(19) Евразийское патентное ведомство

(11) 042264 (13) B1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.01.30

(21) Номер заявки
201692011

(22) Дата подачи заявки
2015.04.07

(51) Int. Cl. ***A61K 31/397*** (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61K 31/502 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

(54) ЛЕЧЕНИЕ В-КЛЕТОЧНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ КОМБИНАЦИИ ИНГИБИТОРОВ JAK И PI3K

(31) **61/976,815**
(32) **2014.04.08**
(33) **US**
(43) **2017.01.30**
(86) **PCT/US2015/024676**
(87) **WO 2015/157257 2015.10.15**

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

(72) Изобретатель:
Шерле Пегги А., Лю Сюэсун (US)

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

(56) S. L. MAUDE ET AL.: "Targeting JAK1/2 and mTOR in murine xenograft models of Ph-like acute lymphoblastic leukemia", BLOOD, vol. 120, no. 17, 25 October 2012 (2012-10-25), pages 3510-3518, XP055193765, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2012-03-415448, the whole document

WO-A1-2013023119

COSTANZA BOGANI ET AL.: "mTOR Inhibitors Alone and in Combination with JAK2 Inhibitors Effectively Inhibit Cells of Myeloproliferative Neoplasms", PLOS ONE, vol. 8, no. 1, 31 January 2013 (2013-01-31), page e54826, XP055139435, DOI: 10.1371/journal.pone.0054826, the whole document

W. FISKUS ET AL.: "Dual PI3K/AKT/mTOR Inhibitor BEZ235 Synergistically Enhances the Activity of JAK2 Inhibitor against Cultured and Primary Human Myeloproliferative Neoplasm Cells", MOLECULAR CANCER THERAPEUTICS, vol. 12, no. 5, 27 February 2013 (2013-02-27), pages 577-588, XP055193767, ISSN: 1535-7163, DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0862, the whole document

US-A1-2010298334
US-A1-2011224190
WO-A1-2012068450
US-A1-2011059951
WO-A1-2012177606
US-A1-2013059835
WO-A1-2011075630
WO-A1-2011008487
WO-A1-2013072392

BARTALUCCI N. ET AL.: "Co-targeting the P13k/mTOR and JAK2 signalling pathways produced synergistic activity against myeloproliterative neoplasms", JOURNAL OF CELLULAR AND MOLECULAR MEDICINE, UNIVERSITY PRESS CAROL DAVILA, BUCHAREST, RO, vol. 17, no. 11, 1 November 2013 (2013-11-01), pages 1385-1396, XP002736663, ISSN: 1582-1838, DOI: 10.1111/JCMM.12162 [retrieved on 2013-11-17], the whole document

(57) Изобретение относится к способу лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту: (a) ингибитора JAK1 и (b) ингибитора PI3Kδ; причем: (a) указанный ингибитор JAK1 выбран из {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила; 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида; ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1H-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2H-пиран-2-ил)ацетонитрила и 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида или фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения и (b) указанный ингибитор PI3Kδ выбран из 7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-она; 4-{3-[1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил}пирролидин-2-она или фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения. Указанная диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома представляет собой активированную В-клеточноподобную (ABC) диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому или является В-клетками зародышевого центра (GCB) диффузной крупноклеточной В-клеточной

042264 B1

042264 B1

лимфомы (GCB-DLBCL). Указанный ингибитор JAK1 и указанный ингибитор PI3Kδ вводят одновременно или последовательно.

042264 B1

Область изобретения

Настоящее изобретение относится к способам лечения В-клеточных злокачественных новообразований с применением комбинации ингибиторов JAK1 и/или JAK2 и ингибиторов PI3Kδ.

Уровень техники

В-клеточный рецептор (BCR) присутствует как на нормальных, так и на большинстве злокачественных В-клеток. Вовлечение BCR обеспечивает важные сигналы выживания, и прерывание сигнала BCR может приводить к гибели В-клетки. Исследования, проводившиеся с миРНК для ингибирования экспрессии BCR, продемонстрировали, что конститутивный сигнал со стороны BCR является критичным для выживания и пролиферации В-клеточных лимфом человека. Первичная роль сигнала BCR в этих клетках состоит в активации тирозинкиназы селезенки (Syk), которая, в свою очередь, приводит к нескольким последующим событиям, способствующих выживанию клетки, включая активацию тирозинкиназы Брутона (BTK), фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K) и AKT. Было продемонстрировано, что многие В-клеточные злокачественные новообразования, включая диффузную крупноклеточные В-клеточные лимфомы (DLBCL), особенно зависят от сигналов выживания BCR, о чем свидетельствует их чувствительность к генетическому и фармакологическому ингибированию компонентов сигнала BCR in vitro. Было продемонстрировано, что клетки DLBCL используют PI3K, что усиливает антиапоптозный сигнал NF-kB и сигнал выживания, и ингибирование путей PI3K/AKT усиливается ингибированием NF-kB при уничтожении линий клеток DLBCL in vitro.

Нарушенная активация JAK путем продуцирования цитокинов и факторов роста также связана с повышенной пролиферацией и выживанием злокачественных клеток во многих типах опухолей. JAK активируют многие последующие пути, участвующие в пролиферации и выживании злокачественных клеток, включая STAT, группу важных латентных факторов транскрипции. Клинически значимым является то, что уровень ИЛ-10 и ИЛ-6 в сыворотке, которые сигнализируют через JAK, оказался повышенным у пациентов с DLBCL по сравнению с нормальными контрольными субъектами (Gupta et al., 2012). Кроме того, пациенты с высоким уровнем ИЛ-10 в сыворотке демонстрировали более короткую бессобытийную выживаемость (Gupta et al., 2012). Было продемонстрировано, что в пределах JAK-семейства киназ JAK1 взаимодействует с JAK2, JAK3 и TYK2 и играет доминирующую роль в опосредовании сигнала многих воспалительных цитокинов, включая ИЛ-6, ИЛ-10 и интерферон.

При DLBCL активация сигнала JAK происходит как через аутокринные, так и через паракринные механизмы. В опухолевых клетках сигнал BCR ведет к повышенному продуцированию ИЛ-6 и ИЛ-10 через активацию пути NF-kB (Lam et al., 2008). Подгруппа разновидностей DLBCL характеризуется как имеющая высокий уровень экспрессии STAT3, ИЛ-6 и/или ИЛ-10, и было продемонстрировано, что ингибирование JAK в этих линиях клеток DLBCL является цитотоксичным и усиливается ингибиторами NF-kB. Помимо активации пути JAK/STAT через аутокринные пути, стромальный компартмент также может обеспечивать источник этих цитокинов паракринным способом (Hodge et al., 2005).

По этим причинам существует потребность в разработке новых видов терапии, которые могут применяться для лечения В-клеточных злокачественных новообразований, таких, как DLBCL. Это изобретение касается этой и других потребностей.

Описание фигур

Фиг. 1A демонстрирует вестерн-блоттинг на наличие ИЛ6 и ИЛ10 для различных линий клеток DLBCL.

Фиг. 1B демонстрирует вестерн-блоттинг на актин и p-Stat3 для клеток Пфейффера, обработанных ИЛ6 или ИЛ10.

Фиг. 2A демонстрирует % ингибирования в анализе пролиферации клеток для клеток Пфейффера в зависимости от концентрации соединения 28 с основой (ДМСО), ДМСО+ИЛ10 и ДМСО+ИЛ10+руксолитиниб.

Фиг. 2B демонстрирует % ингибирования в анализе пролиферации клеток для клеток Пфейффера в зависимости от концентрации соединения 28 с основой (ДМСО), ДМСО+ИЛ10 и ДМСО+ИЛ10+Соединение 7.

Фиг. 3 демонстрирует % ингибирования в анализе пролиферации клеток для клеток HBL-1 в зависимости от концентрации соединения 28 с основой (ДМСО), ДМСО+ИЛ10 и ДМСО+ИЛ10+руксолитиниб.

Фиг. 4 демонстрирует вестерн-блоттинг клеток Пфейффера после обработки основой (ДМСО), руксолитинибом, соединением 28 или соединением 28 и руксолитинибом с ИЛ10 или без него.

Фиг. 5 демонстрирует вестерн-блоттинг клеток Пфейффера после обработки основой (ДМСО), соединением 7, соединением 28 или соединением 28 и соединением 7 с ИЛ10 или без него.

Фиг. 6 демонстрирует % ингибирования в анализе пролиферации клеток для клеток Пфейффера в зависимости от концентрации соединения 28 с основой (ДМСО), ДМСО+ИЛ10 и ДМСО+ИЛ10+соединение 16.

Фиг. 7 демонстрирует окрашивание Аннексином-V клеток Пфейффера, обработанных соединением 28 +/- соединением 16, с демонстрацией синергетической индукции апоптоза в результате комбинированной терапии.

Фиг. 8 демонстрирует вестерн-блоттинг клеток Пфеффера после обработки соединением 28 +/- соединением 16 с демонстрацией воздействия на STAT3 и pAKT.

Краткое описание сущности изобретения

Данная заявка предлагает способ лечения диффузной В-клеточной у пациентов, которые в этом нуждаются, включающий введение пациенту: (a) ингибитора JAK1 и (b) ингибитора PI3K5, причем:

(a) указанный ингибитор JAK1 выбран из

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

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

((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1H-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2H-пиран-2-ил)ацетонитрила; и

4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида;

или фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения и

(b) указанный ингибитор PI3K5 выбран из

7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-а]пиримидин-5-она;

4-{3-[1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил}пирролидин-2-она;

или фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения.

В одном из вариантов способа указанный ингибитор JAK1 представляет собой {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль и указанный ингибитор PI3K5 представляет собой 7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-а]пиримидин-5-он или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте указанный ингибитор JAK1 представляет собой соль {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и адипиновой кислоты.

В еще одном варианте указанный ингибитор JAK1 представляет собой 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте указанный ингибитор PI3Kδ выбран из

(S)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она;

(R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она;

(S)-4-(3-((R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она; и

(R)-4-(3-((R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она;

или фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения.

В еще одном варианте способа указанный ингибитор PI3Kδ представляет собой (S)-7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-а]пиримидин-5-он или его фармацевтически приемлемую соль.

Настоящее изобретение относится к способу лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы у пациента, который в этом нуждается, включающий введение указанному пациенту соли {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и адипиновой кислоты и (S)-7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-а]пиримидин-5-она или его фармацевтически приемлемой соли.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы у пациента, который в этом нуждается, включающий введение указанному пациенту 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида или его фармацевтически приемлемой соли и 7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-а]пиримидин-5-она или его фарма-

цевтически приемлемой соли.

В одном варианте указанный ингибитор JAK1 представляет собой ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1H-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2H-пиран-2-ил)ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте указанный ингибитор JAK1 представляет собой 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид или его фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте указанный ингибитор PI3Kδ представляет собой (S)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте указанный ингибитор PI3Kδ представляет собой (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он или его фармацевтически приемлемую соль.

В еще одном варианте указанный ингибитор PI3Kδ представляет собой (S)-4-(3-((R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте указанный ингибитор PI3Kδ представляет собой (R)-4-(3-((R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он или его фармацевтически приемлемую соль.

В одном из вариантов ингибитор JAK1 представляет собой {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль; и указанный ингибитор PI3Kδ выбран из

(S)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она;

(R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она;

(S)-4-(3-((R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она; и

(R)-4-(3-((R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она;

и фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту:

(a) ингибитора JAK1 и (b) ингибитора PI3Kδ; причем

указанный ингибитор JAK1 выбран из

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

((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1H-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2H-пиран-2-ил)ацетонитрила; и

4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида;

или фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения и

ингибитор PI3Kδ выбран из

7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-она, и

4-{3-[1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она;

или фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту:

(a) ингибитора JAK1 и (b) ингибитора PI3Kδ; причем:

(a) ингибитор JAK1 представляет собой

{1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль и

(b) ингибитор PI3Kδ выбран из

7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-она и

4-{3-[1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она;

или фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения.

В одном варианте диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома представляет собой активированную В-клеточноподобную (ABC) диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому.

В другом варианте указанная диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома является В-клетками зародышевого центра (GCB) диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (GCB-DLBCL).

В еще одном варианте указанный ингибитор JAK1 и указанный ингибитор PI3Kδ вводят одновременно.

В другом варианте указанный ингибитор JAK1 и указанный ингибитор PI3Kδ вводят последовательно.

Подробное описание сущности изобретения

Данная заявка предлагает, помимо прочего, способ лечения заболевания, выбранного из диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL), неходжкинской лимфомы, лейкоза ворсистых клеток, лимфомы из клеток зоны мантии, мелкоклеточной лимфоцитарной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфоплазмоцитарной лимфомы, экстранодальной лимфомы из клеток маргинальной зоны, лимфомы Ходжкина, лимфомы Беркитта, макроглобулинемии Вальденстрёма, пролимфоцитарного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, миелофиброза, лимфомы лимфатической ткани слизистых оболочек (MALT), медиастинальной (тимусной) крупноклеточной В-клеточной лимфомы, лимфоматоидного гранулематоза, лимфомы маргинальной зоны селезенки, первичной выпотной лимфомы, внутрисосудистой крупноклеточной В-клеточной лимфомы, плазмоклеточного лейкоза, экстрамедуллярной плазмацитомы, тлеющей миеломы (также известной как бессимптомная миелома), моноклональной гаммапатии неясного генеза (MGUS), активированной В-клеточноподобной (ABC) диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (ABC-DLBCL) и лимфомы В-клеток зародышевого центра (GCB) - диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (GCB-DLBCL) у пациентов, которые в этом нуждаются, который включает введение пациенту: (a) ингибитора JAK1 и/или JAK2 и (b) ингибитора PI3Kδ.

В некоторых вариантах реализации неходжкинской лимфомой является неходжкинская лимфома (NHL) в форме рецидивной или рефрактерной NHL или рецидивирующей фолликулярной NHL.

В некоторых вариантах реализации заболевание представляет собой диффузную крупноклеточную В-клеточная лимфому (DLBCL).

В некоторых вариантах реализации заболевание представляет собой активированную В-клеточноподобную (ABC) диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (ABC-DLBCL) или лимфому В-клеток зародышевого центра (GCB) - диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (GCB-DLBCL).

В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 и ингибитор PI3Kδ вводят одновременно.

В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 и ингибитор PI3Kδ вводят последовательно.

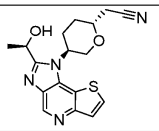
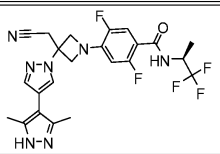
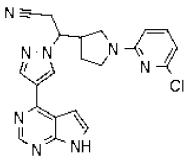
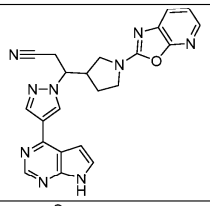
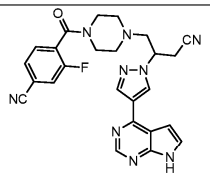
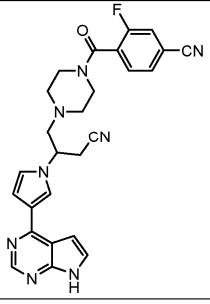
В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 являются селективными к JAK1 и JAK1 перед JAK3 и TYK2. В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 является селективным к JAK1 перед JAK2, JAK3 и TYK2.

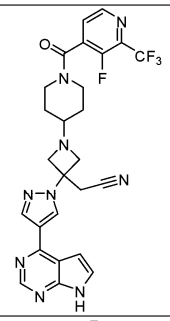
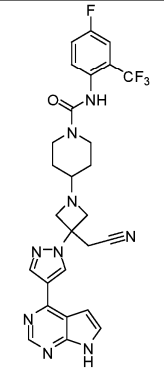
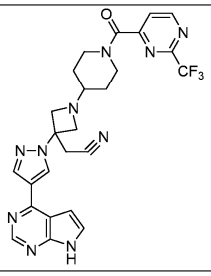
Например, некоторые из описываемых авторами соединений или их фармацевтически приемлемых солей ингибируют JAK1 предпочтительно перед одним или несколькими из JAK2, JAK3 и TYK2. В некоторых вариантах реализации соединения ингибируют JAK1 предпочтительно перед JAK2 (например, имеют соотношение JAK1/JAK2 IC_{50}>1). В некоторых вариантах реализации соединения или соли являются приблизительно в 10 раз более селективными к JAK1 перед JAK2. В некоторых вариантах реализации соединения или соли являются приблизительно в 3 раза, приблизительно в 5 раз, приблизительно в 10 раз, приблизительно в 15 раз или приблизительно в 20 раз более селективными к JAK1 перед JAK2, согласно расчетам путем измерения IC_{50} при 1 мМ АТФ (например, см. Пример А).

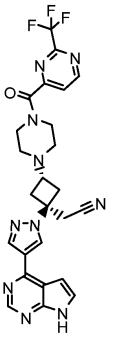
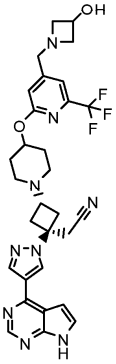
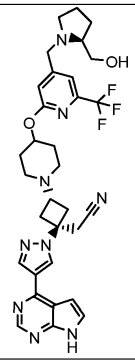
В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой 3-циклопентил-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропаннитрил. В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой (3R)-3-циклопентил-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропаннитрил (руксолитиниб; также известный как INCB018424). Руксолитиниб имеет IC_{50} менее 10 нМ при 1 мМ АТФ (анализ А) для JAK1 и JAK2. 3-Циклопентил-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропаннитрил и руксолитиниб могут быть получены с применением процедуры, описываемой в заявке США 7598257 (пример 67), поданной 12 декабря 2006 г., которая включена в данное описание путем ссылки в полном объеме. В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой соль (3R)-3-циклопентил-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропаннитрила с фосфорной кислотой.

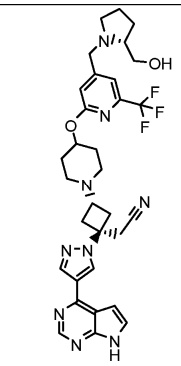
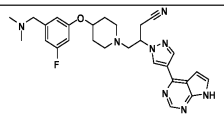
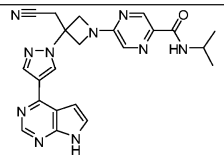
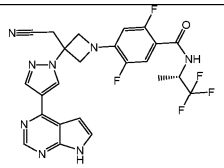
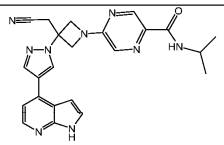
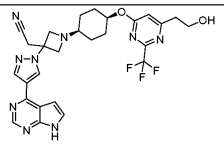
В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой соединение из табл. 1 или его фармацевтически приемлемую соль. Соединения из табл. 1 являются селективными ингибиторами JAK1 (селективными перед JAK2, JAK3 и TYK2). Показатели IC_{50}, полученные способом согласно анализу А при 1 мМ АТФ, показаны в табл. 1.

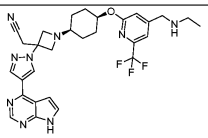
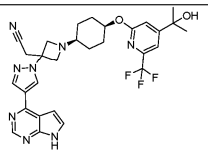
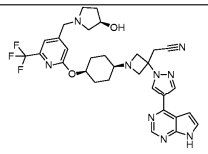
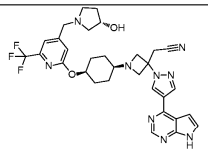
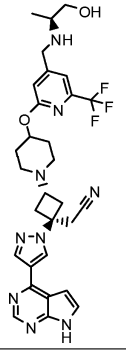
Таблица 1

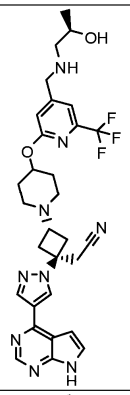
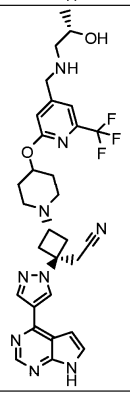
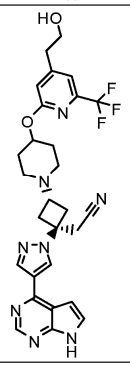
№	Преп.	Название	Структура	JAK1 IC_{50} (нМ)	JAK2 / JAK1
1	Пример 1	((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1H-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2H-пиран-2-ил)ацетонитрил		++	>10
2	Пример 2	4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид		+++	>10
3	US 2010/0298334 (Пример 2)[a]	3-[1-(6-хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропаннитрил		+	>10
4	US 2010/0298334 (Пример 13c)	3-(1-[1,3]оксазоло[5,4-b]пиридин-2-илпирролидин-3-ил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропаннитрил		+	>10
5	US 2011/0059951 (Пример 12)	4-[(4-{3-циано-2-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрил		+	>10
6	US 2011/0059951 (Пример 13)	4-[(4-{3-циано-2-[3-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиррол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрил		+	>10

7	US 2011/ 0224190 (Пример 1)	{1-{1-[3-Фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	>10
8	US 2011/ 0224190 (Пример 154)	4-{3-(Цианометил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-[4-фтор-2-(трифторметил)фенил]пиперидин-1-карбоксамид		+	>10
9	US 2011/ 0224190 (Пример 85)	[3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]-1-(1-{[2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]карбонил}пиперидин-4-ил)азетидин-3-ил]ацетонитрил		+	>10

10	US 2012/ 0149681 (Пример 7b)	[транс-1-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]-3-(4-{[2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]карбонил}пиперазин-1-ил)циклобутил]ацетонитрил		+	>10
11	US 2012/ 0149681 (Пример 157)	{транс-3-(4-{[4-[(3-гидроксиазетидин-1-ил)метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	>10
12	US 2012/ 0149681 (Пример 161)	{транс-3-(4-{[4-{[(2S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	>10

13	US 2012/0149681 (Пример 162)	{транс-3-(4-{[4-{[(2R)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	>10
14	US 2012/0149682 (Пример 20)[b]	4-(4-{3-[(диметиламино)метил]-5-фторфенокси}пиперидин-1-ил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]бутаннитрил		+	>10
15	US 2013/0018034 (Пример 18)	5-{3-(цианометил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид		+	>10
16	US 2013/0018034 (Пример 28)	4-{3-(цианометил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид		+	>10
17	US 2013/0018034 (Пример 34)	5-{3-(цианометил)-3-[4-(1H-пирроло[2,3-b]пиридин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-N-изопропилпиразин-2-карбоксамид		+	>10
18	US 2013/0045963 (Пример 45)	{1-(цис-4-{[6-(2-гидроксиэтил)-2-(трифторметил)пиримидин-4-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	>10

19	US 2013/ 0045963 (Пример 65)	{1-(цис-4-{[4-[(этиламино)метил]-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	>10
20	US 2013/ 0045963 (Пример 69)	{1-(цис-4-{[4-(1-гидрокси-1-метилэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	>10
21	US 2013/ 0045963 (Пример 95)	{1-(цис-4-{[4-{[(3R)-3-гидроксипирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	>10
22	US 2013/ 0045963 (Пример 95)	{1-(цис-4-{[4-{[(3S)-3-гидроксипирролидин-1-ил]метил}-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}циклогексил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил		+	>10
23	US 2014/ 0005166 (Пример 1)	{транс-3-(4-{[4-({[(1S)-2-гидрокси-1-метилэтил]амино}метил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	>10

24	US 2014/ 0005166 (Пример 14)	{транс-3-(4-{[4-({[(2R)-2-гидроксипропил]амино}метил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	>10
25	US 2014/ 0005166 (Пример 15)	{транс-3-(4-{[4-({[(2S)-2-гидроксипропил]амино}метил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	>10
26	US 2014/ 0005166 (Пример 20)	{транс-3-(4-{[4-(2-гидроксиэтил)-6-(трифторметил)пиридин-2-ил]окси}пиперидин-1-ил)-1-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]циклобутил}ацетонитрил		+	>10

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

++ означает ≤ 100 нМ (условия анализа см. в примере А)

+++ означает ≤ 300 нМ (условия анализа см. в примере А)

[a] Данные для энантиомера 1

[b] Данные для энантиомера 2

В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой соль {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и адипиновой кислоты.

В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 выбран из группы, к которой относятся (R)-3-[1-(6-хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил, (R)-3-(1-[1,3]оксазоло[5,4-b]пиридин-2-илпирролидин-3-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил, (R)-4-[(4-{3-циано-2-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрил, (R)-4-[(4-{3-циано-2-[3-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиррол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрил, или (R)-4-(4-{3-[(диметиламино)метил]-5-фторфенокси}пиперидин-1-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]бутаннитрил, (S)-3-[1-(6-хлорпиридин-2-ил)пирролидин-3-ил]-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил, (S)-3-(1-[1,3]оксазоло[5,4-b]пиридин-2-илпирролидин-3-ил)-3-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]пропаннитрил, (S)-4-[(4-{3-циано-2-[4-(7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1Н-пиразол-1-ил]про-

пил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрил, (S)-4-[(4-{3-циано-2-[3-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиррол-1-ил]пропил}пиперазин-1-ил)карбонил]-3-фторбензонитрил, (S)-4-(4-{3-[(диметиламино)метил]-5-фторфенокси}пиперидин-1-ил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]бутаннитрил; и фармацевтически приемлемые соли любого вышеуказанного соединения.

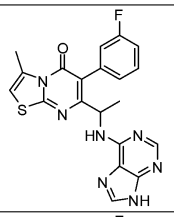
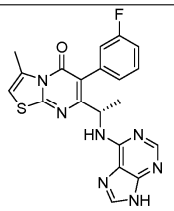
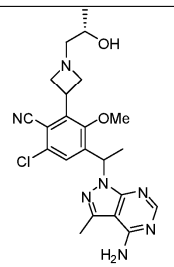
В некоторых вариантах реализации соединения из табл. 1 получают с применением процедур синтеза, описываемых в Патентной публикации США № 2010/0298334, поданной 21 мая 2010 г., Патентной публикации США № 2011/0059951, поданной 31 августа 2010 г., Патентной публикации США № 2011/0224190, поданной 9 марта 2011 г., Патентной публикации США № 2012/0149681, поданной 18 ноября 2011 г., Патентной публикации США № 2012/0149682, поданной 18 ноября 2011 г., Патентной публикации США № 2013/0018034, поданной 19 июня 2012 г., Патентной публикации США № 2013/0045963, поданной 17 августа 2012 г., и Патентной публикации США № 2014/0005166, поданной 17 мая 2013 г., каждая из которых включена в данное описание путем ссылки в полном объеме.

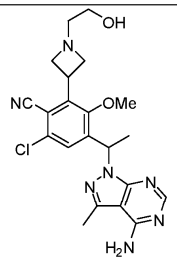
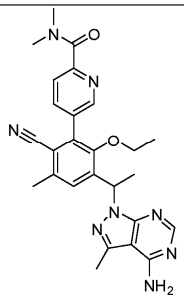
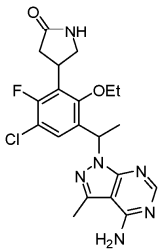
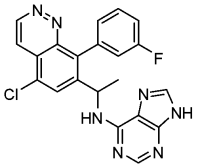
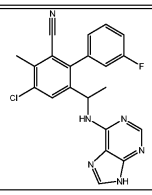
В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 выбран из группы, к которой относятся соединения согласно Патентной публикации США № 2010/0298334, поданной 21 мая 2010 г., Патентной публикации США № 2011/0059951, поданной 31 августа 2010 г., Патентной публикации США № 2011/0224190, поданной 9 марта 2011 г., Патентной публикации США № 2012/0149681, поданной 18 ноября 2011 г., Патентной публикации США № 2012/0149682, поданной 18 ноября 2011 г., Патентной публикации США № 2013/0018034, поданной 19 июня 2012 г., Патентной публикации США № 2013/0045963, поданной 17 августа 2012 г., и Патентной публикации США № 2014/0005166, поданной 17 мая 2013 г., каждая из которых включена в данное описание путем ссылки в полном объеме.

Описываемые авторами ингибиторы PI3Kδ могут быть селективными. Под "селективными" следует понимать, что соединение связывается с киназой или ингибирует ее с большей аффинностью или активностью, соответственно, по сравнению с как минимум одной другой киназой. В некоторых вариантах реализации описываемые авторами соединения являются селективные ингибиторы PI3Kδ (например, перед PDKα, PI3Kβ и PI3Kγ). В некоторых вариантах реализации селективность может быть большей как минимум приблизительно в 2 раза, в 5 раз, в 10 раз, как минимум приблизительно в 20 раз, как минимум приблизительно в 50 раз, как минимум приблизительно в 100 раз, как минимум приблизительно в 200 раз, как минимум приблизительно в 500 раз или как минимум приблизительно в 1000 раз. Селективность измеряют способами, хорошо известными специалистам в данной области. В некоторых вариантах реализации селективность испытывают при концентрация K_m АТФ каждого фермента. В некоторых вариантах реализации селективность описываемых авторами соединений может определяться путем клеточных анализов, связанных с активностью конкретной PI3K киназы.

В некоторых вариантах реализации ингибитором PI3Kδ является соединение, показанное в табл.2. Соединения из табл. 2 испытывали в Анализе B, и они проявили себя как ингибиторы PI3Kδ с показателями IC_{50}, представленными в табл. 2.

Таблица 2

№	Преп.	Название	Структура	PI3Kδ IC_{50} (нМ)
27	US 2011/0015212 (Пример 10)	7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-он		+
28	US 2011/0015212 (Пример 15)	(S)-7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-он		+
29	US 2013/0059835 (Пример 269)	4-[1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-6-хлор-2-{1-[(2S)-2-гидроксипропил]азетидин-3-ил}-3-метоксибензонитрил		+

30	US 2013/ 0059835 (Пример 268)	4-[1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-6-хлор-2-[1-(2-гидроксиэтил)азетидин-3-ил]-3-метоксибензонитрил		+
31	US 2013/ 0059835 (Пример 314)	5-{3-[1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-6-циано-2-этокси-5-метилфенил}-N,N-диметилпиридин-2-карбоксамид		+
32a, 32b, 32c, 32d	US 2013/ 0059835 (Пример 345-348 (четыре диастереомера)) Соединения 32a, 32b, 32c и 32d являются Примерами 345, 346, 347, и 348 соответственно	4-{3-[1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил}пирролидин-2-он		32a (++), 32b (+) 32c (+) 32d (++)
33	US 2011/0183985 (Пример 17- один энантиомер)	N-{1-[5-хлор-8-(3-фторфенил)циннолин-7-ил]этил}-9H-пурин-6-амин		+
34	US 2012/ 0157430	4-хлор-3'-фтор-3-метил-6-[1-(9H-пурин-6-иламино)этил]бифенил-2-карбонитрил		+++

+ означает <50 нМ

++ означает от 50 до 200 нМ

+++ означает от 50 до 100 нМ

В некоторых вариантах реализации ингибитор PI3Kδ выбран из соединений, к которым относятся

(S)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он;

(R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он;

(S)-4-(3-((R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он;

(R)-4-(3-((R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он;

N-{(1S)-1-[5-хлор-8-(3-фторфенил)циннолин-7-ил]этил}-9H-пурин-6-амин;

и фармацевтически приемлемые соли любого из вышеупомянутых соединений.

В некоторых вариантах реализации ингибитором PI3Kδ является (S)-7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-он или его фармацевтически приемлемая соль.

В некоторых вариантах реализации ингибитором PI3Kδ является 4-[1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-6-хлор-2-{1-[(2S)-2-гидроксипропил]азетидин-3-ил}-3-метоксибензонитрил или его фармацевтически приемлемая соль.

В некоторых вариантах реализации ингибитором PI3Kδ является 4-[1-(4-амино-3-метил-1H-

пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-6-хлор-2-[1-(2-гидроксиэтил)азетидин-3-ил]-3-метоксибензонитрил или его фармацевтически приемлемая соль.

В некоторых вариантах реализации ингибитором PI3Kδ является 5-{3-[1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-6-циано-2-этокси-5-метилфенил}-N,N-диметилпиридин-2-карбоксамид или его фармацевтически приемлемая соль

В некоторых вариантах реализации ингибитор PI3Kδ выбран из соединений, к которым относятся

4-[(R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-6-хлор-2-{1-[(2S)-2-гидроксипропил]азетидин-3-ил}-3-метоксибензонитрил;

4-[1(R)-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-6-хлор-2-[1-(2-гидроксиэтил)азетидин-3-ил]-3-метоксибензонитрил;

5-{3-[1(R)-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-6-циано-2-этокси-5-метилфенил}-N,N-диметилпиридин-2-карбоксамид;

4-[(S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-6-хлор-2-{1-[(2S)-2-гидроксипропил]азетидин-3-ил}-3-метоксибензонитрил;

4-[1(S)-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-6-хлор-2-[1-(2-гидроксиэтил)азетидин-3-ил]-3-метоксибензонитрил;

5-{3-[1(S)-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-6-циано-2-этокси-5-метилфенил}-N,N-диметилпиридин-2-карбоксамид;

и фармацевтически приемлемые соли любого из вышеупомянутых соединений.

В некоторых вариантах реализации ингибитором PI3Kδ является соединение согласно Патентной публикации США № US 2011/0015212, поданной 28 июня 2010 г., Патентной публикации США № 2013/0059835, поданной 31 августа 2013 г., Патентной публикации США № 2011/0183985, поданной 17 декабря 2010 г., или Патентной публикации США № 2012/0157430, поданной 19 декабря 2011 г., каждая из которых включена в данное описание путем ссылки в полном объеме.

В некоторых вариантах реализации соединения из табл. 2 получают с применением способов согласно Патентной публикации США № US 2011/0015212, поданной 28 июня 2010 г., Патентной публикации США № 2013/0059835, поданной 31 августа 2013 г., Патентной публикации США № 2011/0183985, поданной 17 декабря 2010 г., или Патентной публикации США № 2012/0157430, поданной 19 декабря 2011 г., каждая из которых включена в данное описание путем ссылки в полном объеме.

В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой (3R)-3-циклопентил-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропаннитрил или его фармацевтически приемлемую соль и (7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-он или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор PI3Kδ представляет собой 7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-он или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах реализации ингибитор JAK1 и/или JAK2 представляет собой 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид или его фармацевтически приемлемую соль и ингибитор PI3Kδ представляет собой 7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-он или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах реализации данная заявка обеспечивает способ лечения диффузной крупноклеточной B-клеточной лимфомы у пациентов, которые в этом нуждаются, который включает введение пациенту (3R)-3-циклопентил-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]пропаннитрила или его фармацевтически приемлемой соли; и ингибитор PI3Kδ представляет (7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-он или его фармацевтически приемлемую соль.

В некоторых вариантах реализации данная заявка обеспечивает способ лечения диффузной крупноклеточной B-клеточной лимфомы у пациентов, которые в этом нуждаются, который включает введение пациенту {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила или его фармацевтически приемлемой соли и 7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-она или его фармацевтически приемлемой соли.

В некоторых вариантах реализации данная заявка обеспечивает способ лечения диффузной крупноклеточной B-клеточной лимфомы у пациентов, которые в этом нуждаются, который включает введение пациенту 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-

2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида или его фармацевтически приемлемой соли и 7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-она или его фармацевтически приемлемой соли.

Описываемые авторами соединения могут быть асимметричными (например, имеющими один или несколько стереоцентров). Предполагаются все стереоизомеры, такие, как энантиомеры и диастереомеры, если не указано иного. Соединения, содержащие асимметрично замещенные атомы углерода, могут быть выделены в оптически активных или рацемических формах. Способы получения оптически активных форм из оптически неактивных исходных материалов известны специалистам в данной области, например, разделение рацемических смесей или стереоселективный синтез. Многие геометрические изомеры олефинов, двойные связи C=N и т. п. также могут присутствовать в описываемых авторами соединениях, и все эти устойчивые изомеры предусматриваются настоящим изобретением. Цис- и транс-геометрические изомеры соединений согласно настоящему изобретению описываются и могут быть выделены в виде смесей изомеров или в отдельных изомерных формах.

В некоторых вариантах реализации соединение имеет (R)-конфигурацию. В некоторых вариантах реализации соединение имеет (R)-конфигурацию.

Разделение рацемических смесей соединений осуществляют любым из многих способов, известных специалистам в данной области. Пример способа включает фракционную перекристаллизацию с применением хиральной разделяющей кислоты, которая является оптически активной, солеобразующей органической кислотой. Подходящими разделяющими агентами для способов фракционной рекристаллизации являются, например, оптически активные кислоты, такие как D и L формы винной кислоты, диацетилвинной кислоты, дибензоилвинной кислоты, миндальной кислоты, яблочной кислоты, молочной кислоты или различных оптически активных камфорсульфоновых кислот, таких, как β-камфорсульфоновая кислота. К другим разделяющим агентам, подходящим для способов фракционной кристаллизации, относятся стереоизомерно чистые формы α-метилбензиламина (например, S и R формы или диастереомерно чистые формы), 2-фенилглицинол, норэфедрин, эфедрин, N-метилэфедрин, циклогексилэтиламин, 1,2-диаминоциклогексан и т.п.

Разделение рацемических смесей также может осуществляться путем элюирования на колонке с оптически активным разделяющим агентом в качестве набивки (например, динитробензоилфенилглицином). Подходящий состав растворителя для элюирования определяется специалистом в данной области.

К описываемым авторами соединениям также относятся таутомерные формы. Таутомерные формы получают в результате обмена одинарной связи на смежную двойную связь вместе с сопутствующим перемещением протона. К таутомерным формам относятся прототропные таутомеры, которые являются изомерными состояниями протонирования, имеющими одинаковую эмпирическую формулу и общий заряд. Примерами прототропных таутомеров могут быть пары кетон - энол, пары амид - имидная кислота, пары лактам - лактим, пары энамин - имин и кольцевые формы, в которых протон может занимать две или больше позиций гетероциклической системы, например 1H- и 3H-имидазол, 1H-, 2H-и 4H- 1,2,4-триазол, 1H- и 2H-изоиндол и 1H- и 2H-пиразол. Таутомерные формы могут пребывать в равновесии или быть стерически заключены в одну форму путем соответствующего замещения.

Описываемые авторами соединения также могут включать все изотопы атомов, случающиеся в промежуточных или конечных соединениях. К изотопам относятся атомы, имеющие одинаковое атомное число, но разные массовые числа. Например, изотопами водорода являются тритий и дейтерий.

Термин "соединение" в контексте данного описания охватывает все стереоизомеры, геометрические изомеры, таутомеры и изотопы описываемых структур. Соединения, определяемые авторами по названию или структуре в качестве одной конкретной таутомерной формы, охватывают другие таутомерные формы, если не указано иного.

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

В некоторых вариантах реализации описываемые авторами соединения или их соли являются по сути выделенными. "По сути выделенные" означает, что соединение как минимум частично или существенно отделено от окружения, в котором оно было образовано или обнаружено. Частичное отделение может включать, например, композицию, обогащенную описываемыми авторами соединениями. Существенное отделение может включать композиции, включающие как минимум около 50%, как минимум около 60%, как минимум около 70%, как минимум около 80%, как минимум около 90%, как минимум около 95%, как минимум около 97% или как минимум около 99% по массе описываемых авторами соединений или их солей. Способы выделения соединений и их солей являются привычными для специалистов в данной области.

Фраза "фармацевтически приемлемый" применяется авторами в отношении соединений, материалов, композиций и/или дозированных форм, которые с медицинской точки зрения являются подходящими для применения в контакте с тканями человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, в соответствии с разумным соотно-

шением пользы/риска.

Применяемые авторами выражения "окружающая температура" и "комнатная температура" или "кт" понятны специалистам в данной области и в целом касаются температуры, например, температуры реакции, которая приблизительно равняется температуре воздуха в комнате, в которой осуществляется реакция, например, температуре от около 20 до около 30°C.

Настоящее изобретение также включает фармацевтически приемлемые соли описываемых авторами соединений. В контексте данного описания "фармацевтически приемлемые соли" означают производные раскрываемых соединений, причем исходное соединение модифицируют путем преобразования существующего кислотного или основного компонента в его солевую форму. Примерами фармацевтически приемлемых солей могут быть помимо прочих соли с минеральными или органическими кислотами основных остатков, таких как амины; щелочные или органические соли кислотных остатков, таких как карбоновые кислоты и т.п. К фармацевтически приемлемым солям согласно настоящему изобретению относятся традиционные нетоксичные соли исходного соединения, образуемые, например, из нетоксичных неорганических или органических кислот. Фармацевтически приемлемые соли согласно настоящему изобретению могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит основный или кислотный компонент, с применением традиционных химических способов. Как правило, такие соли могут быть приготовлены путем приведения свободных кислотных или основных форм этих соединений в реакцию со стехиометрическим количеством соответствующих основания или кислоты в воде или в органическом растворителе или в их смеси; как правило, предпочтение отдают неводным средам, таким, как эфир, этилацетат, спирты (например, метанол, этанол, изопропанол или бутанол) или ацетонитрил (ACN). Список подходящих солей содержится в публикациях Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985, p. 1418, и Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977), каждая из которых включена в данное описание путем ссылки в полном объеме.

В контексте данного описания термин "субъект" или "пациент" применяется взаимозаменяемо и относится к любому животному, включая млекопитающих, предпочтительно мышей, крыс, других грызунов, кроликов, собак, кошек, свиней, крупный рогатый скот, овец, лошадей или приматов, наиболее предпочтительно человека.

В некоторых вариантах реализации ингибиторы вводят в терапевтически эффективном количестве. В контексте данного описания фраза "терапевтически эффективное количество" означает количество активного соединения или фармацевтического средства, вызывающего биологическую или медицинскую реакцию, которой добивается исследователь, ветеринар, врач или клиницист в ткани, системе, в организме животного, субъекта или человека. В некоторых вариантах реализации доза соединения или его фармацевтически приемлемой соли, которую вводят пациенту или субъекту, составляет от около 1 мг до около 2 г, от около 1 до около 1000 мг, от около 1 до около 500 мг, от около 1 до около 200 мг, от около 1 до около 100 мг, от около 1 до 50 мг или от около 50 до около 500 мг.

В контексте данного описания термин "лечение" означает одно или несколько из явлений, к которым относятся: (1) сдерживание болезни; например сдерживание болезни, состояния или нарушения у субъекта, который испытывает или демонстрирует патологию или симптоматику болезни, состояния или нарушения (т.е., задержку дальнейшего развития патологии и/или симптоматики); и (2) ослабление болезни; например ослабление болезни, состояния или нарушения у субъекта, испытывающего или демонстрирующего патологию или симптоматику болезни, состояния или нарушения (т.е., реверсирование патологии и/или симптоматики) например, снижение тяжести заболевания.

Виды комбинированной терапии

Одно или несколько дополнительных фармацевтических средств, таких, как, например, химиотерапевтические средства, противовоспалительные средства, стероиды, иммунодепрессанты, а также ингибиторы Bcr-Abl, Flt-3, EGFR, HER2, c-MET, VEGFR, PDGFR, cKit, IGF-1R, RAF, FAK, Akt mTOR, PIM и AKT (например, AKT1, AKT2 или AKT3) киназы, такие как, например, описываемые в документе WO 2006/056399, или другие агенты, такие, как терапевтические антитела, могут применяться в комбинации с соединениями согласно настоящему изобретению для лечения связанных с PI3K болезней, нарушений или состояний. Одно или несколько дополнительных фармацевтических средств вводят пациенту одновременно или последовательно.

Примерами антител для применения в комбинированной терапии могут быть, помимо прочих, Трастузумаб (например, анти-HER2), ранибизумаб (например, анти-VEGF-A), Бевацизумаб (торговое название Авастин, например, анти-VEGF, панитумумаб (например, анти-EGFR), цетуксимаб (например, анти-EGFR), ритуксан (анти-CD20) и антитела, направленные на c-MET.

Одно или несколько из следующих средств могут использоваться в комбинации с соединениями согласно настоящему изобретению и представлены как неограничивающий список: цитостатическое средство, цисплатин, доксорубицин, таксотер, таксол, этопозид, иринотеан, камптостар, топотекан, паклитаксел, доцетаксел, эпотилоны, тамоксифен, 5-фторурацил, метотрексат, темозоломид, циклофосфамид, SCH 66336, R115777, L778,123, BMS 214662, пресса, тарцева, антитела против EGFR, Gleevec™, интрон, ара-C, адриамицин, цитоксан, гемцитабин, азотистоипритовое производное урацила, хлорметин, ифос-

фамид, мелфалан, Хлорамбуцил, пипоброман, триэтиленмеламин, триэтилентиофосфорамин, бусульфан, Кармустин, ломустин, стрептозоцин, дакарбазин, флоксуридин, цитарабин, 6-меркаптопурин, 6-тиогуанин, флударабин фосфат, оксалиплатин, лейковирин, ELOKCATIN™, пентостатин, винбластин, винкристин, виндезин, блеомицин, дактиномицин, даунорубицин, доксорубицин, эпирубицин, идарубицин, митрамицин, деоксикоформицин, митомицин-С, L-аспарагиназа, тенипозид, 17α-этинилэстрадиол, диэтилстильбэстрол, тестостерон, преднизон, флуоксиместерон, дромостанолонпропионат, тестолактон, мегестролацетат, метилпреднизолон, метилтестостерон, преднизолон, триамцинолон, хлортрианизен, гидроксипрогестерон, аминоглютетимид, эстрамустин, медроксипрогестеронацетат, лейпролид, флутамид, торемифен, госерелин, цисплатин, карбоплатин, гидроксимочевина, амсакрин, прокарбазин, митотан, митоксантрон, левамизол, навелбен, анастразол, летразол, капецитабин, релоксафин, дролоксафин, гексаметилмеламин, авастин, герцептин, бексксар, велкейд, зевалин, трисенокс, кселода, винорелбин, порфимер, эрбитукс, липосомал, тиотепа, алтретамин, мелфалан, трастузумаб, лерозол, фулвестрант, эксеместан, ифосфомид, ритуксимаб, С225, кампат, клофарабин, кладрибин, афидиколон, ритуксан, сунитиниб, дазатиниб, тезацитабин, Smll, флударабин, пентостатин, триапин, дидокс, тримидокс, амидокс, 3-АР, MDL-101,731, бендамустин (Treanda), офатумумаб или GS-1101 (также известный как CAL-101).

Примерами химиотерапевтических средств могут быть ингибиторы протеасом (например, бортезомиб), талидомид, ревлимид и повреждающие ДНК агенты, такие, как мелфалан, доксорубицин, циклофосфамид, винкристин, этопозид, кармустин и т.п.

Примерами стероидов могут быть кортикостероиды, такие как дексаметазон или преднизон.

Примерами ингибиторов Bcr-Abl могут быть соединения и их фармацевтически приемлемые соли родов и видов, раскрываемых в патенте США № 5521184, документе WO 04/005281 и Заявке США № 60/578491.

Примерами подходящих ингибиторов Flt-3 могут быть соединения и их фармацевтически приемлемые соли, раскрываемые в документах WO 03/037347, WO 03/099771 и WO 04/046120.

Примерами подходящих ингибиторов RAF могут быть соединения и их фармацевтически приемлемые соли, раскрываемые в документах WO 00/09495 и WO 05/028444.

Примерами подходящих ингибиторов FAK могут быть соединения и их фармацевтически приемлемые соли, раскрываемые в документах WO 04/080980, WO 04/056786, WO 03/024967, WO 01/064655, WO 00/053595 и WO 01/014402.

Примерами подходящих ингибиторов mTOR могут быть соединения и их фармацевтически приемлемые соли, раскрываемые в документе WO 2011/025889.

В некоторых вариантах реализации соединения согласно изобретению могут применяться в комбинации с одним или несколькими другими ингибиторами киназы, включая иматиниб, в частности, для лечения пациентов, резистентных к иматинибу или другим ингибиторам киназы.

В некоторых вариантах реализации соединения согласно изобретению могут применяться в комбинации с химиотерапевтическими средствами для лечения рака, такого как множественная миелома, и могут улучшать ответ на лечение по сравнению с ответом лишь на химиотерапевтическое средство, без усиления его токсического действия. Примерами дополнительных фармацевтических средств, применяемых для лечения множественной миеломы, могут быть, помимо прочих, мелфалан, мелфалан плюс преднизон [MP], доксорубицин, дексаметазон и велкейд (бортезомиб). К другим дополнительным средствам, применяемым для лечения множественной миеломы, относятся ингибиторы киназ Bcr-Abl, Flt-3, RAF и FAK. Желательными результатами комбинирования ингибитора PI3K согласно настоящему изобретению с дополнительным агентом являются аддитивные или синергетические эффекты. Кроме того, резистентность клеток множественной миеломы к таким агентам, как дексаметазон, может быть обратимой после лечения ингибитором PI3K согласно настоящему изобретению. Агенты могут сочетаться с представленным соединением в единичной или непрерывной дозированной форме, или же агенты вводят одновременно или последовательно как отдельные дозированные формы.

В некоторых вариантах реализации кортикостероид, такой как дексаметазон, вводят пациенту в комбинации с соединениями согласно изобретению, причем дексаметазон вводят периодически в отличие от непрерывного введения.

В некоторых других вариантах реализации комбинации соединений согласно изобретению с другими терапевтическими средствами вводят пациенту до, во время и/или после трансплантации костного мозга или трансплантации стволовых клеток.

Фармацевтические композиции и дозированные формы

При применении в качестве фармацевтических средств описываемые авторами соединения могут вводиться в форме фармацевтических композиций. Эти композиции могут быть получены способом, хорошо известным специалистам в области фармацевтики и могут быть введены различными путями в зависимости от того, требуется ли местное или системное лечение, и от участка, который поддается лечению. Введение может быть местным (включая интрадермальное, эпидермальное, глазное и в слизистые оболочки, включая интраназальное, вагинальное и ректальное введение), пульмональное (например, путем ингаляции или инсуффляция порошков или аэрозолей, включая введение при помощи аэрозольного

аппарата; интратекальное или интраназальное введение), пероральное или парентеральное. Парентеральное введение включает внутривенную, внутриартериальную, подкожную, внутрибрюшинную, внутримышечную инъекцию или инфузию; или внутричерепное, например, интратекальное или внутрижелудочковое введение. Парентеральное введение может быть предусмотрено в форме единичной болюсной дозы или, например, в виде непрерывной перфузии. Фармацевтические композиции и составы для местного введения могут быть предусмотрены в форме трансдермальных пластырей, мазей, лосьонов, кремов, гелей, капель, суппозиториев, аэрозолей, жидкостей и порошков. Могут быть необходимы или желательны традиционные фармацевтические носители, водные, порошковые или масляные основы, загустители и т.п. Это изобретение также охватывает фармацевтические композиции, содержащие в качестве активного ингредиента описываемое авторами соединение или его фармацевтически приемлемую соль в комбинации с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями (формообразующими). В некоторых вариантах реализации композиция является подходящей для местного введения. При изготовлении композиций согласно изобретению активный ингредиент, как правило, смешивают с формообразующим, разбавляют формообразующим или включают в такой носитель, например, в форме капсулы, пакета-саше, бумажной или другой тары. Если формообразующее служит в качестве разбавителя, оно может быть твердым, полутвердым или жидким материалом, который служит в качестве основы, носителя или среды для активного ингредиента. Таким образом, композиции могут быть предусмотрены в форме таблеток, пилюль, порошков, пастилок, саше, капсул, эликсиров, суспензий, эмульсий, растворов, сиропов, аэрозолей (в твердой форме или в жидком носителе), мазей, содержащих, например, до 10% по массе активного соединения, мягких и твердых желатиновых капсул, суппозиториев, стерильных растворов для инъекций и стерильных упакованных порошков.

При приготовлении композиции активное соединение может быть подвергнуто перемалыванию для обеспечения надлежащего размера частиц перед комбинированием с другими ингредиентами. Если активное соединение является практически нерастворимым, оно может быть измельчено до размера частиц менее 200 меш. Если активное соединение является по сути водорастворимым, размер частиц регулируют путем измельчения для обеспечения практически равномерного распределения в композиции, например, около 40 меш.

Описываемые авторами соединения измельчают, применяя известные процедуры измельчения, такие, как мокрое измельчение для обеспечения размера частиц, подходящего для формования таблеток и для других типов композиций. Тонкоизмельченные (наночастичные) композиции описываемых авторами соединений получают с применением процессов, известных специалистам в данной области. Например, см. Международную заявку № WO 2002/000196.

Примерами подходящих формообразующих могут быть лактоза, декстроза, сахароза, сорбит, маннит, крахмалы, гуммиарабик, фосфат кальция, альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическая целлюлоза, поливинилпирролидон, целлюлоза, вода, сироп и метилцеллюлоза. Композиции дополнительно могут содержать: смазывающие агенты, такие, как тальк, стеарат магния и минеральное масло; смачивающие агенты; эмульгаторы и суспендирующие агенты; консерванты, такие как метил- и пропилгидроксибензоаты; подсластители; и ароматизаторы. Композиции согласно изобретению могут быть сформулированы таким образом, чтобы обеспечивать быстрое, пролонгированное или задержанное высвобождение активного ингредиента после введения пациенту с применением процедур, известных специалистам в данной области.

Композиции могут быть сформулированы в форме единичных доз, каждая из которых содержит от около 5 до около 1000 мг (1 г), чаще от около 100 до около 500 мг активного ингредиента. Термин "формы единичных доз" относится к физическим дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз для человека и других млекопитающих, причем каждая из единиц содержит заданное количество активного материала, рассчитанную таким образом, чтобы создавать желаемый терапевтический эффект в сочетании с подходящим фармацевтическим формообразующим.

В некоторых вариантах реализации композиции согласно изобретению содержат от около 5 до около 50 мг активного ингредиента. Специалисту в данной области станет понятно, что могут быть реализованы композиции, содержащие от около 5 до около 10, от около 10 до около 15, от около 15 до около 20, от около 20 до около 25, от около 25 до около 30, от около 30 до около 35, от около 35 до около 40, от около 40 до около 45 или от около 45 до около 50 мг активного ингредиента.

В некоторых вариантах реализации композиции согласно изобретению содержат от около 50 до около 500 мг активного ингредиента. Специалисту в данной области станет понятно, что могут быть реализованы композиции, содержащие от около 50 до около 100, от около 100 до около 150, от около 150 до около 200, от около 200 до около 250, от около 250 до около 300, от около 350 до около 400 или от около 450 до около 500 мг активного ингредиента.

В некоторых вариантах реализации композиции согласно изобретению содержат от около 500 до около 1000 мг активного ингредиента. Специалисту в данной области станет понятно, что могут быть реализованы композиции, содержащие от около 500 до около 550, от около 550 до около 600, от около 600 до около 650, от около 650 до около 700, от около 700 до около 750, от около 750 до около 800, от около 800 до около 850, от около 850 до около 900, от около 900 до около 950 или от около 950 до около

1000 мг активного ингредиента.

Подобные дозы описываемых авторами соединений могут применяться согласно способам применения изобретения.

Активное соединение может быть эффективным в широком диапазоне доз и обычно вводится в фармацевтически эффективном количестве. Однако следует понимать, что фактически вводимое количество соединения обычно определяется врачом в зависимости от соответствующих обстоятельств, включая состояние, которое поддается лечению, выбранного пути введения, конкретного вводимого соединения, возраста, массы и реакции конкретного пациента, тяжести симптомов у пациента и т.п.

Для предварительно приготовленных твердых композиций, таких, как таблетки, главный активный ингредиент смешивают с фармацевтическим формообразующим для образования твердой композиции-кандидата, содержащей гомогенную смесь соединения согласно настоящему изобретению. В случае гомогенных композиций-кандидатов активный ингредиент обычно равномерно диспергируют по всей композиции таким образом, чтобы композиция могла быть легко разделена на одинаково эффективные формы единичных доз, такие, как таблетки, пилюли и капсулы. Эту твердую композицию-кандидат затем разделяют на формы единичных доз вышеописанного типа, которые содержат, например, от около 0,1 до около 1000 мг активного ингредиента согласно настоящему изобретению.

Таблетки или пилюли согласно настоящему изобретению могут быть покрыты или иным образом компаундированы для обеспечения дозированной формы, обеспечивающей возможность пролонгированного действия. Например, таблетка или пилюля может включать внутренний и внешний компоненты дозы, причем последний предусмотрен в форме оболочки над первым. Два компонента могут быть разделены энтеросолюбильным слоем, который препятствует распадаемости в желудке и позволяет внутреннему компоненту проходить в интактном состоянии в двенадцатиперстную кишку или задерживает его высвобождение. Для таких энтеросолюбильных слоев или покрытий применяют различные материалы, например материалы, включающие многие полимерные кислоты и смеси полимерных кислот с такими материалами, как шеллак, цетиловый спирт и ацетат целлюлозы.

К жидким формам, в которые соединения и композиции согласно настоящему изобретению могут быть включены для введение пероральным путем или путем инъекции, относятся водные растворы, соответственно ароматизированные сиропы, водные или масляные суспензии и ароматизированные эмульсии с пищевыми маслами, такими, как хлопковое масло, кунжутное масло, кокосовое масло или арахисовое масло, а также эликсиры и подобные фармацевтические основы.

К композициям для ингаляции или инсуффляция относятся растворы и суспензии в фармацевтически приемлемых водных или органических растворителях или их смесях и порошках. Жидкие или твердые композиции могут содержать соответствующие фармацевтически приемлемые формообразующие, как описывается выше. В некоторых вариантах реализации композиции вводят пероральным или назальным респираторным путем для местного или системного эффекта. Композиции распыляют путем применения инертных газов. Распыленные растворы могут вдыхаться непосредственно из распыляющего устройства или распыляющее устройство может быть присоединено к лицевой маске, палатке или дыхательному аппарату с перемежающимся положительным давлением. Раствор, суспензия или порошковые композиции могут вводиться перорально или назально из устройств, соответствующим образом доставляющих композицию.

Композиции для местного применения могут содержать один или несколько традиционных носителей. В некоторых вариантах реализации мази могут содержать воду и один или несколько гидрофобных носителей, выбранных, например, из жидкого парафина, полиоксиэтиленалкилового эфира, пропиленгликоля, белого вазелина и т.п. Композиции носителей кремов могут быть предусмотрены на водной основе в комбинации с глицерином и одним или несколькими другими компонентами, например, глицеринмоностеаратом, ПЕГ-глицеринмоностеаратом и цетилстеариловым спиртом. Гели могут быть рецептированы с применением изопропилового спирта и воды, желательно в комбинации с другими компонентами, такими, как, например, глицерин, гидроксиэтилцеллюлоза и т.п. В некоторых вариантах реализации композиции для местного применения содержат как минимум около 0,1, как минимум около 0,25, как минимум около 0,5, как минимум около 1, как минимум около 2 или как минимум около 5 мас.% описываемого авторами соединения. Композиции для местного применения могут быть соответствующим образом помещены в тубы, например, по 100 г, к которым необязательно прилагаются инструкции по лечению выбранного показания, например псориаза или другого кожного показания.

Количество соединения или композиции для введения пациенту может быть разным, в зависимости от вводимого вещества, цели введения, например, профилактики или терапии, состояния пациента, способа введения и т.п. при терапевтическом применении композиции вводят пациенту, который уже страдает от болезни, в количестве, достаточном для лечения или, как минимум, частичного сдерживания симптомов болезни и ее осложнений. Эффективные дозы зависят от болезненного состояния, поддающегося лечению, а также определяются на усмотрение клинициста в зависимости от таких факторов, как тяжесть заболевания, возраст, масса и общее состояние пациента и т.п.

Вводимые пациенту композиции могут быть предусмотрены в форме описываемых авторами фармацевтических композиций. Эти композиции могут быть стерилизованы традиционными способами сте-

рилизации или могут быть подвергнуты стерильной фильтрации. Водные растворы могут быть расфасованы для применения в исходном состоянии или лиофилизированы, причем лиофилизированную композицию комбинируют со стерильным водным носителем перед введением. Уровень pH композиций соединения, как правило, составляет от 3 до 11, более предпочтительно от 5 до 9 и наиболее предпочтительно от 7 до 8. Следует понимать, что применение некоторых из вышеупомянутых формообразующих, носителей или стабилизаторов в результате приводит к образованию фармацевтических солей.

Терапевтическая доза соединения согласно настоящему изобретению может быть разной, например, в зависимости от конкретного применения, для которого предусмотрено лечение, способа введения соединения, состояния здоровья пациента и мнения врача, назначающего лекарство. Пропорция или концентрация описываемого авторами соединения в фармацевтической композиции может быть разной, в зависимости от многих факторов, включая дозу, химические характеристики (например, гидрофобность) и путь введения. Например, описываемые авторами соединения могут быть предусмотрены в водном физиологическом буферном растворе, содержащем от около 0,1 до около 10% (мас./об.) соединения для парентерального введения. Некоторые типичные диапазоны доз составляют от около 1 мкг/кг до около 1 г/кг массы тела в день. В некоторых вариантах реализации диапазон доз составляет от около 0,01 мг/кг до около 100 мг/кг массы тела в день. Доза обычно зависит от таких переменных, как тип и степень прогрессирования болезни или нарушения, общее состояние здоровья конкретного пациента, относительная биологическая эффективность выбранного соединения, состав формообразующего и путь введения. Эффективные дозы могут быть экстраполированы из кривых зависимости "доза-эффект", построенных по результатам испытаний in vitro или на животных моделях.

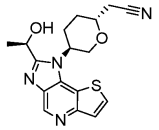
Композиции согласно изобретению также могут включать одно или несколько дополнительных фармацевтических средств, таких, как химиотерапевтическое средство, стероид, противовоспалительное соединение или иммунодепрессант, примеры которых перечисляются авторами.

Наборы

Настоящее изобретение также включает фармацевтические наборы, применяемые, например, в лечении или профилактике связанных с PI3K болезней или нарушений, таких, как рак, и включающие один или несколько вместилищ, содержащих фармацевтическую композицию, включающую терапевтически эффективное количество описываемого авторами соединения. Такие наборы также могут в случае необходимости включать один или несколько традиционных компонентов фармацевтических наборов, таких, как, например, емкости с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями, дополнительные емкости и т.п., которые могут быть очевидными для специалистов в данной области. Набор также может включать инструкции, в виде вкладышей или ярлыков, с указанием количества вводимых компонентов, рекомендациями по введению и/или рекомендации по смешиванию компонентов.

Примеры

Пример 1. ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1H-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2H-пиран-2-ил)ацетонитрил



Стадия 1. трет-бутил (4S)-2,2-диметил-4-винил-1,3-оксазолидин-3-карбоксилат

К суспензии метилтрифенилфосфонийбромида (5,63 г, 15,8 ммоль) в тетрагидрофуране (140 мл) добавляли 2,5 М н-бутиллития в гексане (7,35 мл, 18,4 ммоль). Раствор насыщенно-красного цвета перемешивали при 0°C в течение 1 ч. Затем по капле при 0°C добавляли раствор трет-бутил (4R)-4-формил-2,2-диметил-1,3-оксазолидин-3-карбоксилата (от Aldrich, 3,01 г, 13,1 ммоль) в тетрагидрофуране (7,3 мл). Раствор красного цвета нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 12 ч. К реакционной смеси добавляли смесь изомеров гексана в соотношении 4:1 (объем/объем). Суспензию фильтровали через целит и фильтрат концентрировали. Образовавшийся в результате остаток очищали путем флэш-хроматографии (с элюированием 10% этилацетатом в смеси изомеров гексана) для получения нужного соединения в виде бесцветного масла (1,92 г, 64%).

Стадия 2. трет-Бутил [(1S)-1-(гидроксиметил)проп-2-ен-1-ил]карбамат

К раствору трет-бутил (4S)-2,2-диметил-4-винил-1,3-оксазолидин-3-карбоксилата (1,90 г, 8,36 ммоль) в метаноле (83 мл) добавляли моногидрат n-толуолсульфоновой кислоты (0,80 г, 4,2 ммоль) при 0°C. Смесь медленно нагревали до комнатной температуры в течение суток. Реакционную смесь разбавляли насыщенным раствором $NaHCO_3$, концентрировали, а затем разбавляли этилацетатом. Органический слой промывали насыщенным $NaHCO_3$ (2×) и солевым раствором, высушивали над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали для получения нужного продукта в виде бесцветного масла (1,187 г, 76%).

^{1}H ЯМР (400 МГц, $CDCl_3$) δ 5,81 (1H, м), 5,25 (2H, м), 4,90 (1H, м), 4,25 (1H, ш с), 3,67 (2H, м), 1,45 (9H, с) м.д.

Стадия 3. трет-Бутил [(1S)-1-({[1-(гидроксиметил)проп-2-ен-1-ил]окси}метил)проп-2-ен-1-ил]карбамат

В колбу загружали трет-бутил [(1S)-1-(гидроксиметил)проп-2-ен-1-ил]карбамат (0,401 г, 2,14 ммоль), трис(дибензилиденацетон)дипалладий (0) (59 мг, 0,064 ммоль), N,N'-(1S,2S)-циклогексан-1,2-диилбис[2-(дифенилфосфино)-1-нафталимид] (150 мг, 0,19 ммоль) и 4-диметиламинопиридин (78 мг, 0,64 ммоль). Реакционную смесь трижды продували N_2, а затем последовательно добавляли метиленхлорид (21,3 мл) и 1,0 М триэтилборан в ТГФ (130 мкл, 0,13 ммоль). После перемешивания в течение 10 мин добавляли 2-винилоксиран (0,150 г, 2,14 ммоль) и образовавшуюся в результате смесь перемешивали в течение суток. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном и насыщенным раствором $NaHCO_3$. Органический слой отделяли и высушивали над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали. Необработанный остаток очищали путем флэш-хроматографии (с элюированием 0-50% этилацетатом/смесью изомеров гексана) для получения нужного продукта (0,271 г, 49%).

^{1}H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 5,85 (1H, м), 5,67 (1H, м), 5,84-5,17 (4H, м), 4,83 (1H, м), 4,30 (1H, ш с), 3,83 (1H, м), 3,69 (1H, дд, J=4,5 и 6,9 Гц), 3,54 (2H, м), 3,36 (1H, дд, J=4,5 и 6,9 Гц), 1,45 (9H, с) м.д..

Стадия 4. 2-({(2S)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]бут-3-ен-1-ил}окси)бут-3-ен-1-илацетат

К смеси трет-бутил [(1S)-1-({[1-(гидроксиметил)проп-2-ен-1-ил]окси}метил)проп-2-ен-1-ил]карбамата (268 мг, 1,04 ммоль) в метиленхлориде (10 мл) добавляли триэтиламин (435 мкл, 3,12 ммоль). Смесь охлаждали до 0 °C и по капле добавляли ацетилхлорид (150 мкл, 2,1 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч, затем гасили водой. Органический слой концентрировали и образовавшийся в результате остаток очищали на силикагеле (с элюированием 20 % этилацетатом / смесью изомеров гексана) для получения нужного продукта (0,26 г, 85%).

Расчет ЖХМС для $C_{10}H_{18}NO_3(M-100+H)^+$: m/z = 200.1;

Обнаружено: 200,1.

Стадия 5. {(5S)-5-[(трет-Бутоксикарбонил)амино]-5,6-дигидро-2H-пиран-2-ил}метилацетат

В 500 мл двугорлую колбу с круглым дном добавляли бензилиден(дихлор)(1,3-димезитилимидазолидин-2-ид-2-ил)(трициклогексилфосфоранил)рутений (38 мг, 0,044 ммоль). После трехкратного продувания азотом добавляли дихлорметан (безводный, 8 мл) с последующим добавлением 2-({(2S)-2-[(трет-бутоксикарбонил)амино]бут-3-ен-1-ил}окси)бут-3-ен-1-илацетата (265 мг, 0,885 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч. Смесь концентрировали in vacuo. Остаток очищали путем флэш-хроматографии (с элюированием смесью изомеров гексана до 25 % EtOAc в смеси изомеров гексана) для получения нужного продукта в виде бурого масла (0,205 г, 85%).

Расчет ЖХМС для $C_9H_{14}NO_5$ (M+H-Bu+H)+: m/z = 216,1;

Обнаружено: 216,1.

^{1}H ЯМР (300 МГц, $CDCl_3$) δ 5,94 (0,17H, м), 5,84 (0,83H, м), 5,69 (1H, м), 4,89 (0,13H, м), 4,70 (0,83H, м), 4,25 (1H, м), 4,05 (4H, м), 3,56 (0,13H, м), 3,38 (0,87H, м), 2,04 (2,49H, с), 2,03 (0,5 1H, м), 1,38 (9H, с) м.д. (продукт представлял собой смесь ~5:1 транс- и цис-изомеров).

Стадия 6. [(5S)-5-амино-5,6-дигидро-2H-пиран-2-ил]метилацетат

К раствору {(5S)-5-[(трет-бутоксикарбонил)амино]-5,6-дигидро-2H-пиран-2-ил}метилацетата (205 мг, 0,756 ммоль) в метиленхлориде (5.2 мл) добавляли 4,0 М хлористого водорода в диоксане (1,5 мл, 6,0 ммоль). Реакционный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч. Растворитель удаляли под сниженным давлением для получения нужного продукта в виде белого твердого вещества.

Расчет ЖХМС для $C_8H_{14}NO_3$ $(M+H)^+$: m/z = 172,1;

Обнаружено: 172,1.

Стадия 7. {(5S)-5-[(6-Нитротено[3,2-b]пиридин-7-ил)амино]-5,6-дигидро-2H-пиран-2-ил}метилацетат

Смесь 7-хлор-6-нитротиено[3,2-b]пиридина (156 мг, 0,727 ммоль), [(5S)-5-амино-5,6-дигидро-2H-пиран-2-ил]метилацетата (129 мг, 0,754 ммоль) и N,N-диизопропилэтиламина (0,26 мл, 1,5 ммоль) в изопропиловом спирте (1,7 мл) обрабатывали при 90 °C в течение 2 ч. Реакционную смесь концентрировали и очищали путем флэш-хроматографии для получения нужного продукта (0,21 г, 83%).

Расчет ЖХМС для $C_{15}H_{16}N_3O_5S$ $(M+H)^+$: m/z = 350,1;

Обнаружено: 350,0.

Стадия 8. {(5S)-5-[(6-Аминотиено[3,2-b]пиридин-7-ил)амино]тетрагидро-2H-пиран-2-ил}метилацетат

Смесь {(5S)-5-[(6-нитротиено[3,2-b]пиридин-7-ил)амино]-5,6-дигидро-2H-пиран-2-ил}метилацетата (210 мг, 0,600 ммоль) и 10% палладия на угле (0,21 г) в метаноле (4,0 мл) подвергали воздействию баллонного давления H_2 при комнатной температуре в течение 2 ч. Смесь фильтровали и фильтрат концентрировали и очищали путем флэш-хроматографии (с элюированием 15 % метанолом в дихлорметане) для получения нужного продукта (145 мг, 75%). Расчет ЖХМС для $C_{15}H_{20}N_3O_3S$ (M+ H)+: m/z = 322,1;

Обнаружено: 322,0.

Стадия 9. (1R)-1-{1-[(3S)-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2H-пиран-3-ил]-1H-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-2-ил}этанол

Смесь (2R)-2-гидроксипропанамида (131 мг, 1,47 ммоль) и триэтилоксонийтетрафторбората (263 мг, 1,38 ммоль) в ТГФ (2 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. Растворитель удаляли и остаток растворяли в этаноле (0,85 мл) и добавляли к суспензии {(5S)-5-[(6-аминотиено[3,2-b]пиридин-7-ил)амино]тетрагидро-2Н-пиран-2-ил}метилацетата (145 мг, 0,451 ммоль) в этаноле (3,1 мл). Смесь перемешивали при 80°С в течение 1 ч. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и разбавляли водой (1,0 мл). Добавляли гидроксид лития (32,4 мг, 1,35 ммоль) и смесь перемешивали в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли метанолом и очищали путем препаративной ЖХМС (колонка XBridge C18, элюирование градиентом ацетонитрил/вода с содержанием 0,1% гидроксида аммония при скорости потока 60 мл/мин) для получения нужного продукта в виде белого твердого вещества (95 мг, 63%).

Расчет ЖХМС для $C_{16}H_{20}N_3O_3S$ $(M+H)^+$: m/z = 334,1;

Обнаружено: 334,0.

Стадия 10: ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1Н-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)метил 4-метилбензолсульфонат и ((2S,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1Н-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)метил 4-метилбензолсульфонат

К раствору (1R)-1-{1-[(3S)-6-(гидроксиметил)тетрагидро-2Н-пиран-3-ил]-1Н-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-2-ил}этанола (100 мг, 0,300 ммоль) (предыдущая стадия) в метиленхлориде (3,4 мл) и пиридине (0,146 мл, 1,80 ммоль) добавляли п-толуолсульфонилхлорид (57,2 мг, 0,300 ммоль) и 4-диметиламинопиридин (1,8 мг, 0,015 ммоль) при 0°С. Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры в течение суток. Реакционную смесь концентрировали, разбавляли метанолом и очищали путем препаративной ЖХМС (колонка XBridge C18, элюирование градиентом ацетонитрил/вода с содержанием 0,1% гидроксида аммония при скорости потока 60 мл/мин) для получения двух пиков. При аналитической ВЭЖХ (Waters SunFire C18, 2,1 × 50 мм, 5 мкМ; скорость потока 3 мл/мин; вводимый объем 2 мкл; при градиенте от 2 до 80% В за 3 мин (А = вода с 0,025 % ТФУК, В = ацетонитрил)): первый пик (45,3 мг, 31%) время удержания 1,81 мин, расчет ЖХМС для $C_{23}H_{26}N_3O_5S_2$$(M+H)^+$: m/z = 488,1; Обнаружено: 488,1. Второй пик (8,5 мг, 5,8%) время удержания 1,88 мин, расчет ЖХМС для $C_{23}H_{26}N_3O_5S_2$ $(M+H)^+$: m/z = 488,1;

Обнаружено: 488,1.

Стадия 11. ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1Н-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)ацетонитрил

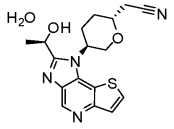
Смесь ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1Н-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)метил 4-метилбензолсульфоната (с 1-го пика предыдущего стадияа, 27 мг, 0,055 ммоль) и цианида натрия (4,5 мг, 0,092 ммоль) в диметилсульфоксиде (0,4 мл) перемешивали при 50 °С в течение 4 ч. После охлаждения смесь разбавляли метанолом и очищали путем препаративной ЖХМС (колонка XBridge C18, элюирование градиентом ацетонитрил/вода с содержанием 0,1 % гидроксида аммония при скорости потока 30 мл/мин) для получения нужного продукта (14.5 мг, 76%).

Расчет ЖХМС для $C_{17}H_{19}N_4O_2S$ $(M+H)^+$: m/z = 343,1;

Обнаружено: 343,0.

^{1}Н ЯМР (ДМСО-d_6, 500 МГц) δ 9,51 (1Н, с), 8,45 (1Н, д, J=5,5 Гц), 7,97 (1Н, д, J=5,5 Гц), 5,31 (1Н, м), 5,20 (1Н, м), 4,31 (1Н, м), 4,23 (1Н, м), 4,02 (1Н, м), 2,96 (1Н, дд, J=17,0 и 4,5 Гц), 2,85 (1Н, дд, J=17,0 и 4,5 Гц), 2,66 (1Н, м), 2,26 (1Н, м), 2,09 (1Н, м), 1,73 (1Н, м), 1,69 (3Н, д, J=6,5 Гц) м.д.

Пример 1a. Гидрат ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1Н-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)ацетонитрила



((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-Гидроксиэтил]-1Н-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2Н-пиран-2-ил)ацетонитрил (52 мг, 0,15 ммоль) согласно примеру 25 кристаллизовали из смеси ацетонитрила (8 мл) и воды (4 мл). Образовавшиеся в результате и собранные призматические кристаллы были подходящими для рентгеновского анализа кристаллической структуры.

Данные кристалла показывают: ~0,520 × 0,180 × 0,100 мм, орторомбические, P212121, a = 6,962(3) Å, b = 11,531(4) Å, c = 20,799(7) Å, Vol = 1669,6(10) Å^3, Z = 4, T = -100°C, молекулярная масса по формуле соединения = 359,42, плотность = 1,430 г/см^3, мк(Mo) = 0,22 мм$^{-1}$.

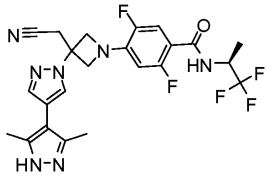
Сбор данных осуществляли на системе Bruker SMART APEX-II CCD, MoKalpha-излучение, стандартная фокусировочная трубка, мощность питания анода = 50 кВ × 42 мА, расстояние от кристалла до пластины = 5,0 см, 512 × 512 пикселей/рамку, центр пучка = (256,13, 253,14), всего рамок = 1151, осцилляция / рамка = 0,50°, экспозиция/рамка = 10,1 сек/рамка, SAINT-интеграция, hkl мин./макс. = (-9, 9, -15, 15, -27, 27), ввод данных в shelx = 17025, уникальные данные = 3975, диапазон 2-тета = от 3,92 до 55,72°, завершенность до 2-тета 55,72 = 99,80 %, R(int-xl) = 0,0681, применяли коррекцию SADABS.

Структуру решали с использованием XS(Shelxtl), уточняли с использованием пакета программ

shelxtl, уточнение способом наименьших квадратов в полноматричном приближении по F^2, коэффициенты рассеивания из Int. Tab. Vol C Tables 4.2.6.8 и 6.1.1.4, количество данных = 3975, количество ограничений = 0, количество параметров = 235, соотношение данных/параметров = 16,91, критерий согласия по F^2 = 1,04, R-индексы [I>4sigma(I)] R1 = 0,0505, wR2 = 0,1242, R-индексы (все данные) R1 = 0,0769, wR2 = 0,1401, пик и яма макс, разницы = 0,724 и -0,277 e/Å^3, уточненный параметр Флэка = -0,12(13), все атомы водорода CH уточняли с применением модели ограничения. Атомы водорода OH обнаруживали по разностному отображению и полностью уточняли.

Результаты показали, что асимметричная единица содержит одну молекулу и одну воду, как показывают термальные эллипсоиды, построенные с 50% уровнем вероятности. Стереохимия в каждом из трех стереоцентров (как указывается в названии и структуре вышеуказанного соединения) подтверждалась. Параметр Флэка, уточненный до 0,28(24), указывал на правильную энантиомерную установку.

Пример 2. 4-[3-(Цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид



Стадия 1: 2,4,5-Трифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид

К раствору 2,4,5-трифторбензойной кислоты (5,00 г, 28,4 ммоль) в ацетонитриле (50 мл) добавляли N,N-диметилформамид (40 мкл) с последующим добавлением оксалилхлорида (3,60 мл, 42,6 ммоль). Через 90 мин летучие вещества удаляли под сниженным давлением. Остаток испаряли вместе с ацетонитрилом (50 мл). Затем остаток растворяли в метиленхлориде (50 мл). Этот раствор по капле добавляли в охлажденную (в ледяной бане) смесь (2S)-1,1,1-трифторпропан-2-амингидрохлорида (5,52 г, 36,9 ммоль) (от Synquest, 98% э.и.) в толуоле (100 мл) и 0,5 М водного раствора гидроксида натрия (142 мл, 71,0 ммоль). После добавления ледяную баню удаляли и реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры. Реакционную смесь перемешивали в течение суток. Органический слой отделяли. Водный слой экстрагировали метиленхлоридом (50 мл). Комбинированные органические слои промывали 20% солевым раствором (75 мл) и водой (2 × 75 мл), высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали под сниженным давлением для получения нужного продукта (6,49 г, 84%), который непосредственно использовали на следующем стадии без дальнейшей очистки.

^{1}H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d_6) δ 9,01 (д, J= 7,6 Гц, 1H), 7,92-7,50 (м, 2H), 4,76 (м, 1H), 1,31 (д, J=7,0 Гц, 3H) м.д.

Расчет ЖХМС для $C_{10}H_8F_6NO$ (M+1)+: m/z = 272,0;

Обнаружено: 272,0.

Стадия 2: 2,5-Дифтор-4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-]-метилэтил]бензамид

Смесь 2,4,5-трифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (6.39 г, 23,6 ммоль), азетидин-3-олгидрохлорида (3,19 г, 28,3 ммоль) и 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена (8,81 мл, 58,9 ммоль) в ацетонитриле (25 мл) перемешивали при 80°C в течение 2 ч. Реакционную смесь разбавляли EtOAc (75 мл) и промывали 1 н HCl (50 мл), 1N $NaHCO_3$ (60 мл), 20% солевым раствором (50 мл) и водой (75 мл). Водные слои экстрагировали EtOAc (100 мл). Органические слои комбинировали, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали под сниженным давлением для получения на выходе нужного продукта (7,59 г, 91,8%).

^{1}H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d_6) δ 8,38 (дд, J=8,9, 1,9 Гц, 1H), 7,27 (дд, J=12,8, 6,5 Гц, 1H), 6,38 (дд, J=12,3, 7,5 Гц, 1H), 5,71 (д, J=6,4 Гц, 1H), 4,74 (дп, J=15,3, 7,6 Гц, 1H), 4,62-4,46 (м, 1H), 4,30-4,15 (м, 2H), 3,71 (м, 2H), 1,29 (д, J=7,1 Гц, 3H) м.д. Расчет ЖХМС для $C_{13}H_{14}F_5N_2O_2(M+1)^+$: m/z = 325,1;

Обнаружено: 325,1.

Стадия 3: 2,5-Дифтор-4-(3-охоазетидин-1-ил)-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид

К раствору 2,5-дифтор-4-(3-гидроксиазетидин-1-ил)-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (7,57 г, 23,3 ммоль) в метиленхлориде (93 мл) добавляли йодобензолдиацетат (9,40 г, 29,2 ммоль) и свободный радикал 2,2,6,6-тетраметил-1-пиперидинилокси (1,82 г, 11,7 ммоль) (TEMPO) при комнатной температуре. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение суток. Смесь разбавляли EtOAc (100 мл), промывали 0,5N $NaHCO_3$ (2×80 мл), 20% солевым раствором (100 мл) и водой (100 мл). Водные слои экстрагировали этилацетатом (75 мл). Органические экстракты комбинировали, высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали под сниженным давлением. Остаток очищали путем флэш-хроматографии на силикагелевой колонке с элюированием этилацетатом от 0 до 5% в метиленхлориде для получения необработанного продукта, который перекристаллизовали из MTBE (50 мл) и гептана (100 мл) для получения нужного продукта (5,44 г, 72%) в виде бесцветного твердого вещества.

^{1}H ЯМР (300 МГц, ДМСО-d_6) δ 8,52 (д, J=8,0 Гц, 1H), 7,36 (дд, J=12,5, 6,5 Гц, 1H), 6,63 (дд, J=12,1, 7,6 Гц, 1H), 4,90 (д, J=2,1 Гц, 4H), 4,86-4,68 (м, 1H), 1,31 (д, J=7,1 Гц, 3H) м.д.

Расчет ЖХМС для $C_{13}H_{12}F_5N_2O_2(M+1)^+$: m/z = 323,1;

Обнаружено: 323,0.

Стадия 4: 4-[3-(Цианометилен)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид

Диэтилцианометилфосфонат (1,95 мл, 11,8 ммоль) по капле добавляли к охлажденному (в ледяной бане) раствору 1,0 М трет-бутоксида калия в ТГФ (11,8 мл, 11,8 ммоль), который разбавляли тетрагидрофураном (12 мл). Баню удаляли и реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 90 мин. Реакционный раствор снова охлаждали при помощи ледяной бани. Приготовленный ранее раствор затем добавляли в течение 12 мин к охлажденному (в ледяной бане) раствору 2,5-дифтор-4-(3-оксоазетидин-1-ил)-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (4,00 г, 12,4 ммоль) в тетрагидрофуране (50 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 30 мин. Ледяную баню удаляли и реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение суток, затем гасили путем добавления 20% солевого раствора (75 мл) и этилацетата (75 мл). Органический слой отделяли. Водный слой экстрагировали этилацетатом (50 мл). Комбинированные органические слои высушивали над $MgSO_4$, фильтровали и концентрировали под сниженным давлением. Остаток очищали путем флэш-хроматографии на силикагелевой колонке с этилацетатом в смеси изомеров гексана (от 0 до 30%) для получения на выходе нужного продукта (2,6 г).

^{1}H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d_6) δ 8,59-8,37 (м, 1H), 7,33 (дд, J=12,5, 6,4 Гц, 1H), 6,59 (дд, J=12,0, 7,4 Гц, 1H), 5,88 (м, 1H), 4,94-4,75 (м, 4H), 4,76 (м, 1H), 1,31 (д, J=7,1 Гц, 3H) м.д., расчет ЖХМС для $C_{15}H_{13}F_5N_3O$ $(M+1)^+$: m/z = 346,1;

Обнаружено: 346,1.

Стадия 5: 4-{3-(Цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид

Смесь 4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразола (1,00 г, 5,15 ммоль), 4-[3-(цианометилен)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (1,78 г, 5,15 ммоль) и 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундец-7-ена (0,31 мл, 2,1 ммоль) в ацетонитриле (20,2 мл) нагревали при 50°C в течение суток. После охлаждения растворитель удаляли под сниженным давлением. Остаток использовали на следующем стадии без дальнейшей очистки.

Расчет ЖХМС для $C_{24}H_{28}BF_5N_5O_3$ $(M+1)^+$: m/z = 540,2;

Обнаружено: 540,1.

Стадия 6: 4-[3-(Цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид

Смесь 4-{3-(цианометил)-3-[4-(4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксаборолан-2-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида (329 мг, 0,610 ммоль), 4-бром-3,5-диметил-1H-пиразола (206 мг, 1,18 ммоль), тетракис(трифенилфосфин)палладия(0) (110 мг, 0,098 ммоль) и карбоната натрия (320 мг, 3,0 ммоль) в 1,4-диоксане (10 мл)/воде (5 мл) продували азотом и перемешивали при 110°C в течение 1 ч. Реакционную смесь разбавляли EtOAc, промывали водой и солевым раствором, концентрировали. Остаток очищали сначала силикагелем (с элюированием 0-100% EtOAc/смесью изомеров гексана, а затем 10% метанолом/дихлорметаном), а затем путем препаративной ЖХМС (колонка XBridge C18, элюирование градиентом ацетонитрила/воды с содержанием 0,1% гидроксида аммония при скорости потока 60 мл/мин) для получения нужного продукта (30 мг, 9,7%).

^{1}H ЯМР (500 МГц, ДМСО-d_6) δ 12,17 (1H, с), 8,45 (1H, д, J= 8,0 Гц), 8,10 (1H, с), 7,70 (1H, с), 7,34 (1H, м), 6,61 (1H, с), 4,77 (1H, м), 4,62 (2H, д, J=9,0 Гц), 4,39 (1H, д, J=9,0 Гц), 3,64 (2H, с), 2,22 (6H, с), 1,31 (6H, д, J=7,0 Гц) м.д., расчет ЖХМС для $C_{23}H_{23}F_5N_7O$ $(M+H)^+$: m/z = 508,2;

Обнаружено: 508,0.

Пример A. In vitro анализ JAK киназы

Данные соединения испытывали на ингибиторную активность объектов JAK в соответствии со следующим in vitro анализом, описываемым в публикации Park et al., Analytical Biochemistry 1999, 269, 94 - 104. Каталитические домены JAK1 человека (a.a. 837-1142), JAK2 (a.a. 828-1132) и JAK3 (a.a. 781-1124) экспрессировали с использованием бакуловируса в клетках насекомых и очищали. Каталитическую активность JAK1, JAK2 или JAK3 анализировали путем измерения фосфорилирования биотинилированного пептида. Фосфорилированный пептид обнаруживали при помощи гомогенной флуоресценции с временным разрешением (HTRF). Показатели IC_{50} соединений измеряли для каждой киназы в 40 мкл реакционных смесей, которые содержали фермент, АТФ и 500 нМ пептида в 50 мМ Tris-буфера (pH 7,8) с 100 мМ NaCl, 5 мМ ДТТ и 0,1 мг/мл (0,01%) БСА. Для измерений IC_{50} 1 мМ концентрация АТФ в реакционных смесях составляла 1 мМ. Реакции осуществляли при комнатной температуре в течение 1 ч, а затем прекращали с использованием 20 мкл 45 мМ ЭДТА, 300 нМ SA-APC, 6 нМ Eu-Py20 в аналитическом буфере (Perkin Elmer, Boston, MA). Связывание с меченным европием антителом осуществляли в течение 40 мин и сигнал HTRF измеряли на устройстве для считывания планшетов PHERAstar (BMG, Cary, NC). Данные для ингибиторов JAK1 и/или JAK2 получали путем испытания соединения путем анализа согласно примеру A при 1 мМ АТФ.

Пример B. Сцинтилляционный анализ сближения PI3Kδ

Материалы

[γ-^{33}P]АТФ (10 мКи/мл) приобретали в компании Perkin-Elmer (Уолтем, Массачусетс). Субстрат липидкиназы, D-миофосфатидилинозит 4,5-бисфосфат (PtdIns(4,5)P2)D (+)-Sn-1,2-ди-O-октаноилглицерил, 3-O-фосфосвязанный (PIP2), CAS 204858-53-7, приобретали в компании Echelon Biosciences (Солт-Лейк-Сити, Юта). PI3Kδ (p110δ /p85α) приобретали в компании Millipore (Бедфорд, Массачусетс). АТФ, $MgCl_2$, ДТТ, ЭДТА, MOPS и CHAPS приобретали в компании Sigma-Aldrich (Сент-Луис, Миссури). Агглютинин из проростков пшеницы (WGA), YSi SPA сцинтилляционные шарики приобретали в компании GE Healthcare Life Sciences (Пискатауэй, Нью-Джерси).

Реакцию киназы проводили в белом полистироловом 384-луночном планшете от Thermo Fisher Scientific в конечном объеме 25 мкл. Ингибиторы сначала подвергали серийным разбавлениям в ДМСО и добавляли в лунки планшета перед добавлением других компонентов реакции. Конечная концентрация ДМСО в анализе составляла 0,5%. Анализы PI3K осуществляли при комнатной температуре в 20 мМ MOPS, pH 6,7, 10 мМ $MgCl_2$, 5 мМ ДТТ и CHAPS 0,03 %. Реакции запускали путем добавления АТФ, конечная реакционная смесь состояла из 20 мкМ PIP2, 20 мкМ АТФ, 0,2 мкКи [γ-^{33}P] АТФ, 4 нМ PI3Kδ. Реакционные смеси инкубировали в течение 210 мин и реакцию прекращали путем добавления 40 мкл шариков SPA, суспендированных в гасящем буфере: 150 мМ фосфата калия, pH 8,0, 20% глицерина. 25 мМ ЭДТА, 400 мкМ АТФ. Конечная концентрация шариков SPA составляла 1,0 мг/мл. После запечатывания планшеты взбалтыванию в течение суток при комнатной температуре и центрифугировали при 1800 об/мин в течение 10 мин, радиоактивность продукта определяли при помощи сцинтилляционного счета на Topcount (Perkin-Elmer). Определение IC_{50} осуществляли путем корректировки кривой процентной контрольной активности по логарифму концентрации ингибитора с применением программы GraphPad Prism 3.0. Данные для ингибиторов PI3Kδ получали путем испытания соединений путем анализа согласно примеру B.

Пример C. Модель Пфейффера для лимфомы

Способы:

Самкам мышей SCID (в возрасте от 5 до 8 недель, Charles River Laboratories, Уилмингтон, Массачусетс) инокулировали 1 × 107 опухолевых клеток (Пфейффера, ATCC №CRL-2632, Манассас, Виргиния) и матригель (BD Biosciences №354234) в 0,2 мл стерильного солевого раствора. Инокуляцию осуществляли подкожно в бок. Фрагменты опухолевой ткани (около 3 мм × 3 мм) собирали через 3-6 недель после инокуляции культивированных клеток и подкожно имплантировали вместо клеточной инокуляции. Фрагменты ткани имплантировали в виде фрагментов солидной опухоли при помощи тупоконечных щипцов. Лечение мышей с опухолями начинали через 15-25 дней после инокуляции опухоли, в зависимости от размера опухоли. Животных сортировали для получения приблизительно равноценных средних объемов опухоли в каждой группе. Минимальный средний объем опухоли во всех группах составлял 150 мм^3 в первый день лечения, и группы состояли из 7 животных. Экспериментальное терапевтическое средство согласно примеру 347 вводили мышам перорально (PO). Частота лечения составляла 2 раза в день в течение как минимум 14 дней для обеспечения эффективности. Размер подкожных опухолей измеряли от 2 до 3 раз в неделю с применением цифрового штангенциркуля. Объем опухоли рассчитывали путем измерения опухоли в 2-х измерениях и с применением уравнения: объем = [длина× (ширина2)]/2; где большее число означало длину и меньшее число означает ширину. Если образовывались множественные опухоли, конечный объем был суммой отдельных опухолей согласно тому же уравнению: например, для 2 опухолей объем = {[L1 × (W1)2]/2} + {[L2 × (W2)2]/2}. Воздействие на рост опухоли выражали как процент ингибирования роста опухоли (% TGI). Процент TGI рассчитывали по уравнению: (1- (Tx-объем/контр, объем))* 100, где контрольный объем означал объем обрабатываемой основой или не обрабатываемой опухоли на данный день, и Tx-объем означал объем опухоли в любой экспериментальной группе на тот же день. Статистические различия между экспериментальными и контрольными группами определяли с применением ANOVA: однофакторный тест.

Результаты:

Соединение 32c (см. табл. 2 выше) оценивали как отдельный агент в модели Пфейффера с ксенотрансплантатом диффузной крупноклеточной B-клеточной лимфомы человека, подтип NHL. Раковые клетки Пфейффера оказались чувствительными к антипролиферативному эффекту согласно примеру 347 in vitro. Таким образом, была установлена опухолевая модель на основе подкожной инокуляции опухолевых клеток в организм мышей SCID с ослабленным иммунитетом, и мыши с опухолью два раза в день получали пероральные дозы основы или соединения 32c в количестве 0,3, 1, 3 или 10 мг/кг в течение 14 дней. Лечение соединением 32c подавляло рост опухоли на 22, 24, 36 и 58% (процент ингибирования роста опухоли) с увеличением дозы.

Пример D. Вестерн-блот анализ

В представленном ниже вестерн-блот анализе использовали следующие материалы и способы. Клетки (5 млн) подвергали лизису в объеме 300 мкл лизисного буфера. Растворимые фракции собирали путем центрифугирования. 25 мкл лизата клеток загружали в трис-глициновые полиакриламидамидные

гели и подвергали электрофорезу. Белки переносили в нитроцеллюлозную мембрану и испытывали антителами от Cell Signaling Technology на следующие белки: фосфо-Stat3 Y705, фосфо-Akt S473, pim1, pim2, pim3, c-myc, фосфо-p70S6K, phosho-S6, фосфо-Bad S112 и актин.

Пример E. Уровень ИЛ6 и ИЛ10 в линиях клеток

Высокий уровень ИЛ6 и ИЛ10 наблюдали в различных линиях клеток DLBCL (фиг. 1 A). ИЛ6 и ИЛ10 также продемонстрировали активацию сигнала JAK/STAT, причем ИЛ10 был более сильным активатором сигнала JAK/STAT по сравнению с ИЛ6 по всей панели линий клеток DLBCL (фиг. 1B). Высокий уровень ИЛ6 и ИЛ10 присутствует в сыворотке пациентов с DLBCL и коррелирует с более короткой бессобытийной выживаемостью и более высоким показателем Международного прогностического индекса.

Пример F.

ИЛ10 придает клеткам Пфейффера резистентность к ингибированию PI3Kδ, которая может быть обращена блокированием JAK1/2 или JAK1

Анализ пролиферации клеток

Клетки диффузной крупноклеточной B-клеточной лимфомы высевали в количестве 2000 клеток/лунку в 96-луночные культуральные планшеты в отсутствие или в присутствии 10 нг/мл ИЛ10. Соединения добавляли к этим клеткам после разведения сначала в ДМСО, а затем в культуральной среде (4x концентрация). Клетки культивировали в инкубаторе в течение 3 дней с 5 % CO_2. Пролиферацию клеток определяли с применением анализа Cell Titer-Glow (Promega, Мадисон, Висконсин). Анализ пролиферации клеток осуществляли сначала на клетках Пфейффера (лимфома B-клеток зародышевого центра (GCB)-диффузная крупноклеточная B-клеточная лимфома (GCB-DLBCL)) и клетках HBL-1 (активированная B-клеточноподобная (ABC) диффузная крупноклеточная B-клеточная лимфома (ABC-DLBCL)).

Фиг. 2A показывает % ингибирования в анализе пролиферации клеток на клетках Пфейффера в зависимости от концентрации соединения 28 (ингибитор PI3Kδ) с основой (ДМСО), ДМСО+ИЛ10 и ДМСО+ИЛ10+руксолитиниб (ингибитор JAK1/JAK2). Фиг. 2B показывает % ингибирования в анализе пролиферации клеток на клетках Пфейффера в зависимости от концентрации соединения 28 (ингибитор PI3Kδ) с основой (ДМСО), ДМСО+ИЛ10 и ДМСО+ИЛ10+соединение 7 (селективный ингибитор JAK1). Результаты показывают, что ИЛ10 придает клеткам Пфейффера резистентность к ингибированию PI3Kδ, но эта резистентность может быть обращена путем блокирования сигнала JAK1 и/или JAK2. Таким образом, наблюдается синергетическое воздействие на пролиферацию клеток Пфейффера при применении ингибитора PI3Kδ и ингибитора JAK1 и JAK2 в комбинации. Синергизм также наблюдался без ИЛ10. При этой комбинации также наблюдалась индукция апоптоза.

Подобные результаты наблюдались в клетках HBL-1 при применении руксолитиниба. Соответственно фиг. 3 показывает % ингибирования в анализе пролиферации клеток в клетках HBL-1 в зависимости от концентрации соединения 28 (ингибитор PI3Kδ) с основой (ДМСО), ДМСО+ИЛ10 и ДМСО+ИЛ10+руксолитиниб (ингибитор JAK1/JAK2).

Пример G. Индуцированная ИЛ10 экспрессия Pim2 блокируется ингибитором JAK1/2

Клетки Пфейффера обрабатывали в течение 24 ч основой (ДМСО), руксолитинибом (18424), соединением 28 или соединением 28 и руксолитиниб (18424) с ИЛ10 или без него, а затем подвергали вестерн-блоттингу для испытания на следующие белки: фосфо-Stat3 Y705, фосфо-Akt S473, Pim2, c-Myc, фосфо-p7086K, фосфо-S6, фосфо-Bad S112 и актин. Фиг. 4 показывает, что индуцированная ИЛ10 экспрессия Pim2 блокируется руксолитинибом (ингибитором JAK1/JAK2). ИЛ6 и ИЛ10 способствуют выживанию клеток через экспрессию Pim2, которая зависит от активности JAK1. Фиг. 4 также показывает синергетическое снижение c-Myc и P-S6 при наличии комбинированного лечения соединением 28 и руксолитинибом. Снижением белка c-Myc может быть обусловлен синергетический эффект для комбинированного лечения.

Пример H. Индуцированная ИЛ10 экспрессия Pim2 блокируется селективным ингибитором JAK1

Клетки Пфейффера обрабатывали в течение 24 ч основой (ДМСО), соединением 7, соединением 28 или соединением 28 и соединением 7 с ИЛ10 или без него, а затем подвергали вестерн-блоттингу для испытания на следующие белки: фосфо-Stat3 Y705, фосфо-Akt S473, Pim2, c-Myc, фосфо-p7086K, фосфо-S6, фосфо-Bad S112 и актин. Фиг. 5 показывает, что ИЛ10-индуцированная экспрессия Pim2 блокируется селективным ингибитором JAK1 (соединение 7).

Пример I. Повышение эффективности ингибитора PI3Kδ селективным ингибитором JAK1

Для испытания воздействия ИЛ-10 на рост клеток и чувствительность к ингибированию пути BCR использовали линию клеток Пфейффера в качестве модельной системы DLBCL. Клетки Пфейффера относятся к подтипу B-клеток зародышевого центра (GCB) DLBCL, продемонстрировали экспрессию PI3Kδ, являются чувствительными к ингибированию PI3Kδ и активируют путь JAK/STAT в ответ на множественные цитокины, как показано выше. Клетки Пфейффера обрабатывали в течение 3 дней различными концентрациями соединения 28 в присутствии или в отсутствие ИЛ-10 и 1 мкМ соединения 16 и рост клеток измеряли с применением считывания АТФ (см. табл. ниже). Как показано на фиг. 6, при-

сутствие ИЛ-10 изменяло активность соединения 28 в ~10 раз (IC_{50}=0,67 мкМ, - ИЛ-10; IC_{50}=6,36 мкМ, + ИЛ-10). Добавление ингибитора JAK1, соединения 16, меняло этот эффект на обратный и, таким образом, комбинация была в ~50 раз более активной. В этой системе лишь ингибитор JAK1 не оказывал воздействия (IC_{50}>1 мкМ). Кроме того, как показано на фиг. 7 (на которой показано окрашивание Аннексином-V клеток Пфейффера, обрабатываемых в течение 3 дней в 10 % ФБС + ИЛ10; Соединение 16 испытывали при 1 мкМ), ингибирование PI3Kδ вместе с сигналом JAK1 приводило к повышенному апоптозу, тогда как ни один агент в отдельности не оказывал существенного воздействия.

	10 %ФБС+ИЛ10		
	Соединение 28	Соединение 16	Соединение 28+Соединение 16
IC_{50} (мкМ)	6,36	>1	0,035

Пример J. Воздействие комбинированной обработки JAK1 и PI3Kδ на фосфорилирование STAT3 и ингибирование pAKT

Для оценки воздействия на дальнейшие пути сигнала клетки Пфейффера обрабатывали соединением 28 +/- соединение 16 в течение 4 ч, а затем стимулировали ИЛ-10 в течение 15 мин. Экстракты анализировали путем вестерн-блоттинга на pAKT и pSTAT3. Как показано на фиг. 8, путь AKT конститутивно активировался в клетках Пфейффера. Блокирование сигнала PI3Kδ приводило к полному ингибированию pAKT, тогда как обработка ингибитором JAK1 не оказывала воздействия. В то же время соединение 16 приводило к ингибированию фосфорилирования STAT3, а ингибитор PI3Kδ не оказывал такого воздействия. Для блокирования обоих путей требовалась комбинация двух соединений.

Все упомянутые выше патенты, патентные публикации и журнальные статьи включаются в данное описание путем ссылки в их полном объеме.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение указанному пациенту:

(a) ингибитора JAK1 и (b) ингибитора PI3Kδ; причем:

(a) указанный ингибитор JAK1 выбран из

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

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

((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1H-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2H-пиран-2-ил)ацетонитрила и

4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида;

или фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения и

(b) указанный ингибитор PI3Kδ выбран из

7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-она;

4-{3-[1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил}пирролидин-2-она;

или фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный ингибитор JAK1 представляет собой {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль и указанный ингибитор PI3Kδ представляет собой 7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-он или его фармацевтически приемлемую соль.

3. Способ по п.2, отличающийся тем, что указанный ингибитор JAK1 представляет собой соль {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и адипиновой кислоты.

4. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный ингибитор JAK1 представляет собой 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид или его фармацевтически приемлемую соль.

5. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанный ингибитор PI3Kδ выбран из

(S)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она;

(R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она;

(S)-4-(3-((R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она и

(R)-4-(3-((R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фтор-

фенил)пирролидин-2-она

или фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения.

6. Способ по п.2, отличающийся тем, что указанный ингибитор PI3Kδ представляет собой (S)-7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-он или его фармацевтически приемлемую соль.

7. Способ лечения диффузной крупноклеточной B-клеточной лимфомы у пациента, который в этом нуждается, включающий введение указанному пациенту соли {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрила и адипиновой кислоты и (S)-7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-она или его фармацевтически приемлемой соли.

8. Способ лечения диффузной крупноклеточной B-клеточной лимфомы у пациента, который в этом нуждается, включающий введение указанному пациенту 4-{3-(цианометил)-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-1-ил}-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида или его фармацевтически приемлемой соли и 7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-она или его фармацевтически приемлемой соли.

9. Способ по п.1, где указанный ингибитор JAK1 представляет собой ((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1H-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2H-пиран-2-ил)ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль.

10. Способ по п.1, где указанный ингибитор JAK1 представляет собой 4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамид или его фармацевтически приемлемую соль.

11. Способ по п.1, где указанный ингибитор PI3Kδ представляет собой (S)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он или его фармацевтически приемлемую соль.

12. Способ по п.1, где указанный ингибитор PI3Kδ представляет собой (R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он или его фармацевтически приемлемую соль.

13. Способ по п.1, где указанный ингибитор PI3Kδ представляет собой (S)-4-(3-((R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он или его фармацевтически приемлемую соль.

14. Способ по п.1, где указанный ингибитор PI3Kδ представляет собой (R)-4-(3-((R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-он или его фармацевтически приемлемую соль.

15. Способ по п.1, где ингибитор JAK1 представляет собой {1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль и указанный ингибитор PI3Kδ выбран из

(S)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она;

(R)-4-(3-((S)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она;

(S)-4-(3-((R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она и

(R)-4-(3-((R)-1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил)-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил)пирролидин-2-она

и фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения.

16. Способ лечения диффузной крупноклеточной B-клеточной лимфомы у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту:

(a) ингибитора JAK1 и (b) ингибитора PI3Kδ; причем

указанный ингибитор JAK1 выбран из

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

((2R,5S)-5-{2-[(1R)-1-гидроксиэтил]-1H-имидазо[4,5-d]тиено[3,2-b]пиридин-1-ил}тетрагидро-2H-пиран-2-ил)ацетонитрила и

4-[3-(цианометил)-3-(3',5'-диметил-1H,1'H-4,4'-бипиразол-1-ил)азетидин-1-ил]-2,5-дифтор-N-[(1S)-2,2,2-трифтор-1-метилэтил]бензамида

или фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения и

ингибитор PI3Kδ выбран из

7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-она и

4-{3-[1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил}пирролидин-2-она

или фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения.

17. Способ лечения диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы у пациента, нуждающегося в этом, включающий введение пациенту:

(a) ингибитора JAK1 и (b) ингибитора PI3Kδ; причем

(a) ингибитор JAK1 представляет собой

{1-{1-[3-фтор-2-(трифторметил)изоникотиноил]пиперидин-4-ил}-3-[4-(7H-пирроло[2,3-d]пиримидин-4-ил)-1H-пиразол-1-ил]азетидин-3-ил}ацетонитрил или его фармацевтически приемлемую соль и

(b) ингибитор PI3Kδ выбран из

7-(1-(9H-пурин-6-иламино)этил)-6-(3-фторфенил)-3-метил-5H-тиазоло[3,2-a]пиримидин-5-она и

4-{3-[1-(4-амино-3-метил-1H-пиразоло[3,4-d]пиримидин-1-ил)этил]-5-хлор-2-этокси-6-фторфенил}пирролидин-2-она

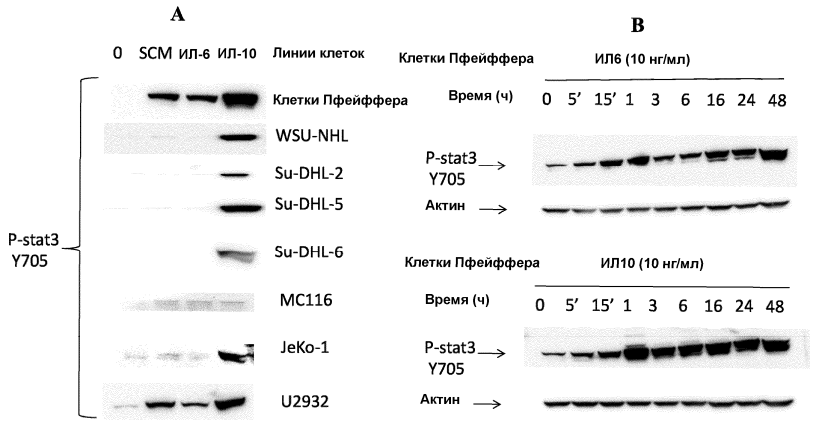
или фармацевтически приемлемой соли любого вышеуказанного соединения.

18. Способ по любому одному из пп.1-17, где диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома представляет собой активированную В-клеточноподобную (ABC) диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому.

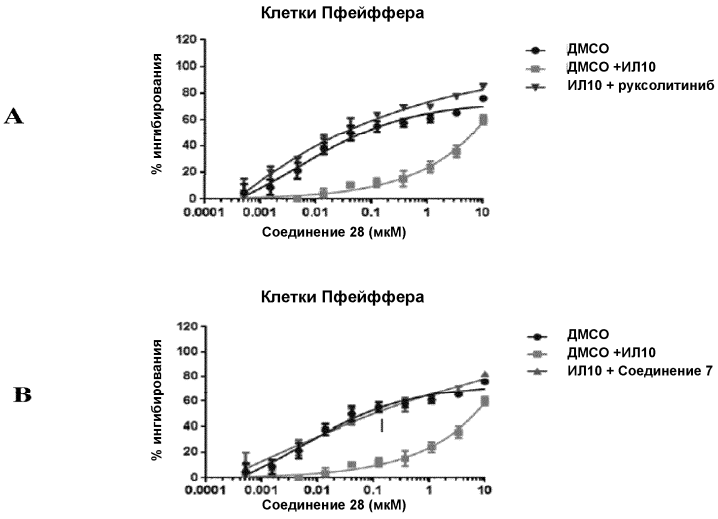
19. Способ по любому одному из пп.1-17, где указанная диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома является В-клетками зародышевого центра (GCB) диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (GCB-DLBCL).

20. Способ по любому одному из пп.1-19, где указанный ингибитор JAK1 и указанный ингибитор PI3Kδ вводят одновременно.

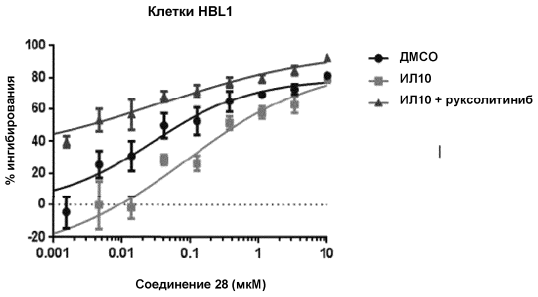
21. Способ по любому одному из пп.1-19, где указанный ингибитор JAK1 и указанный ингибитор PI3Kδ вводят последовательно.



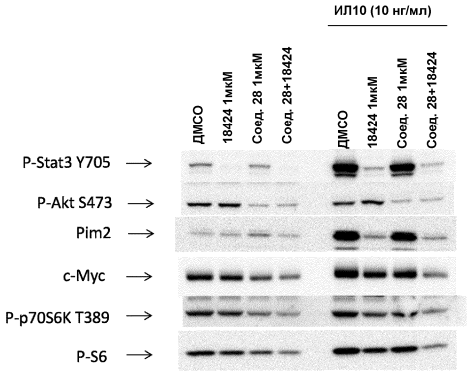
Фиг. 1



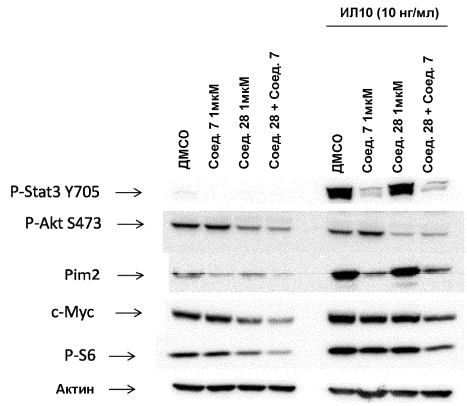
Фиг. 2



Фиг. 3

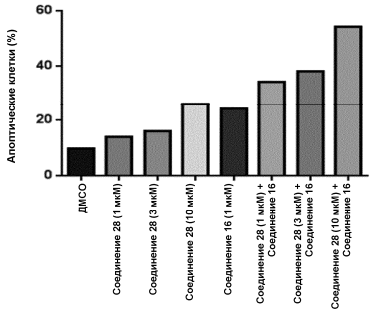


Фиг. 4

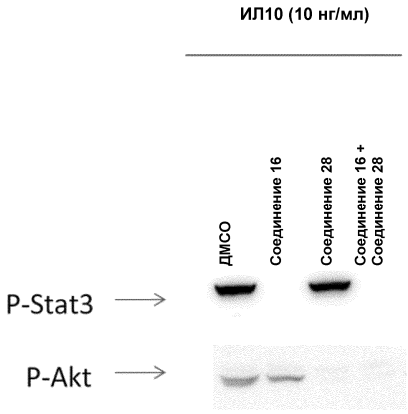


Фиг. 5

Фиг. 6


Апоптические клетки (%)
60
40
20
0
ДМСО
Соединение 28 (1 мкМ)
Соединение 28 (3 мкМ)
Соединение 28 (10 мкМ)
Соединение 16 (1 мкМ)
Соединение 28 (1 мкМ) + Соединение 16
Соединение 28 (3 мкМ) + Соединение 16
Соединение 28 (10 мкМ) + Соединение 16

Фиг. 7


ИЛ10 (10 нг/мл)
ДМСО
Соединение 16
Соединение 28
Соединение 16 + Соединение 28
P-Stat3
P-Akt

Фиг. 8