et al. (2008)).

[0004] JAK-1, JAK-2 и TYK-2 экспрессируются в клетках различных тканей у людей, тогда как JAK-3 в основном экспрессируется в различных гематопозитических клетках, включая главным образом клетки костного мозга, тимоциты, NK-клетки и активированные В- и Т-лимфоциты. JAK1 способен связываться с IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-26, IL-28, IFN- α , IFN- γ , IL-6 в семействе gp130, и другими рецепторами, содержащими γ с. JAK1 стал новой мишенью в связанных с заболеваниями областях, таких как иммунитет, воспаление и рак. JAK2 играет важную роль в регуляции различных сигналов рецепторов, включая EPO, GH, PRL, IFN- γ и IL-3, IL-5 и GM-CSF в семействе β с. Основная мутация в гене JAK2 у людей, JAK2 V617F, тесно связана с развитием истинной полицитемии (PV), эссенциальной тромбоцитемии (ET), идиопатического миелофиброза (IMF), хронического миелогенного лейкоза (CML) и т. п. при миелопролиферативных заболеваниях. JAK3 регулирует клеточную передачу сигнала посредством связывания с общей γ -цепью (γ с) в комплексах рецепторов цитокинов, таких как IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 и IL-21. Мутации либо в JAK3, либо в γ с могут вызывать тяжелый комбинированный иммунодефицит. Аномальная активность JAK3 проявляется в виде значительного снижения количества Т-клеток и NK-клеток и утраты функции В-клеток и может серьезно поражать нормальные биологические функции иммунной системы и т. д. На основе его функциональных характеристик и особого распределения в тканях, JAK3 стал привлекательной терапевтической мишенью в случае заболеваний, связанных с иммунной системой. TYK2 является 1-ым представителем семейства JAK, который может быть активирован посредством различных рецепторов, включая IFN, IL-10, IL-6, IL-12, IL-23 и IL-27. У мышей утрата функции TYK2 вызывает нарушения сигнальных путей различных рецепторов цитокинов, что приводит к вирусной инфекции, нарушению антибактериальных иммунных функций, повышению рисков развития легочной

инфекции и т. п. (John J.O' Shea, 2004, *Nature Reviews Drug Discovery* 3, 555-564). Различные представители семейства JAK селективно связываются с различными рецепторами цитокинов и обеспечивают сигнальную специфичность для выполнения различных физиологических функций. Данная селективность обеспечивает относительно специфические пути применения ингибиторов JAK в лечении заболеваний. Например, рецептор IL-2 или IL-4, вместе с общей цепью γ , связывается с JAK1 и JAK3, тогда как рецептор I типа, содержащий ту же цепь β , связывается с JAK2. Рецептор I типа, использующий gp130 (гликопротеин 130), и рецептор I типа, активируемый посредством гетеродимерных цитокинов, предпочтительно связываются с JAK1/2 и TYK2. Рецептор I типа, активируемый посредством гормон-подобных цитокинов, связывается с киназой JAK2 и активирует ее. Рецептор II типа интерферона связывается с JAK1 и TYK2, тогда как рецептор семейства цитокинов IL-10 связывается с JAK1/2 и TYK2. Конкретные связывания приведенных выше цитокинов и их рецепторов с представителями семейства JAK вызывают различные физиологические эффекты, обеспечивающие возможность лечения различных заболеваний. Гетеродимеризация JAK1 с другими JAK трансдуцирует управляемую цитокинами провоспалительную передачу сигнала. Следовательно, ожидается, что ингибирование JAK1 и/или других JAK имеет терапевтическое преимущество в случае ряда воспалительных состояний и других заболеваний, управляемых опосредованной JAK трансдукцией сигнала (Daniella M. Schwartz, 2017, *Nature Reviews Drug Discovery* 16, 843-862.)

Содержание изобретения

[0005] Настоящее изобретение предусматривает соединение, представленное формулой (I), его изомер или его фармацевтически приемлемую соль,



[0006] где

[0007] T_1 представляет собой CH или N;

[0008] D_1 представляет собой одинарную связь, O или CH_2 ;

[0009] R_1 представляет собой H или C_{1-3} алкил, при этом C_{1-3} алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 R_a ;

[0010] R_2 представляет собой H или C_{1-3} алкил, при этом C_{1-3} алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 R_b ;

[0011] R_3 выбран из H, F, Cl, Br, I, CN и C_{1-3} алкила, при этом C_{1-3} алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 R_c ;

[0012] каждый из R_a , R_b и R_c независимо выбран из F, Cl, Br, I и NH_2 .

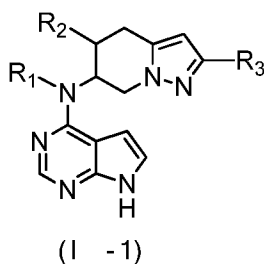
[0013] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R_1 представляет собой H или CH_3 ; другие переменные определены в данном документе.

[0014] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R_2 представляет собой H или CH_3 ; другие переменные определены в данном документе.

[0015] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R_3 выбран из H, F, Cl, Br, I и CN; другие переменные определены в данном документе.

[0016] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R_3 выбран из CN.

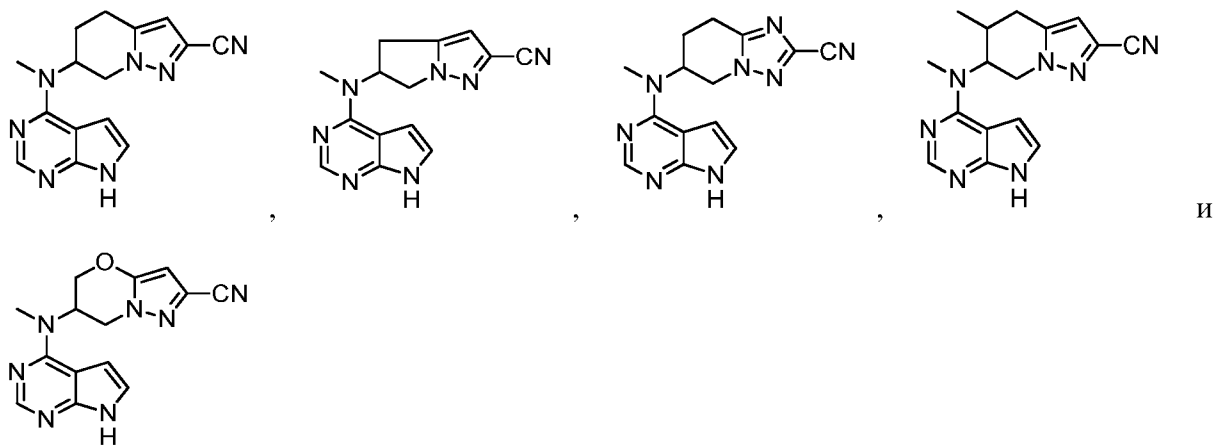
[0017] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения в случае соединения, его изомера или его фармацевтически приемлемой соли, соединение выбрано из



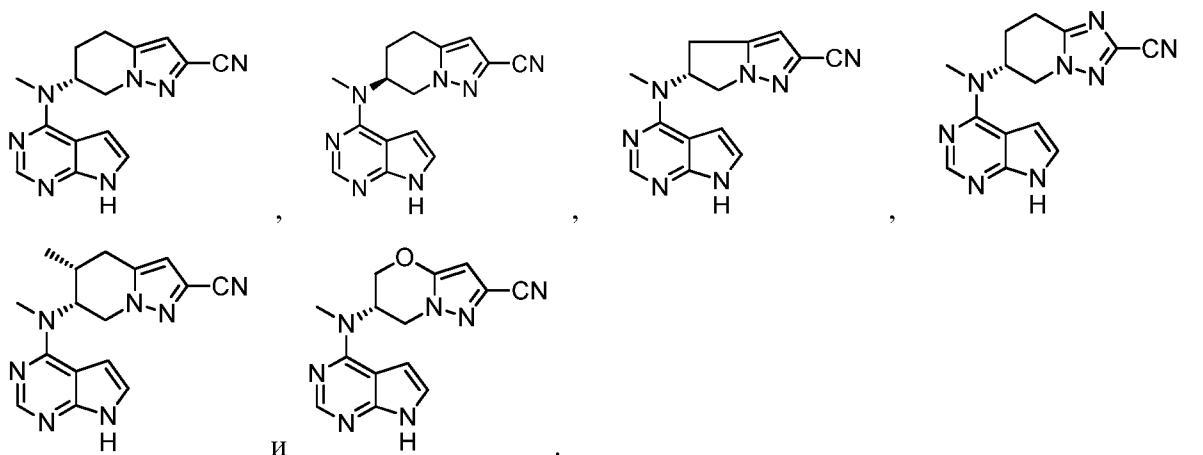
[0018] где R₁, R₂ и R₃ определены в данном документе.

[0019] Некоторые другие варианты осуществления настоящего изобретения получены из любой комбинации переменных, как описано выше.

[0020] Настоящее изобретение дополнительно предусматривает соединение следующих формул, его изомер или его фармацевтически приемлемую соль:



[0021] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения соединение, его изомер или его фармацевтически приемлемая соль выбраны из



[0022] Настоящее изобретение также предусматривает применение соединения или его фармацевтически приемлемой соли в получении лекарственного препарата для лечения заболевания, связанного с JAK1 и/или JAK2.

[0023] В некоторых других вариантах осуществления настоящего изобретения лекарственный препарат представляет собой лекарственный препарат для лечения ревматоидного артрита.

Технические эффекты

[0024] Соединение, раскрытое в данном документе, демонстрирует хорошее селективное ингибирование JAK1 и/или JAK2 в анализе активности *in vitro* 4 подтипов киназ JAK1, JAK2, JAK3 и TYK2; соединение характеризуется хорошей проницаемостью и является благоприятным для достижения требуемой концентрации в ткани-мишени и биодоступности при пероральном введении; соединение, раскрытое в данном документе, характеризуется хорошей биодоступностью при пероральном введении и высоким уровнем воздействия у мышей, и является предпочтительным для получения хорошей эффективности *in vivo*.

Определения терминов и их описание

[0025] Если не указано иное, следующие термины и фразы, используемые в данном документе, имеют следующие значения. Конкретный термин или фраза, если конкретно не указано иное, должны рассматриваться как неопределенные или неясные, но толкуются в соответствии с их общим значением. При упоминании торгового наименования подразумевается, что оно относится к соответствующему коммерческому продукту или его активному ингредиенту.

[0026] Термин «фармацевтически приемлемый» используется в данном документе для тех соединений, материалов, композиций и/или лекарственных форм, которые в рамках медицинского суждения являются подходящими для применения в контакте с тканями людей и животных без избыточной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, и в соответствии с разумным соотношением польза/риск.

[0027] Термин «фармацевтически приемлемая соль» относится к соли соединения, раскрытого в данном документе, которая получена из соединения, содержащего

конкретные заместители, раскрытые в данном документе, и относительно нетоксичной кислоты или основания. Если соединение, раскрытое в данном документе, содержит относительно кислотную функциональную группу, то соль присоединения основания может быть получена посредством приведения такого соединения в контакт с достаточным количеством основания в чистом растворе или подходящем инертном растворителе. Фармацевтически приемлемые соли присоединения основания включают соли натрия, калия, кальция, аммония, органического амина или магния, или подобные соли. Если соединение, раскрытое в данном документе, содержит относительно основную функциональную группу, то соль присоединения кислоты может быть получена посредством приведения такого соединения в контакт с достаточным количеством кислоты в чистом растворе или подходящем инертном растворителе. Примеры фармацевтически приемлемых солей присоединения кислоты включают соли, образованные из неорганических кислот, таких как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, азотная кислота, угольная кислота, бикарбонатный радикал, фосфорная кислота, моногидрофосфат, дигидрофосфат, серная кислота, гидросульфат, йодистоводородная кислота и фосфористая кислота; и соли, образованные из органических кислот, таких как уксусная кислота, пропионовая кислота, изомасляная кислота, малеиновая кислота, малоновая кислота, бензойная кислота, янтарная кислота, субериновая кислота, фумаровая кислота, молочная кислота, миндальная кислота, фталевая кислота, бензолсульфоновая кислота, *n*-толуолсульфоновая кислота, лимонная кислота, винная кислота и метансульфоновая кислота. Также включены соли аминокислот (например аргинина) и соли органических кислот, таких как глюкуроновая кислота. Определенные конкретные соединения, раскрытые в данном документе, содержат как основные, так и кислотные функциональные группы, которые позволяют соединениям превращаться в соли присоединения основания или соли присоединения кислоты.

[0028] Фармацевтически приемлемые соли, раскрытые в данном документе, могут быть синтезированы из исходного соединения, содержащего кислотную или основную группу, посредством обычных химических способов. В целом, такие соли получают посредством следующего способа: осуществление реакции свободной кислотной или основной формы соединения со стехиометрическим количеством соответствующих основания или кислоты в воде или органическом растворителе или в их смеси.

[0029] Соединение, раскрытое в данном документе, может находиться в форме конкретного геометрического изомера или стереоизомера. Все такие соединения рассматриваются в данном документе, включая цис- и транс-изомеры, (-)- и (+)-энантиомеры, (*R*)- и (*S*)-энантиомеры, диастереоизомеры, (*D*)-изомеры, (*L*)-изомеры и их рацемические смеси и другие смеси, например смесь, обогащенная энантиомером или диастереомером, все из которых включены в объем настоящего изобретения. Заместители, такие как алкил, могут содержать дополнительный асимметричный атом углерода. Все данные изомеры и их смеси охватываются объемом настоящего изобретения.

[0030] Если не указано иное, термин «энантиомер» или «оптический изомер» относится к стереоизомерам, которые представляют собой зеркальные отображения друг друга.

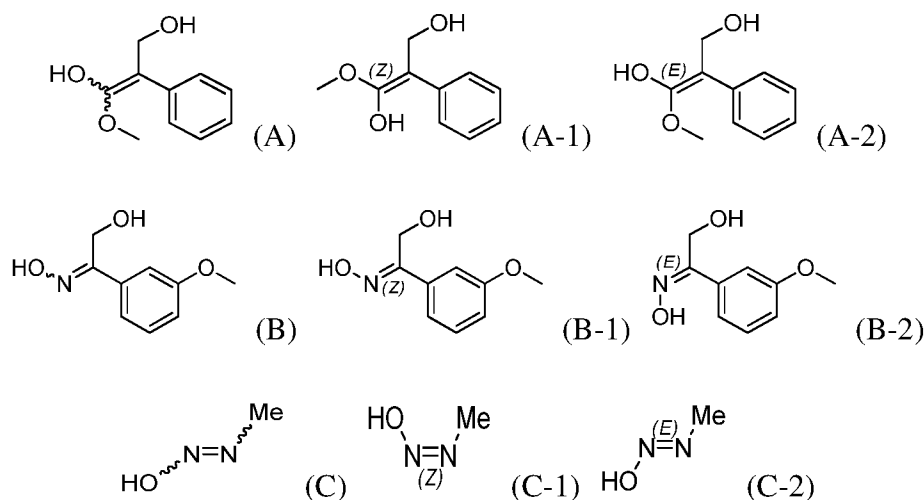
[0031] Если не указано иное, термин «цис-транс-изомер» или «геометрический изомер» является результатом неспособности одинарной связи атома углерода кольца или двойной связи к свободному вращению.

[0032] Если не указано иное, термин «диастереоизомер» относится к стереоизомерам, в которых каждая из молекул содержит два или более хиральных центров, и данные молекулы не являются зеркальными отображениями друг друга.

[0033] Если не указано иное, «(+))» означает правостороннее вращение, «(-))» означает левостороннее вращение, и «(±))» означает рацемизацию.

[0034] Если не указано иное, абсолютная конфигурация стереогенного центра представлена связью, обозначенной клиновидной сплошной линией (/), и связью, обозначенной клиновидной пунктирной линией (·····), а относительная конфигурация стереогенного центра представлена связью, обозначенной прямой сплошной линией (/), и связью, обозначенной прямой пунктирной линией (·····). Волнистая линия (~~~~~) представляет собой связь, обозначенную клиновидной сплошной линией (/), или связь, обозначенную клиновидной пунктирной линией (·····), или волнистая линия (~~~~~) представляет собой связь, обозначенную прямой сплошной линией (/), и связь, обозначенную прямой пунктирной линией (·····).

[0035] Если не указано иное, если структура двойной связи представляет собой такую структуру, как углерод-углеродная двойная связь, углерод-азотная двойная связь, и в соединении присутствует азот-азотная двойная связь, и каждый атом двойной связи связан с двумя разными заместителями (в двойной связи, включая атом азота, неподеленная пара электронов при атоме азота рассматривается как заместитель, с которым связан атом азота), если атом при двойной связи соединения и его заместители связаны посредством связи, обозначенной волнистой линией (\sim), это означает, что соединение существует в форме изомера (Z)-типа, изомера (E)-типа или смеси двух изомеров. Например, следующая формула (A) демонстрирует, что соединение существует в форме одного изомера формулы (A-1) или формулы (A-2) или в форме смеси обоих изомеров формулы (A-1) и формулы (A-2); следующая формула (B) демонстрирует, что соединение существует в форме одного изомера формулы (B-1) или формулы (B-2) или в форме смеси обоих изомеров формулы (B-1) и формулы (B-2), и следующая формула (C) демонстрирует, что соединение существует в форме одного изомера формулы (C-1) или формулы (C-2) или в форме смеси обоих изомеров формулы (C-1) и формулы (C-2).



[0036] Если не указано иное, термин «таутомер» или «таутомерная форма» означает, что различные функциональные изомеры находятся в динамическом равновесии при комнатной температуре и могут быстро превращаться друг в друга. Если существует возможность образования таутомеров (например в растворе), таутомеры могут достигать состояния химического равновесия. Например, протонный таутомер, также известный как прототропный таутомер, включает взаимное превращение посредством миграции протонов, такое как кето-енольная изомерия и имин-енаминовая изомерия.

Валентный изомер включает взаимное превращение посредством рекомбинации некоторых связывающих электронов. Конкретным примером кето-енольной таутомерии является взаимное превращение таутомеров пентан-2,4-диона и 4-гидроксипент-3-ен-2-она.

[0037] Если не указано иное, термин «обогащенный одним изомером», «обогащенный изомером», «обогащенный одним энантиомером» или «обогащенный энантиомером» означает, что содержание одного из изомеров или энантиомеров составляет менее 100% и составляет 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8% или 99,9% или больше.

[0038] Если не указано иное, термин «изомерный избыток» или «энантиомерный избыток» относится к разнице между значениями относительного процентного содержания двух изомеров или энантиомеров. Например, если содержание одного изомера или энантиомера составляет 90%, а содержание другого изомера или энантиомера составляет 10%, то изомерный или энантиомерный избыток (ее) составляет 80%.

[0039] Оптически активные (*R*)- и (*S*)-изомеры и *D*- и *L*-изомеры можно получить посредством хирального синтеза, или хиральных реагентов, или других общепринятых методик. Если требуется получить один энантиомер определенного соединения, раскрытого в данном документе, требуемый чистый энантиомер может быть получен посредством асимметричного синтеза или дериватизации с применением хирального вспомогательного вещества, где полученная диастереоизомерная смесь отделяется, и вспомогательная группа отщепляется. В качестве альтернативы, если молекула содержит основную функциональную группу (такую как аминогруппа) или кислотную функциональную группу (такую как карбоксильная группа), соединение реагирует с соответствующей оптически активной кислотой или основанием с образованием соли диастереоизомера, которая затем подвергается диастереоизомерному разделению посредством общепринятых способов в данной области техники с получением чистого энантиомера. Кроме того, энантиомер и диастереоизомер обычно выделяются посредством хроматографии с применением хиральной неподвижной фазы, необязательно в комбинации с химической дериватизацией (например карбамат, образованный из аминов).

[0040] Соединение, раскрытое в данном документе, может содержать неприродное соотношение атомных изотопов при одном или более из атомов, которые составляют соединение. Например, соединение может быть меченым радиоизотопом, таким как тритий (^3H), йод-125 (^{125}I) или С-14 (^{14}C). В другом примере водород может быть замещен дейтерием с образованием дейтерированного лекарственного средства, и связь, образованная дейтерием и углеродом, является более прочной, чем связь, образованная обычным водородом и углеродом. По сравнению с недейтерированным лекарственным средством дейтерированное лекарственное средство характеризуется следующими преимуществами: сниженным токсическим побочным эффектом, повышенной стабильностью, повышенной эффективностью, пролонгированным биологическим периодом полужизни и т. п. Все изотопные варианты соединений, раскрытых в данном документе, вне зависимости от того, являются ли они радиоактивными, охватываются объемом настоящего изобретения. «Необязательный» или «необязательно» означает, что описанное далее событие или обстоятельство может происходить, но не обязательно происходить, и что описание включает случаи, когда событие или обстоятельство происходит, и случаи, когда не происходит.

[0041] Термин «замещенный» означает, что один или более атомов водорода при конкретном атоме замещены заместителями, которые могут включать варианты дейтерия и водорода, при условии, что валентность конкретного атома является нормальной, и замещенное соединение является стабильным. Если заместитель представляет собой атом кислорода (т. е. =O), то это означает, что два атома водорода являются замещенными. Замещение атомом кислорода не происходит при ароматических группах. Термин «необязательно замещенный» означает, что атом может быть замещен или не замещен заместителем. Если не указано иное, тип и количество заместителей могут быть произвольными, при условии, что это химически достижимо.

[0042] Если любая переменная (например R) встречается более одного раза в строении или структуре соединения, переменная независимо определяется в каждом случае. Таким образом, например, если группа замещена 0-2 R, то данная группа может быть необязательно замещена не более чем двумя R, и определение R в каждом случае является независимым. Кроме того, комбинация заместителя и/или его варианта

является допустимой, только если комбинация может обеспечивать получение стабильного соединения.

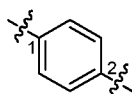
[0043] Если количество линкерных групп равно 0, например $-(CRR)_0-$, это означает, что линкерная группа представляет собой одинарную связь.

[0044] Если один из вариантов выбран из одинарной связи, то две группы, связанные данным вариантом, связаны непосредственно. Например, в A-L-Z, если L представляет собой одинарную связь, это означает, что структура в действительности представляет собой A-Z.

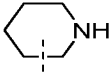
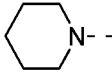
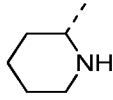
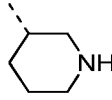
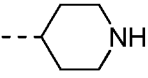
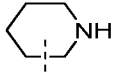
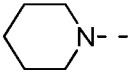
[0045] Если заместитель не указан, это означает, что заместитель отсутствует. Например, если X в A-X отсутствует, структура фактически представляет собой A. Если не указано, каким атомом указанный в перечне заместитель соединен с группой, подлежащей замещению, заместитель может быть соединен посредством любого атома группы. Например, пиридинил в качестве заместителя может быть соединен с группой, подлежащей замещению, посредством любого атома углерода в пиридиновом кольце.

[0046] Если не указано иное, если группа содержит один или более соединяемых сайтов, любой один или более из сайтов группы может быть соединен с другими группами посредством химических связей. Если отсутствует обозначенный способ соединения в случае химической связи, и атомы Н присутствуют в соединяемом сайте, количество атомов Н в соединяемом сайте соответственно снижается в зависимости от количества присоединенных химических связей, и таким образом образуется группа с соответствующим числом валентности. Химическая связь, которая соединяет сайт с другой группой, может быть представлена связью, обозначенной прямой сплошной линией (\diagup), связью, обозначенной прямой пунктирной линией (\dashv) или волнистой линией (\sim). Например, связь, обозначенная прямой сплошной линией в $-OCH_3$, относится к соединению с другой группой посредством атома кислорода в группе;

связь, обозначенная прямой пунктирной линией в $\begin{array}{c} \diagup \\ N \\ \diagdown \\ H \end{array}$, относится к соединению с другой группой посредством двух концевых атомов азота в группе; волнистая линия в



относится к соединению с другой группой посредством атомов углерода в

положениях 1 и 2 в фенильной группе;  означает, что любой соединяемый сайт в пиперидиниле может быть соединен с другой группой посредством 1 связи, и возможны по меньшей мере 4 способа соединения , ,  и ; даже если -N- соединен с атомом H,  включает способ соединения , за исключением того, что если 1 связь соединена с сайтом, количество H в данном сайте соответственно снижается на 1, и таким образом образуется одновалентный пиперидинил.

[0047] Если не указано иное, термин «C₁₋₃алкил» относится к линейной или разветвленной насыщенной углеводородной группе, состоящей из 1-3 атомов углерода. C₁₋₃алкил включает без ограничения C₁₋₂- и C₂₋₃алкил и т. д. и может быть одновалентным (например метил), двухвалентным (например метилен) или поливалентным (например метенил). Примеры C₁₋₃алкила включают без ограничения метил (Me), этил (Et) и пропил (включая *n*-пропил и изопропил).

[0048] Если не указано иное, термин «галогено» или «галоген», сам по себе или в качестве части другого заместителя, относится к атому фтора, хлора, брома или йода.

[0049] Если не указано иное, C_{n-n+m} или C_n-C_{n+m} включает любой из конкретных случаев от n до n + m атомов углерода. Например, C₁₋₁₂ включает C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁ и C₁₂. Кроме того, может быть включен любой диапазон в пределах от n до n+m. Например, C₁₋₁₂ включает C₁₋₃, C₁₋₆, C₁₋₉, C₃₋₆, C₃₋₉, C₃₋₁₂, C₆₋₉, C₆₋₁₂ и C₉₋₁₂. Точно так же n-n+m-членный означает, что количество атомов в кольце составляет от n до n+m. Например, 3-12-членное кольцо включает 3-членное кольцо, 4-членное кольцо, 5-членное кольцо, 6-членное кольцо, 7-членное кольцо, 8-членное кольцо, 9-членное кольцо, 10-членное кольцо, 11-членное кольцо и 12-членное кольцо. n-n+m-членный также представляет любой диапазон от n до n+m. Например, 3-12-членное кольцо включает 3-6-членное кольцо, 3-9-членное кольцо, 5-6-членное кольцо, 5-7-членное кольцо, 6-7-членное кольцо, 6-8-членное кольцо и 6-10-членное кольцо.

[0050] Термин «уходящая группа» относится к функциональной группе или атому, которые могут быть заменены на другую функциональную группу или атом

посредством реакции замещения (например нуклеофильного замещения). Например, иллюстративные уходящие группы включают трифлат; хлор, бром и йод; сульфонатные группы, такие как мезилат, тозилат, *n*-бромбензолсульфонат и *n*-толуолсульфонат, и ацилокси-группы, такие как ацетокси и трифторацетокси.

[0051] Термин «защитная группа» включает без ограничения «защитную группу для аминогруппы», «защитную группу для гидроксигруппы» или «защитную группу для сульфгидрильной группы». Термин «защитная группа для аминогруппы» относится к защитной группе, подходящей для предотвращения побочных реакций при атоме азота аминогруппы. Иллюстративные защитные группы для аминогруппы включают без ограничения формил; ацил, такой как алканоил (например, ацетил, трихлорацетил или трифторацетил); алкоксикарбонил, такой как *трет*-бутоксикарбонил (Boc); арилметилоксикарбонил, такой как бензилоксикарбонил (Cbz) и 9-фторенилметилоксикарбонил (Fmoc); арилметил, такой как бензил (Bn), тритил (Tr), 1,1-ди-(4'-метоксифенил)метил, и силил, такой как триметилсилил (TMS) и *трет*-бутилдиметилсилил (TBS). Термин «защитная группа для гидроксигруппы» относится к защитной группе, подходящей для предотвращения побочных реакций с участием гидроксильной группы. Иллюстративные защитные группы для гидроксигруппы включают без ограничения алкил, такой как метил, этил и *трет*-бутил; ацил, такой как алканоил (например ацетил); арилметил, такой как бензил (Bn), *n*-метоксибензил (PMB), 9-фторенилметил (Fm) и дифенилметил (DPM), и силил, такой как триметилсилил (TMS) и *трет*-бутилдиметилсилил (TBS).

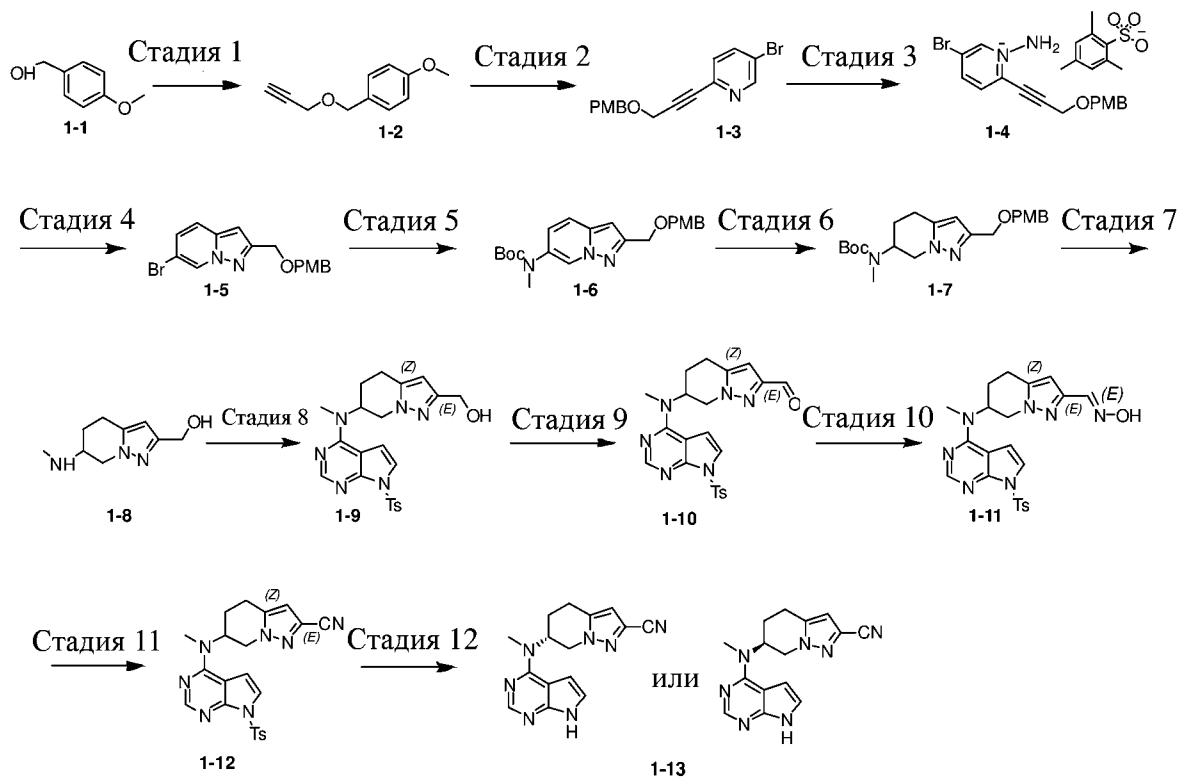
[0052] Соединения по настоящему изобретению могут быть получены посредством различных способов синтеза, хорошо известных специалистам в данной области техники, включая конкретные варианты осуществления, описанные ниже, варианты осуществления, образованные их комбинациями с другими способами химического синтеза, и их эквиваленты, известные специалистам в данной области техники. Предпочтительные варианты осуществления включают без ограничения примеры, раскрытые в данном документе.

[0053] Используемый в данном документе растворитель может быть коммерчески доступным. В данном документе используются следующие сокращения: водн. означает водный; DMF означает *N,N*-диметилформамид.

Подробное описание предпочтительного варианта осуществления

[0054] Настоящее изобретение подробно описано ниже с помощью примеров. Тем не менее, это никоим образом не ограничивает объем настоящего изобретения неблагоприятным образом. Несмотря на то, что настоящее изобретение было подробно описано в данном документе и также были раскрыты конкретные примеры, специалистам в данной области техники будет очевидно, что в конкретные примеры могут быть внесены различные изменения и модификации без отступления от сущности и объема настоящего изобретения.

Пример 1: синтез соединения 1-13



[0055] Стадия 1. (4-Метоксифенил)метанол (50 г, 361,89 ммоль, 45,05 мл, 1 экв.) добавляли к суспензии гидрида натрия (15,92 г, 398,08 ммоль, чистота 60%, 1,1 экв.) в DMF (500 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали в течение 0,5 ч перед медленным добавлением 3-бромпроп-1-ина (59,19 г, 398,08 ммоль, 42,89 мл, 1,1 экв.). Полученный раствор перемешивали при 0°C в течение 2,5 ч и при 25°C в течение 16 ч. TLC (PE:EA = 10:1) продемонстрировала, что реакция была завершена и был образован

новый основной продукт. В реакционную смесь добавляли насыщенный водный раствор хлорида аммония (500 мл). Водную фазу экстрагировали этилацетатом (500 мл × 3). Объединенные органические фазы промывали водой (200 мл × 2) и солевым раствором (200 мл × 1), высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством колоночной хроматографии (петролейный эфир/этилацетат = 1/0-1/1) с получением соединения **1-2**. ¹H ЯМР (400 МГц, DMSO-d₆) δ = 7,27-7,22 (m, 2H), 6,93-6,89 (m, 2H), 4,44 (s, 1H), 4,46-4,41 (m, 1H), 4,12 (d, J = 2,4 Гц, 2H), 3,74 (s, 2H), 3,77-3,72 (m, 1H), 3,46 (t, J = 2,4 Гц, 1H), 3,48-3,45 (m, 1H), 3,48-3,45 (m, 1H), 3,48-3,45 (m, 1H), 3,48-3,44 (m, 1H).

[0056] Стадия 2. Соединение **1-2** (34,14 г, 193,74 ммоль, 25,00 мл, 1,1 экв.), йодид меди (3,35 г, 17,61 ммоль, 0,1 экв.), пиперидин (44,99 г, 528,37 ммоль, 52,18 мл, 3 экв.) и дихлорид бис(трифенилфосфин)палладия(II) (6,18 г, 8,81 ммоль, 0,05 экв.) добавляли в раствор 5-бром-2-йодпиридина (50 г, 176,12 ммоль, 1 экв.) в THF (500 мл) при 25°C. Реакционную систему продували азотом три раза и полученный раствор перемешивали при 25°C в течение 16 ч. TLC (PE:EA = 10:1) продемонстрировала, что реакция была завершена и был образован новый основной продукт. Реакционный раствор фильтровали через целит и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в 800 мл этилацетата и затем промывали с помощью 300 мл воды и 300 мл солевого раствора. Органическую фазу высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, петролейный эфир/этилацетат = 1/0-30/1) с получением соединения **1-3**. ¹H ЯМР (400 МГц, CDCl₃-d) δ = 8,61 (d, J = 1,8 Гц, 1H), 7,75 (dd, J = 2,4, 8,4 Гц, 1H), 7,32-7,28 (m, 1H), 7,32-7,26 (m, 1H), 7,27 (s, 1H), 6,89-6,84 (m, 2H), 4,58 (s, 2H), 4,35 (s, 2H), 3,79-3,76 (m, 1H), 3,77 (s, 2H).

[0057] Стадия 3. Добавляли к соединению **1-3** (1 г, 3,01 ммоль, 1 экв.) при 0°C и полученный раствор перемешивали в течение 16 ч при 25°C. TLC (PE:EA = 2:1) продемонстрировала небольшое количество оставшегося исходного материала и образование нового основного продукта. В реакционную систему медленно добавляли 32 мл *трет*-бутилметилового эфира с перемешиванием при 0°C. Большое количество грязно-белого твердого вещества медленно осаждали. Смесь фильтровали и

высушивали с получением соединения **1-4**. ^1H ЯМР (400 МГц, ХЛОРОФОРМ-*d*) δ = 9,68-9,61 (m, 1H), 7,87-7,79 (m, 1H), 7,45-7,40 (m, 1H), 7,22-7,19 (m, 2H), 6,85-6,77 (m, 2H), 6,76-6,69 (m, 2H), 4,51-4,44 (m, 2H), 4,40-4,32 (m, 2H), 3,78-3,71 (m, 3H), 2,64-2,58 (m, 6H), 2,18-2,13 (m, 3H).

[0058] Стадия 4. Карбонат серебра (10,07 г, 36,53 ммоль, 1,66 мл, 2 экв.) добавляли в раствор соединения **1-4** (10 г, 18,27 ммоль, 1 экв.) в DMF (160 мл) при 25°C. Полученный раствор перемешивали при 40°C в течение 16 ч. LCMS продемонстрировала, что реакция была завершена и был образован новый основной продукт. Реакционный раствор фильтровали через целит и фильтрат концентрировали при пониженном давлении. Остаток растворяли в 200 мл этилацетата и затем промывали с помощью 100 мл воды и 100 мл солевого раствора. Органическую фазу высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, петролейный эфир/этилацетат = 1/0-5/1) с получением соединения **1-5**. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3 -*d*) δ = 8,50-8,46 (m, 1H), 8,50-8,46 (m, 1H), 7,34-7,27 (m, 1H), 7,26-7,21 (m, 2H), 7,10-7,06 (m, 1H), 6,84-6,78 (m, 2H), 6,50-6,46 (m, 1H), 4,67-4,60 (m, 2H), 4,51-4,46 (m, 2H), 3,75-3,71 (m, 3H).

[0059] Стадия 5. Карбонат цезия (8,82 г, 27,07 ммоль, 2 экв.), 4,5-бис(дифенилфосфино)-9,9-диметилксантен (783,26 мг, 1,35 ммоль, 0,1 экв.) и трис(добензилиденацетон)дипалладий (619,79 мг, 676,83 мкмоль, 0,05 экв.) последовательно добавляли в раствор соединения **1-5** (4,7 г, 13,54 ммоль, 1 экв.) и *трет*-бутил*N*-метилкарбамата (5,33 г, 40,61 ммоль, 3 экв.) в DME (30 мл) при 25°C. Реакционную систему продували азотом три раза. Полученный раствор перемешивали при 100°C в течение 16 ч. LCMS продемонстрировала, что реакция была завершена и был образован новый основной продукт. Реакционный раствор фильтровали через целит и осадок на фильтре промывали с помощью 100 мл этилацетата. Объединенные органические фазы последовательно промывали с помощью 100 мл воды и 100 мл солевого раствора, высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Остаток очищали посредством колоночной хроматографии (диоксид кремния, петролейный эфир/этилацетат = 1/0-20/1) с получением соединения **1-6**. При определении посредством MS (ESI)

расчетное значение для $C_{22}H_{27}N_3O_4$ составляло 397, и измеренное значение составляло 398 $[M + H]^+$.

[0060] Стадия 6. Диоксид платины (933,33 мг, 4,11 ммоль, 4,08 экв.) добавляли в раствор соединений **1-6** (4 г, 10,06 ммоль, 1 экв.) в EtOH (60 мл) в атмосфере азота при 25°C. Реакционную систему три раза продували с помощью H_2 . Полученный раствор перемешивали в атмосфере H_2 при 70°C (3 МПа) в течение 72 ч. LCMS продемонстрировала, что реакция была завершена и был образован новый основной продукт. Реакционный раствор фильтровали через целит и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением соединения **1-7**. При определении посредством MS (ESI) расчетное значение для $C_{22}H_{31}N_3O_4$ составляло 401, и измеренное значение составляло 402 $[M + H]^+$; 1H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3-d$) $\delta = 7,32-7,27$ (m, 2H), 6,91-6,85 (m, 2H), 6,07-5,98 (m, 1H), 4,53-4,50 (m, 2H), 4,49-4,46 (m, 2H), 4,32-4,24 (m, 1H), 4,00-3,90 (m, 1H), 3,82-3,79 (m, 3H), 3,82-3,78 (m, 3H), 3,84-3,78 (m, 3H), 3,04-2,93 (m, 1H), 2,88-2,82 (m, 3H), 2,82-2,74 (m, 1H), 2,05-1,89 (m, 2H), 1,52-1,46 (m, 9H), 1,50-1,45 (m, 9H), 1,43-1,35 (m, 1H).

[0061] Стадия 7. Трифторуксусную кислоту (12,33 г, 108,10 ммоль, 8,00 мл, 10,85 экв.) добавляли в раствор соединения **1-7** (4 г, 9,96 ммоль, 1 экв.) в DCM (40 мл) при 0°C. Полученный раствор перемешивали при 25°C в течение 2 ч. LCMS продемонстрировала, что реакция была завершена и был образован новый основной продукт. Раствор концентрировали при пониженном давлении с получением соединения **1-8**. При определении посредством MS (ESI) расчетное значение для $C_9H_{15}N_3O$ составляло 181, и измеренное значение составляло 182 $[M + H]^+$.

[0062] Стадия 8. *N,N*-Диизопропилэтиламин (9,56 г, 74,00 ммоль, 12,89 мл, 7,85 экв.) добавляли в раствор 4-хлор-7-(*n*-толуолсульфонил)пирроло[2,3-*d*]пиримидина (2,9 г, 9,42 ммоль, 1 экв.) и соединения **1-8** (1,81 г, 9,99 ммоль, 1,06 экв.) в DMSO (10 мл) при 25°C. Полученный раствор перемешивали при 110°C в течение 16 ч. LCMS продемонстрировала, что реакция была завершена и был образован новый основной продукт. Реакционный раствор медленно добавляли в 50 мл воды, и медленно осаждалось светло-коричневое твердое вещество. Смесь фильтровали и высушивали с получением соединения **1-9**. При определении посредством MS (ESI) расчетное значение для $C_{22}H_{24}N_6O_3S$ составляло 452, и измеренное значение составляло 453 $[M + H]^+$; 1H ЯМР (400 МГц, $DMSO-d_6$) $\delta = 8,30-8,24$ (m, 1H), 8,01-7,95 (m, 2H), 7,66-7,62 (m,

1H), 7,47-7,40 (m, 2H), 6,99-6,93 (m, 1H), 5,99-5,94 (m, 1H), 5,33-5,17 (m, 1H), 4,96-4,89 (m, 1H), 4,37-4,31 (m, 2H), 4,19-4,11 (m, 1H), 4,10-3,99 (m, 1H), 3,27-3,22 (m, 3H), 3,00-2,90 (m, 1H), 2,87-2,75 (m, 1H), 2,39-2,34 (m, 3H), 2,21-2,10 (m, 1H), 2,00-1,90 (m, 1H).

[0063] Стадия 9. Диоксид марганца (5,76 г, 66,29 ммоль, 15 экв.) добавляли в раствор соединения **1-9** (2 г, 4,42 ммоль, 1 экв.) в смешанном растворителе из DCM (20 мл) и MeOH (2 мл) при 25°C. Полученный раствор перемешивали при 65°C в течение 16 ч. LCMS продемонстрировала, что реакция была завершена и был образован новый основной продукт. Реакционный раствор фильтровали через целит и фильтрат концентрировали при пониженном давлении с получением соединения **1-10**. При определении посредством MS (ESI) расчетное значение для $C_{22}H_{22}N_6O_3S$ составляло 450, и измеренное значение составляло 451 $[M + H]^+$.

[0064] Стадия 10. Раствор гидрохлорида гидроксилamina (370,19 мг, 5,33 ммоль, 1,2 экв.) и ацетата натрия (509,83 мг, 6,22 ммоль, 1,4 экв.) в H₂O (5 мл) добавляли в раствор соединения **1-10** (2 г, 4,44 ммоль, 1 экв.) в EtOH (15 мл) при 25°C. Полученный раствор перемешивали при 25°C в течение 0,5 ч и при 80°C в течение 1,5 ч. LCMS продемонстрировала, что реакция была завершена и был образован новый основной продукт. Реакционный раствор концентрировали при пониженном давлении. Остаток разбавляли с помощью 50 мл и экстрагировали с помощью DCM (50 мл × 3). Объединенные органические фазы промывали с помощью 100 мл солевого раствора, высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением соединения **1-11**. При определении посредством MS (ESI) расчетное значение для $C_{22}H_{23}N_7O_3S$ составляло 465, и измеренное значение составляло 466 $[M + H]^+$.

[0065] Стадия 11. 2,4,6-Триоксид 2,4,6-трипропил-1,3,5,2,4,6-триоксатрифосфинана (9,57 г, 15,04 ммоль, 8,94 мл, чистота 50% , 5 экв.) добавляли в раствор соединения **1-11** (1,4 г, 3,01 ммоль, 1 экв.) в THF (15 мл) при 25°C. Систему перемешивали в течение 10 мин перед добавлением триэтиламина (4,56 г, 45,11 ммоль, 6,28 мл, 15 экв.). Полученный раствор перемешивали при 70 °C в течение 16 ч. LCMS продемонстрировала, что реакция была завершена и был образован новый основной продукт. В реакционный раствор добавляли насыщенный водный раствор хлорида аммония (50 мл). Водную фазу экстрагировали дихлорметаном (100 мл × 3) и

объединенные органические фазы высушивали над безводным сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении. Полученный остаток очищали посредством колоночной хроматографии (петролейный эфир/этилацетат = 1/0-1/1) с получением соединения **1-12**. ^1H ЯМР (400 МГц, CDCl_3-d) δ = 8,41-8,35 (m, 1H), 8,09-8,04 (m, 2H), 7,53-7,49 (m, 1H), 7,53-7,48 (m, 1H), 7,32-7,28 (m, 2H), 6,71-6,65 (m, 1H), 6,45-6,40 (m, 1H), 5,59-5,48 (m, 1H), 4,53-4,46 (m, 1H), 4,09-4,00 (m, 1H), 3,32-3,28 (m, 3H), 3,13-3,06 (m, 1H), 2,97-2,85 (m, 1H), 2,41-2,37 (m, 3H), 2,19-2,10 (m, 2H).

[0066] Стадия 12. Раствор фторида тетрабутиламмония в тетрагидрофуране (1 M, 19,31 мл, 3,2 экв.) добавляли в раствор соединения **1-12** (2,7 г, 6,03 ммоль, 1 экв.) в THF (20 мл) при 25°C. Полученный раствор перемешивали при 65°C в течение 16 ч. LCMS продемонстрировала, что реакция была завершена и был образован новый основной продукт. Реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении с удалением растворителя. Значение pH остатка доводили до щелочного, добавляя насыщенный водный раствор бикарбоната натрия. Смесь фильтровали и затем подвергали хиральному разделению (колонка для хиральной хроматографии: Chiralcel OJ-3, I.D. 50 × 4,6 мм, 3 мкм; подвижная фаза: фаза А представляла собой сверхкритический CO_2 , и фаза В представляла собой MeOH (0,05% DEA); градиент: В в А от 5% до 40%; скорость потока: 3 мл/мин; длина волны: 220 нм; температура колонки: 35°C; обратное давление: 100 бар) с получением (R или S) соединения **1-13** (время удерживания: 1,656 мин). При определении посредством MS (ESI) расчетное значение для $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_7$ составляло 293, и измеренное значение составляло 294 $[\text{M} + \text{H}]^+$; ^1H ЯМР (400 МГц, $\text{DMSO}-d_6$) δ = 12,80-12,56 (m, 1H), 8,43-8,32 (m, 1H), 7,49-7,38 (m, 1H), 7,01-6,88 (m, 1H), 6,88-6,74 (m, 1H), 5,31-5,17 (m, 1H), 4,52-4,36 (m, 2H), 3,45-3,41 (m, 3H), 3,13-3,04 (m, 1H), 3,01-2,91 (m, 1H), 2,38-2,29 (m, 1H), 2,17-2,09 (m, 1H).

Анализ биологической активности

Экспериментальный пример 1. Анализ активности киназ JAK1, JAK2, JAK3, TYK2 *in vitro*

Материалы

[0067] Рекомбинантные человеческие JAK1, JAK2, JAK3 и протеаза TYK2, а также основные инструменты и реагенты предоставлены компанией Eurofins, Великобритания.

Процедуры

[0068] Разбавления JAK2, JAK3 и TYK2: 20 mM 3-(*N*-морфолино)пропансульфоновой кислоты (MOPS), 1 mM EDTA, 0,01% Brij, 35,5% глицерина, 0,1% β-меркаптоэтанола, 1 мг/мл BSA; разбавление JAK1: 20 mM TRIS, 0,2 mM EDTA, 0,1% β-меркаптоэтанола, 0,01% Brij, 35,5% глицерина. Все соединения получали в 100% DMSO и доводили до 50-кратной конечной концентрации для анализа. Тестируемые соединения последовательно 3-кратно разбавляли до 9 значений концентрации от 10 мкМ до 0,001 мкМ, при этом содержание DMSO в анализируемой реакционной смеси составляло 2%. Рабочие исходные растворы соединений добавляли в лунки для анализа в качестве первого компонента реакции и затем добавляли остальные компоненты согласно протоколу анализа, подробно описанному ниже.

Ферментативная реакция JAK1(h)

[0069] JAK1(h) инкубировали с 20 mM Tris/HCl, pH 7,5, 0,2 mM EDTA, 500 мкМ MGEEPLYWSFPAKКК, 10 mM ацетата магния и [γ -³³P]-АТФ (активность и концентрацию определяли при необходимости). Реакцию начинали посредством добавления смеси Mg/АТФ и заканчивали посредством добавления 0,5% фосфорной кислоты через 40 мин инкубации при комнатной температуре. Затем 10 мкл реакционной смеси добавляли по каплям на фильтровальную подушку Р30 и промывали три раза 0,425% фосфорной кислотой и один раз метанолом в течение 4 минут, высушивали и анализировали с применением сцинтилляционного счетчика.

Ферментативная реакция JAK2(h)

[0070] JAK2(h) инкубировали с 8 мМ MOPS, рН 7,0, 0,2 мМ EDTA, 100 мкМ KTFCTPEYLAPEVRREPRILSEEEQEMFRDFDYIADWC, 10 мМ ацетата магния и $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]\text{-ATP}$ (активность и концентрацию определяли при необходимости). Реакцию начинали посредством добавления смеси Mg/ATP и заканчивали посредством добавления 0,5% фосфорной кислоты через 40 мин инкубации при комнатной температуре. Затем 10 мкл реакционной смеси добавляли по каплям на фильтровальную подушку P30 и промывали три раза 0,425% фосфорной кислотой и один раз метанолом в течение 4 минут, высушивали и анализировали с применением сцинтилляционного счетчика.

Ферментативная реакция JAK3(h)

[0071] JAK3(h) инкубировали с 8 мМ MOPS, рН 7,0, 0,2 мМ EDTA, 500 мкМ GGEEEEYFELVKKKK, 10 мМ ацетата магния и $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]\text{-ATP}$ (активность и концентрацию определяли при необходимости). Реакцию начинали посредством добавления смеси Mg/ATP и заканчивали посредством добавления 0,5% фосфорной кислоты через 40 мин инкубации при комнатной температуре. Затем 10 мкл реакционной смеси добавляли по каплям на фильтровальную подушку P30 и промывали три раза 0,425% фосфорной кислотой и один раз метанолом в течение 4 минут, высушивали и анализировали с применением сцинтилляционного счетчика.

Ферментативная реакция TYK2(h)

[0072] TYK2(h) инкубировали с 8 мМ MOPS, рН 7,0, 0,2 мМ EDTA, 250 мкМ GMEDIYFEFMGGKKK, 10 мМ ацетата магния и $[\gamma\text{-}^{33}\text{P}]\text{-ATP}$ (активность и концентрацию определяли при необходимости). Реакцию начинали посредством добавления смеси Mg/ATP и заканчивали посредством добавления 0,5% фосфорной кислоты через 40 мин инкубации при комнатной температуре. Затем 10 мкл реакционной смеси добавляли по каплям на фильтровальную подушку P30 и промывали три раза 0,425% фосфорной кислотой и один раз метанолом в течение 4 минут, высушивали и анализировали с применением сцинтилляционного счетчика.

Анализ данных

[0073] Результаты IC₅₀ получали посредством XLFIT5 (формула 205) от корпорации IDBS, как показано в таблице 1.

Таблица 1. Результаты скрининга *in vitro* для соединений, раскрытых в данном документе

Соединения	ЖАК1 (IC ₅₀ , нМ)	ЖАК2 (IC ₅₀ , нМ)	ЖАК3 (IC ₅₀ , нМ)	ТЮК2 (IC ₅₀ , нМ)
1-13	1	8	118	15

[0074] **Заклучение.** Соединения, раскрытые в данном документе, продемонстрировали хорошее селективное ингибирование ЖАК1 и/или ЖАК2 в анализе активности 4 подтипов киназ ЖАК1, ЖАК2, ЖАК3 и ТЮК2 *in vitro*.

Экспериментальный пример 2. Тест проницаемости

Материалы

[0075] Буферный раствор для переноса представлял собой HBSS (сбалансированный солевой раствор Хенкса) и 10 мМ HEPES [*N*-(2-гидроксиэтил)пиперазин-*N'*-(2-этансульфоновая кислота)], pH 7,40 ± 0,05; клетки Сасо-2 получали от компании АТСС.

Процедуры

[0076] Клетки Сасо-2 высевали при 1 × 10⁵ клеток/см² в (РЕТ) 96-луночных ВД планшетах из полиэтилентерефталата со вставками и среду обновляли каждые 4-5 дней до дня 21-28 с образованием конфлюэнтного монослоя. Тестируемые соединения тестировали в двустороннем формате при 2 мкМ в двух повторностях. Дигоксин добавляли при 10 мкМ в двустороннем формате и надолол и метопролол добавляли при 2 мкМ в двустороннем формате. Конечную концентрацию DMSO доводили до менее 1%. Планшеты инкубировали в инкубаторе с СО₂ при 37 ± 1°С в течение 2 ч и при 5% СО₂ и насыщенной влажности без встряхивания. Все образцы смешивали с

ацетонитрилом, содержащим внутренний стандарт, центрифугировали при 4000 об./мин в течение 10 мин. 100 микролитров надосадочной жидкости разбавляли 100 микролитрами дистиллированной воды для анализа посредством LC/MS/MS. По данным анализа посредством LC/MS/MS значения концентрации тестируемых соединений и эталонного соединения в исходном растворе тестируемого соединения, растворе тестируемого соединения и растворе тестируемого вещества определяли с применением отношения площади пика аналита к внутреннему стандарту. После тестирования с переносом целостность монослоя клеток Caco-2 определяли посредством реакции исключения флуоресцеина желтого и рассчитывали показатель кажущейся проницаемости и коэффициент оттока.

Результаты

[0077] Результаты эксперимента показаны в таблице 2-1.

Таблица 2-1. Проницаемость соединения **1-13**

Название	Средний коэффициент кажущейся проницаемости Среднее значение P_{app} (10^{-6} см/с)		Коэффициент оттока
	От А до В	От В до А	
Надолол	0,16	ND	-
Метопролол	18,11	ND	-
Дигоксин	0,04	13,88	349,25
1-13	28,58	31,18	1,09

[0078] **Заключение:** соединение характеризуется характерной высокой проницаемостью и способствует достижению хорошей концентрации в ткани-мишени и биодоступности при пероральном введении.

[0079] Примечание: ND: не выявлено.

Экспериментальный пример 3. Исследование фармакокинетики (PK)

[0080] Прозрачные растворы, полученные посредством растворения тестируемых соединений, вводили самцам мышей (C57BL/6) или крыс (SD) посредством инъекции в хвостовую вену и желудочного зонда (голодание в течение ночи, возраст 7-8 недель). После введения тестируемых соединений плазму крови отделяли от крови, собранной из нижнечелюстной вены, и центрифугировали в течение 0,117, 0,333, 1, 2, 4, 7 и 24 ч для группы внутривенной инъекции (1 мг/кг) и в течение 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8 и 24 ч для группы желудочного зонда (3 мг/кг). Концентрацию в плазме крови измеряли посредством способа LC-MS/MS и соответствующие фармакокинетические параметры рассчитывали с помощью программного обеспечения для определения фармакокинетики WinNonlin™ версии 6.3 с применением линейно-логарифмического трапециевидного способа без компартментальной модели. Результаты теста являются следующими:

Таблица 3-1. Результаты исследования PK соединения **1-13** у мышей

PK-параметры	Результаты
$T_{1/2}$ (ч)	1,89
C_{max} (нМ)	6000
AUC_{0-inf} (нМ.ч)	12765
Биодоступность (%) ^a	88,4

[0081] Примечание: $T_{1/2}$: период полужизни; C_{max} : пиковая концентрация;

[0082] AUC_{0-inf} : область под кривой зависимости концентрации в плазме крови от времени с момента времени 0 до бесконечности;

[0083] биодоступность: биодоступность.

[0084] **Заключение:** соединения, раскрытые в данном документе, характеризуются хорошей пероральной биодоступностью и более высоким воздействием на мышей и предпочтительны для получения хорошей эффективности *in-vivo*.

Экспериментальный пример 4. Исследование фармакодинамики *in-vivo* при адьювант-индуцированном артрите (AIA) у крыс

[0085] Процедуры:

[0086] соединения, раскрытые в данном документе, тестировали в отношении их эффективности относительно артрита с применением крысиной модели адьювант-индуцированного артрита. Самок крыс Lewis весом 160 и 180 грамм анестезировали изофлураном и им вводили 0,1 мл суспензии *Mycobacterium tuberculosis* путем подкожной инъекции в левую заднюю лапу. Животных объединяли в группы и им вводили соединения через 13 дней после моделирования. Крысам давали разные дозы, как показано в таблице 4-2. Тестируемое соединение 1-13 растворяли в смешанной среде-носителе из [5% DMSO, 95% (12% SBE- β -CD), 0,5% MC]. Самкам крыс Lewis перорально вводили 2 раза в день (8 животных в каждой группе). За состоянием крыс наблюдали в течение двух недель, в течение которых регистрировали увеличение объема стопы и осуществляли балльную оценку с помощью критерия, показанного в таблице 4-1.

Таблица 4-1. Критерий балльной клинической оценки артрита

Показатель	Симптомы
0	Отсутствие эритемы и покраснения
1	Эритема или легкое покраснение возле костей предплюсны, в области голеностопных суставов или костей плюсны, а также покраснение или опухание одного пальца ноги
2	Незначительная эритема и покраснение лодыжки и костей плюсны или покраснение и эритема на двух или более пальцах ног
3	Умеренная эритема и опухание лодыжки, запястья и костей плюсны

4	Сильное покраснение и опухание лодыжки, запястья, костей плюсны и пальцев ног
---	---

[0087] Результаты:

[0088] две группы лечения соединением 1-13 продемонстрировали значительное ослабление эффекта в отношении тенденции к потере веса у животных, вызванной влиянием заболевания, а группы с низкой и средней дозой (3 мг/кг и 10 мг/кг) демонстрировали значительную разницу с дня 20 по сравнению с контрольной группой с растворителем, что свидетельствует о хорошем эффекте в отношении восстановления веса. Соединение 1-13 подавляло повышение клинического показателя артрита и объема лапы, и данное подавление было дозозависимым. Эффект соединения 1-13 при 10 мг/кг демонстрировал наиболее значительную эффективность (значительная разница по сравнению с контрольной группой с растворителем, начиная с дня 15). Средний клинический показатель артрита для данной группы снизился с 6 баллов в день 13 до 1,4 балла при конечной точке исследования в день 27 и значительно отличался по сравнению с контрольной группой с растворителем.

Таблица 4-2. Определение ингибирования по площади под кривой клинического показателя (AUC)

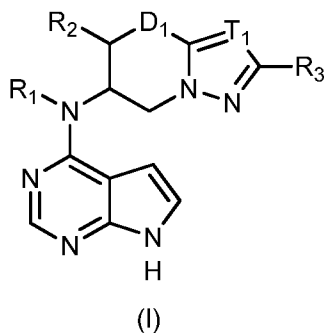
Соединения	Доза (мг/кг)	AUC (%)
Контрольная группа со средой-носителем	0	0%
Соединение 1-13	3	49,6
	10	60,5

[0089] **Заключение:** соединение **1-13**, раскрытое в данном документе, демонстрировало значительный терапевтический эффект (в отношении скорости

ингибирования по сравнению с контролем со средой-носителем, $P < 0,0001$) при дозах 3 мг/кг и 10 мг/кг, и соединение **1-13**, раскрытое в данном документе, демонстрировало положительную корреляцию с дозой 3 мг/кг и 10 мг/кг).

Формула изобретения

1. Соединение, представленное формулой (I), его изомер или его фармацевтически приемлемая соль,



где

T₁ представляет собой CH или N;

D₁ представляет собой одинарную связь, O или CH₂;

R₁ представляет собой H или C₁₋₃алкил, при этом C₁₋₃алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 R_a;

R₂ представляет собой H или C₁₋₃алкил, при этом C₁₋₃алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 R_b;

R₃ выбран из H, F, Cl, Br, I, CN и C₁₋₃алкила, при этом C₁₋₃алкил необязательно замещен 1, 2 или 3 R_c;

каждый из R_a, R_b и R_c независимо выбран из F, Cl, Br, I и NH₂.

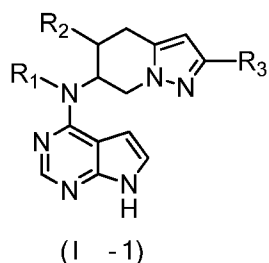
2. Соединение, его изомер или его фармацевтически приемлемая соль по п. 1, где R₁ представляет собой H или CH₃.

3. Соединение, его изомер или его фармацевтически приемлемая соль по п. 1, где R₂ представляет собой H или CH₃.

4. Соединение, его изомер или его фармацевтически приемлемая соль по п. 1, где R₃ выбран из H, F, Cl, Br, I и CN.

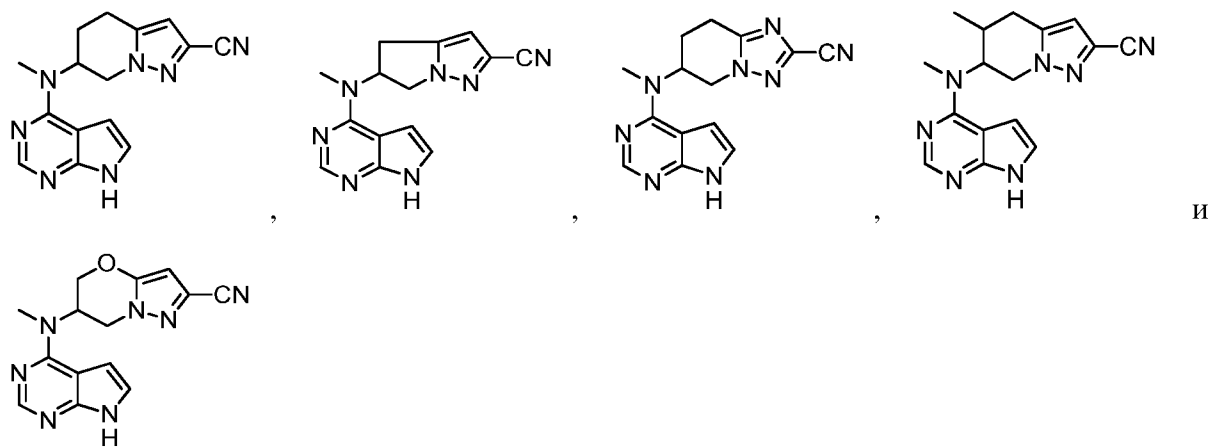
5. Соединение, его изомер или его фармацевтически приемлемая соль по п. 4, где R₃ выбран из CN.

6. Соединение, его изомер или его фармацевтически приемлемая соль по любому из пп. 1-5, где соединение выбрано из:

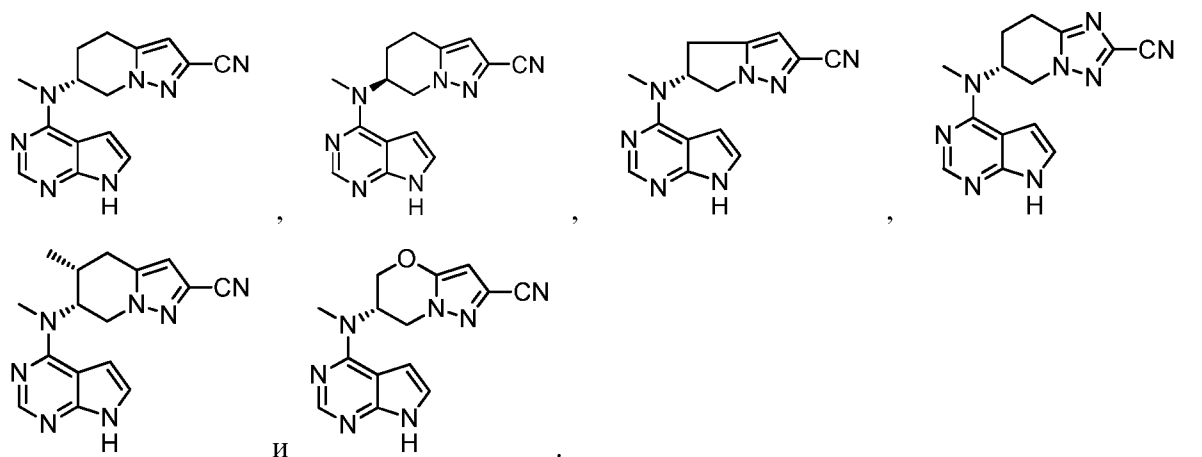


где R₁, R₂ и R₃ определены в любом из пп. 1-5.

7. Соединение следующих формул, его изомер или его фармацевтически приемлемая соль:



8. Соединение, его изомер или его фармацевтически приемлемая соль по п. 7, которые выбраны из



9. Применение соединения или его фармацевтически приемлемой соли по любому из пп. 1-8 в получении лекарственного препарата для лечения заболевания, связанного с JAK1 и/или JAK2.

10. Применение по п.9, где лекарственный препарат представляет собой лекарственный препарат для лечения ревматоидного артрита.